



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUÍZ GALLO

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA E

INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA DE INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS**



TESIS

**Extracción de flavonoides del residuo de maíz morado por ultrasonido e
identificación por espectrometría de masas**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

Ingeniera de Industrias Alimentarias

PRESENTADO POR:

Bach. Burga Fernández Marlí

Asesora: Dra. Noemi León Roque

Asesor Metodológico: M.Sc. Jimmy Frank Oblitas Cruz

Lambayeque – Perú

2022



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUÍZ GALLO

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA E

INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA DE INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS**

TESIS



**Extracción de flavonoides del residuo de maíz morado por ultrasonido e
identificación por espectrometría de masa**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
INGENIERA DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

PRESENTADO POR:

Bach. Burga Fernández Marlí


APROBADO POR:


M.Sc. Doyle Isabel Benel Fernández


Presidente


M.Sc. Renzo Bruno Chung Cumpa

Secretario


Ing. Julio Humberto Tirado Vásquez

Vocal


Dra. Noemi León Roque

Asesora


M.Sc. Jimmy Frank Oblitas Cruz

Asesor Metodológico



ACTA DE SUSTENTACIÓN VIRTUAL N°077-2022-UINV-FIQIA

Siendo las 5.00pm del día 30 de noviembre del 2022, se reunieron vía plataforma virtual, <https://meet.google.com/zmj-kmmx-qjj>, los miembros de jurado evaluador de la Tesis Titulada: “Extracción de flavonoides del residuo de maíz morado por ultrasonido e identificación por espectrometría de masas”; designados por Decreto N° 175-2021-D-FIQIA-VIRTUAL de fecha 15 de Julio de 2021 con la finalidad de Evaluar y Calificar la sustentación de la tesis antes mencionada, conformados por los siguientes docentes:

- M.Sc. Doyle Isabel Benel Fernández – Presidente
- M.Sc. Renzo Bruno Chung Cumpa – Secretario
- Ing. Julio Humberto Tirado Vásquez - Vocal.

La tesis fue asesorada por la Dra. Noemi León Roque nombrado (a) por Decreto N°039-2021-VIRTUAL-UINV-FIQIA de fecha 28 de Mayo de 2021. El acto de sustentación fue autorizado por Resolución N° 413-2022-D-FIQIA-VIRTUAL de fecha 24 de noviembre de 2022. La Tesis fue presentada y sustentada por la Bachiller Marli Burga Fernández y tuvo una duración de 85 minutos.

Después de la sustentación, y absueltas las preguntas y observaciones de los miembros del jurado; se procedió a la calificación respectiva, otorgándole el calificativo de 17 (diecisiete) en la escala vigesimal, mención BUENO. Por lo que queda APTA para obtener el Título Profesional de Ingeniero de Industrias Alimentarias de acuerdo con la Ley Universitaria 30220 y la normatividad vigente de la Facultad de Ingeniería Química e Industrias Alimentarias y la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

Siendo las 6.35pm se dio por concluido el presente acto académico, dándose conformidad al presente acto, con la firma de los miembros del jurado.

Firmas


.....
Presidente

M.Sc. DOYLE ISABEL BENEL FERNANDEZ


.....
Secretario

M.Sc. RENZO BRUNO CHUNG CUMPA


.....
Vocal

ING. JULIO HUMBERTO TIRADO VASQUEZ


.....
Asesor

Dra. NOEMI LEON ROQUE

“AÑO DEL FORTALECIMIENTO DE LA SOBERANÍA NACIONAL”

INFORME DE SIMILITUD REPORTADO POR EL TURNITIN

Por el presente documento se deja constancia que se ha revisado el informe de tesis, titulado.

“EXTRACCIÓN DE FLAVONOIDES DEL RESIDUO DE MAÍZ MORADO POR ULTRASONIDO E IDENTIFICACIÓN POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS”

Bach. Burga Fernández Marlí

La revisión se realizó con el programa anti plagio TURNITIN registrado con el identificador N° 1983557500, de fecha 17 diciembre del 2022, dando el siguiente resultado:

PORCENTAJE DE SIMILITUD 13 %

Se adjunta copia del resumen de coincidencias, y se firma dando constancia del porcentaje de similitud, y pueda ser utilizado para los fines que considere conveniente.



Noemi León Roque
Asesor

17 de diciembre del 2022

CONSTANCIA DE APROBACIÓN DE ORIGINALIDAD DE TESIS

Yo, Noemi León Roque, Asesora de tesis del bachiller:

MARLI BURGA FERNANDEZ

Titulada:

“EXTRACCIÓN DE FLAVONOIDES DEL RESIDUO DE MAÍZ MORADO POR ULTRASONIDO E IDENTIFICACIÓN POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS”

Luego de la revisión exhausta del documento costado que la misma tiene un índice de similitud del 13% verificable en el reporte de similitud del programa turnitin.

La suscrita analizo dicho reporte y concluyó que cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio. A mi leal saber y entender la tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo.



Dra. Noemi León Roque

DNI: 23006439

14 de noviembre del 2022

DEDICATORIA

La presente tesis está dedicada a dios, ya que gracias a él he logrado concluir mi carrera profesional, a mis padres por la vida, por confiar en mi persona y por los valores y principios que me han inculcado.

AGRADECIMIENTO

A mis docentes que me guiaron en el proceso para concluir con mi carrera profesional.

En especial a mi asesora Dra. Noemi León Roque por compartirme sus conocimientos, su ayuda, paciencia y dedicación durante el proceso de obtención de mi título profesional.

Al apoyo financiero del Proyecto Concytec - Banco Mundial “Espectrometría de Masas para la Identificación y Cuantificación de Metabolitos Secundarios en Vegetales”, a través de su unidad ejecutora FONDECYT ahora PROCENCIA. [contrato número 009-2018-FONDECYT/BM-Mejoramiento de la infraestructura para la investigación (equipamiento)].

RESUMEN

El maíz morado (*Zea mays* L.), es utilizado en la preparación de alimentos y bebidas tradicionales como la chicha morada, bebida más consumida por sus beneficios a la salud y por sus compuestos con actividad antioxidante cuyo proceso genera residuos de granos y tusa que no son aprovechados. El objetivo de la investigación es la extracción de flavonoides del residuo del maíz morado por ultrasonido e identificación por espectrometría de masas. La muestra estuvo constituida por mazorcas secas de maíz morado obtenidas del mercado modelo de Lambayeque, Perú, los granos de tusa se separaron presentando un 75,61% de grano y 24,39% de tusa, se extrajeron la mayor cantidad de concentrado de chicha morada, los residuos de grano (RG) y residuos de tusa (RT) fueron secados en estufa a 60°C/24 horas hasta una humedad de 6,96% para RG y 5,12% para RT, molidos y tamizados con tamaño de partícula de 300 a 150 μm , empacados, codificados, envueltos en papel aluminio y almacenados a 20°C hasta el análisis. La determinación de compuestos fenólicos se realizó por Foli-Ciocalteu, la actividad antioxidante por ensayo DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), la actividad inhibidora de radicales libres de los extractos se expresó como valor de IC₅₀ y para la identificación de flavonoides se empleó la técnica de cromatografía LC-MS. El contenido total de compuestos fenólicos fue de 5350,38 mg GE/100 g de RT y 2416,91mg GE/100 g de RG, la capacidad antioxidante mediante el porcentaje de inhibición IC₅₀ fue de $8,57 \pm 1,30$ para RT y $11,22 \pm 3,29$ para RG cantidad necesaria para eliminar la acción de los radicales libres y la identificación de los flavonoides se realizó mediante su masa/carga (m/z) de los extractos etanólicos obtenidos por ultrasonido. Los resultados indican que los extractos fenólicos de RT presentan mayor capacidad antioxidante lo que convierte a esta matriz en una fuerte importante para futuras aplicaciones en la industria alimentaria.

Palabras claves: maíz morado, compuestos fenólicos, residuos de granos, residuos de tusa, LC-MS

ABSTRACT

Purple corn (*Zea mays* L.) typical of the Andean region of South America, has been used during cycles for the preparation of traditional foods and beverages such as chicha morada, the most consumed beverage for its health benefits and for its compounds with antioxidant activity whose process generates residues of grains and tusa that are not used. The objective of the research is the extraction of flavonoids from purple corn residue by ultrasound and identification by mass spectrometry. The sample consisted of dry ears of purple corn obtained from the model market of Lambayeque, Peru, the grains of tusa were separated presenting 75,61% of grain and 24,39% of tusa, the largest amount of purple chicha concentrate was extracted, the Grain residues (RG) and tusa residues (RT) from the chicha concentrate process were dried in an oven at 60°C/24 hours to a humidity of 6,96% for RG and 5,12% for RT, ground and sieved with the size of 300 to 150 μm particle, coded packed, wrapped in aluminum foil and stored at 20°C until analysis. The determination of the total content of phenolic compounds was carried out by Foli-Ciocalteu, the antioxidant activity by DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) assay, the free radical inhibitory activity of the extracts was expressed as IC₅₀ value and for the identification of flavonoids was used the LC-MS chromatography technique. The total content of phenolic compounds was 5350,38 mg GE/100 g of RT and 2416,91 mg GE/100 g of RG, the antioxidant capacity by the percentage of inhibition IC₅₀ was $8,57 \pm 1,30$ for RT and $11,22 \pm 3,29$ for RG amount needed to eliminate the action of free radicals and the identification of flavonoids was carried out by means of their mas/charge (m/z) of the ethanolic extracts obtained by ultrasound. The results indicate that the RT phenolic extracts have a higher antioxidant capacity, which makes this matrix an important strength for future applications in the food industry.

Keywords: purple corn, phenolic compounds, grain waste, cob waste, LC-MS

INDICE

I.INTRODUCCIÓN	13
II.ANTECEDENTES Y BASES TEÓRICAS.....	15
2.1. Antecedentes	15
2.2. Base Teórica	17
2.2.1. Maíz morado	17
2.2.2. Concentrado de chicha morada.....	19
2.2.3. Compuestos bioactivos	22
2.2.4. Extracción de compuestos fenólicos	26
2.2.5. Espectrofotometría UV-Vis.....	29
2.2.6. Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)	30
III.MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
3.1. Lugar de ejecución.....	31
3.2. Población y muestra.....	31
3.3. Materiales y equipos	31
3.3.1. Materiales	31
3.3.2. Equipos	32
3.4. Reactivos.....	32
3.5. Operacionalización de variables	33
3.6. Obtención de la harina del residuo de maíz morado.....	33
3.6.1. Descripción del proceso de obtención de la harina del residuo de maíz morado.	34
3.6.2. Proceso de extracción de compuestos fenólicos por ultrasonido	36
3.7. Métodos de análisis.....	39
3.7.1. Análisis químico proximal de la harina de residuo de maíz morado (RG y RT)	39
3.7.2. Determinación del contenido total de compuestos fenólicos (TPC) por Foli- Ciocalteu	43
3.7.3. Determinación de la capacidad antioxidante por captura del radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo).....	45
3.7.4. Identificar los flavonoides por espectrometría de masas.....	47
3.8. Análisis estadístico de datos	47
IV.RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	48

4.1.	Análisis proximal de los residuos del maíz morado	48
4.2.	Extracción de polifenoles totales por ultrasonido	49
4.2.1.	Curva de calibración de ácido gálico	50
4.2.2.	Optimización de polifenoles totales de las muestras de harina de residuos de tusa (RT) mediante modelo de superficie respuesta (MSR)	53
4.2.3.	Optimización de polifenoles totales de las muestras de harina de residuos de granos (RG) mediante modelo de superficie respuesta (MSR)	58
4.3.	Capacidad antioxidante	62
4.4.	Identificación de Flavonoides por HPLC-DAD	63
4.5.	Identificación de Flavonoides por HPLC-MS	65
V.CONCLUSIONES		69
VI.BIBLIOGRAFÍA		70
ANEXOS		75

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química del maíz morado en 100g del alimento (Reyes, Gómez, Espinoza, Bravo y Ganoza, 2009)	16
Tabla 2. Operacionalización de variables	33
Tabla 3. Modelo Box Behnken para 15 tratamientos	35
Tabla 4. Métodos de análisis químico proximal	37
Tabla 5. Composición proximal de residuos de granos y tusa de maíz morado	48
Tabla 6. Curva de calibración de ácido gálico	50
Tabla 7. Contenido de polifenoles totales de los extractos de la harina de residuo de tusa (RT) de acuerdo al Modelo Box Behnken para 15 tratamientos	48
Tabla 8. Contenido de polifenoles totales de los extractos de la harina de residuo de grano (RG) de acuerdo al Modelo Box Behnken para 15 tratamientos	49
Tabla 9. Análisis de Varianza para Concentración de Polifenoles Totales de los extractos de la harina de residuo de tusa (RT)	53
Tabla 10. Valor bajo, alto y óptimo de los extractos de harina de residuo de tusa	54

Tabla 11. Análisis de Varianza para Concentración de Polifenoles Totales de los extractos de la harina de residuo de granos.....	55
Tabla 12. Valor bajo, alto y óptimo de los extractos de harina de residuo de grano.....	58
Tabla 13. Capacidad de inhibición de radicales libres presentes en tusa y granos del residuo de maíz morado comparados con tusa y granos control de maíz morado	59
Tabla 14. Cromatograma HPLC de identificación de flavonoides en el extracto de residuos de tusa (RT).....	61
Tabla 15. Cromatograma HPLC de identificación de flavonoides en el extracto de residuos de grano (RG).....	62
Tabla 16. Cromatograma HPLC-MS de identificación de flavonoides en el extracto de residuos de tusa (RT).....	64
Tabla 17. Cromatograma HPLC-MS de identificación de flavonoides en el extracto de residuos de granos (RG).....	66

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 Mazorcas, tusas y granos de maíz morado (<i>Zea mays</i> L.).....	18
Figura 2 Diagrama de flujo del concentrado de chicha morada.....	21
Figura 3 Principales clases de compuestos fenólicos. Estos incluyen ácidos fenólicos, flavonoides, taninos y estilbenos.....	22
Figura 4 Estructura básica de los flavonoides	24
Figura 5 Estructura química de las antocianidinas más comunes en el grano de maíz morado adaptado de Harborne (1967).....	25
Figura 6 Representación gráfica de la técnica de extracción asistida por ultrasonido (EAU).27	
Figura 7 Diagrama de bloque de obtención de la harina del residuo de maíz morado.....	34
Figura 8 Diagrama de bloque del proceso de extracción de compuestos fenólicos por ultrasonido.....	36
Figura 9 Protocolo para la determinación del contenido total de compuestos fenólicos (TPC).....	44
Figura 10 Protocolo para la determinación de la actividad antioxidante.....	45
Figura 11 Curva del ácido gálico.....	50

Figura 12 Diagramas de Pareto de efectos estandarizados para las variables de respuesta de polifenoles totales de los extractos de la harina de residuos de tusa (RT)	54
Figura 13 Gráfico de contorno para las variables de respuesta de polifenoles totales de los extractos de la harina de residuos de tusa (RT)	55
Figura 14 Gráfico de superficie de respuesta (Box-Behnken) de polifenoles totales de los extractos de la harina de residuos de tusa (RT)	56
Figura 15 Diagramas de Pareto de efectos estandarizados para las variables de respuesta de polifenoles totales de los extractos de la harina de residuos de grano (RG)	59
Figura 16 Gráfico de contorno para las variables de respuesta de polifenoles totales de los extractos de la harina de residuos de grano (RG)	59
Figura 17 Gráfico de superficie de respuesta (Box-Behnken) de polifenoles totales de los extractos de la harina de residuos de grano (RG)	60
Figura 18 Picos cromatográficos a 520 nm obtenidos mediante HPLC-DAD de identificación de flavonoides en el extracto de residuos de tusa (RT).....	63
Figura 19 Cromatograma HPLC de identificación de flavonoides en el extracto de residuos de granos (RG).....	64
Figura 20 Scan de los flavonoides de residuos de tusa (RT) a de 100 a 1100 m/z obtenidos mediante HPLC-MS para su identificación	66
Figura 21 Scan de los flavonoides de residuos de granos (RG) a de 100 a 1100 m/z obtenidos mediante HPLC-MS para su identificación	67

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1:Preparación de la materia prima	77
Anexo 2:Proceso de extracción de compuestos fenólicos por ultrasonido.....	79
Anexo 3:Composición química de granos y tusa	83
Anexo 4:Determinación de polifenoles totals	86
Anexo 5:Determinación de la Capacidad antioxidante	88
Anexo 6:Identificación de flavonoids (antocianinas).....	88

I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años la agroindustria ha crecido a nivel mundial, incrementando los residuos provenientes del proceso industrial como cáscaras, hojas, tallos, semillas, bagazo de frutas, zuro del maíz, el salvado, mostos residuales, y no existe un manejo adecuado de los residuos, situación que contribuye al proceso de contaminación ambiental. Las empresas agroindustriales en el Perú generan gran cantidad de desechos y sub productos no consumibles por lo que, valorizarlos para reciclar fitoquímicos activos mejoraría la gestión ambiental proponiendo el desarrollo de nuevos productos, como una alternativa para la recuperación de los compuestos bioactivos (Melgarejo, 2018).

“El maíz morado (*Zea mays* L) es un importante cereal del Perú, el cual contiene polifenoles, entre los que se encuentran los flavonoides, siendo los más importantes, las antocianinas. La mazorca está constituida en un 85 % por grano y un 15% de tusa” (Guillén-Sánchez et al., 2014).

La chicha morada que se preparaba en forma tradicional actualmente se ha incrementado el consumo de esta bebida envasados como bebida de fruta no gasificada y como concentrado de chicha morada, esta bebida es el más consumido en el Perú por sus beneficios a la salud, numerosos estudios muestran que el maíz morado presenta compuestos fenólicos, antocianinas que son compuestos con actividad antioxidante (Díaz-García et al., 2021; Guillén-Sánchez et al., 2014; Jing et al., 2007; Lao & Giusti, 2016).

Estudios realizados por León, S. de la Universidad de Lima (2019) muestran la presencia en el mercado nacional de Wong, Vivanda, Tottus, Plaza Vea, Metro, Makro y Minimarkets la chicha morada que se encuentra en 3 tipos de productos como concentrado se tiene Concentrado de Chicha Morada Naturale en botella de 1 LT y en bolsa de 1 y 2 LT;

Concentrado de Chicha Morada Sayani en botella de 200 ml, 1, 2 y 5 LT; Chicha morada hecha en casa en botella de 5 LT; como bebidas listas se tiene Chicha Morada Naturale en botella de 300 ml, 500 ml, 1 LT, 1.9 LT y 3.8 LT; Chicha Morada Gloria en botella de 3 LT; Chicha Morada Fru+ en botella de 500 ml y 1 LT; Néctar de Chicha Morada Selva en botella de 300 ml y 900 ml y en sobre con polvo para preparar se tiene Negrita sabor a Chicha Morada y Zuko Sabores de Mi Tierra sabor a Chicha Morada (p. 14-20). Sin embargo, no hay estudios sobre el uso de los residuos que se generan en estos procesos.

Para la elaboración y producción de la chicha morada en sus diversas presentaciones se desgrana el maíz morado separando los granos y la tusa para la obtención de los concentrados con mayor cantidad de pigmentos antocianos generando residuos que no son aprovechados por la industria. El incremento de las empresas agroindustriales genera gran cantidad de desechos y subproductos no comestibles como materia prima para reciclar fitoquímicos activos (Gil-Martín et al., 2022).

Los residuos de la producción de concentrado de chicha morada (tusa, grano y frutas) no están siendo aprovechados por las industrias pese a que contienen compuestos bioactivos que no se les está dando los tratamientos adecuados ya que a través de diversos procesos puede convertirse en materia prima para otras industrias, obteniendo subproductos como: colorantes naturales, formulación de productos instantáneos (en polvo) como bebidas entre otros. El consumo de alimentos funcionales aporta nutrientes y ayudan a prevenir enfermedades como cáncer, diabetes, obesidad, hipertensión arterial.

Por lo que la presente investigación tiene como objetivo evaluar las condiciones óptimas de extracción del contenido de compuestos fenólicos totales de residuos de maíz morado como granos y tusa para obtener la mayor recuperación de los fenoles de los granos y tusa lixiviada durante el proceso de obtención de la chicha morada, basándose en una extracción sólido-

líquido asistido por ultrasonido con solución etanólica. Se establecieron las condiciones de pretratamiento de secado, molienda (tamaño de partícula). Se estudió también la caracterización química de los residuos y la actividad antioxidante de extractos de residuos de granos (RG) y tusa (RT) y la identificación de flavonoides presentes por HPLC-DAD-ESI-MS.

II. ANTECEDENTES Y BASES TEÓRICAS

2.1. Antecedentes

Hong et al. (2020), en su estudio “Optimización del procedimiento de extracción y desarrollo de la metodología LC-DAD-MS para el análisis de antocianinas en granos de maíz pigmentados con antocianinas” desarrolló un método de cromatografía líquida de alta resolución con detector de matriz de diodos y espectrometría de masas para la caracterización y cuantificación de componentes de antocianina en matrices complejas de granos de maíz, utilizando un patrón interno para validar la eficiencia de la extracción y optimizar el procedimiento de extracción líquida de antocianinas. Identificó y cuantificó un total de dieciocho antocianinas. Los glucósidos a base de cianidina fueron los principales pigmentos del maíz dulce con pericarpio morado (75,5 % del TAC) y el maíz con aleurona azul (91,6 %), mientras que los glucósidos a base de pelargonidina componían las principales antocianinas del maíz dulce con pericarpio morado rojizo (61,1 %) y maíz cereza-aleurona (74,6%).

Chen et al. (2018), en su estudio “Extracción y caracterización asistida por ultrasonido de antocianinas de salvado de maíz morado” determinó las condiciones óptimas de extracción asistida por ultrasonido para las antocianinas de maíz morado (PCA), y para confirmar las antocianinas del salvado de maíz morado en extractos por HPLC-DAD-ESI-MS/MS. La

extracción asistida por ultrasonidos (UAE) es más eficiente en el tiempo al comparar con la extracción tradicional. Mientras tanto la extracción con salvado de maíz podría salvar el consumo de extractante y mejorar el rendimiento de extracción. Las condiciones óptimas de los EAU fueron obtenidas con el tiempo de extracción 35 min, los tiempos ultrasónicos 90, relación sólido-líquido 1:8, y la potencia ultrasónica 400 W. En estas condiciones, el contenido de antocianinas totales se determinó como $3,625 \pm 0,105$ g /kg, y el rendimiento de extracción fue del 92,45%. Los resultados de HPLC/MS-MS mostraron que los extractos de salvado de maíz morado consistían en seis tipos de antocianinas.

Fernandez-Aulis et al. (2019), realizó el estudio de “Extracción e Identificación de Antocianinas en Mazorca y Cáscara de Maíz Cacahuacintle” en este estudio se centró principalmente en el grano, estableciendo los parámetros generales de extracción (sistema de disolventes, relación disolvente/sólido, número de extracciones y tipo de ácido) en función del contenido de antocianinas totales. Luego, comparó tres métodos de extracción para acceder a las antocianinas: extracción por maceración (ME), extracción asistida por ultrasonido (UAE) y extracción asistida por microondas (MAE). El análisis de identificación de las antocianinas obtenidas por los métodos de extracción se realizó mediante HPLC y HPLC-espectrometría de masas, respectivamente. El método más eficiente fue UAE usando 20 min de ultrasonido (100 W) precedido por el tratamiento de la muestra en las siguientes condiciones: mezcla de etanol/agua/ácido láctico (80:19:1), dos extracciones, proporción de solvente a sólido de 1:10. Como resultado, las antocianinas de la mazorca y la cáscara de maíz se extrajeron en concentraciones de 24,32 y 25,80 mg/g DW, respectivamente.

Paucar-Menacho et. al (2017) en su investigación de optimización del tiempo y la temperatura de germinación para maximizar el contenido de ácido gaminobutírico (GABA), compuestos fenólicos totales (TPC) y actividad antioxidante en los brotes de maíz morado

utilizando la metodología de superficie de respuesta (RSM). La composición fenólica de la púrpura. Los brotes de maíz obtenidos en las condiciones óptimas se analizar por HPLC-DAD-ESI/MS.

Mex-Álvarez et. al (2013) realizó un estudio de la capacidad antioxidante de cinco variedades de maíz cultivadas en Hopelchén, México por las técnicas de DPPH (2,2-difenil-1pricrilhidrazilo), DMPD (N, N, -difenil-p-fenilendiamina), índice de oxidación, reducción del ion férrico y del peróxido, obteniendo que la variedad roja tuvo una mejor capacidad reductora, la variedad morada presentó mayor contenido de actividad antioxidante. Así mismo, determinó la concentración de compuestos fenólicos y antocianicos presentes en las diferentes variedades de maíz desde 3,39 a 1558 mg de polifenoles y de 0,847 a 410 mg de antocianinas/100 g de harina.

2.2. Base Teórica

2.2.1. Maíz morado

El maíz morado (*Zea mays* L.) es típico de la región Andina de América del Sur, especialmente Perú, Bolivia, Ecuador y Argentina y tiene uno de los tonos morados más profundo de los vegetales, se han utilizado durante ciclos para la preparación de alimentos y bebidas tradicionales, la chicha morada y la mazamorra morada se encuentran entre las bebidas y postres más populares preparados a base de maíz morado (Colombo et al., 2021; Jing et al., 2007; Lao & Giusti, 2016).

El color del maíz se debe principalmente a la presencia de una gran cantidad de metabolitos secundarios, como ácidos fenólicos, carotenoides y flavonoides (Colombo et al., 2021). La diferente expresión de estos pigmentos imparte a los tejidos de maíz diferentes colores, desde amarillo anaranjado hasta azul púrpura oscuro, así como colores marfil y crema. Los

pigmentos generalmente se concentran principalmente en el pericarpio grueso o en las capas de aleurona de los granos, y también en las mazorcas de maíz (Lao & Giusti, 2016; Paulsmeyer et al., 2017)(Lao & Giusti, 2016).

El maíz morado (*Zea mays* L) contiene compuestos fenólicos, dentro de ellos tenemos los flavonoides, encontrándose el grupo de las antocianinas que presenta propiedades de solubilidad en agua, proporciona colores rojo, naranja, morado y azul a la mayoría de las frutas y verduras (Luiza Koop et al., 2022).

“El maíz es una mazorca conformada por tusa y grano, la tusa alcanza un tamaño aproximado entre 15 cm a 20 cm de largo y los granos entre 11 mm a 13 mm de largo y 5.6 mm a 6.2 mm de ancho” (Cristianini & Guillén Sánchez, 2020).

Figura 1

Mazorcas, tusas y granos de maíz morado (Zea mays L.)



Mazorcas



Tusas



Granos

2.2.1.1. *Composición Química*

Tabla 1.

Composición química del maíz morado en 100g del alimento (Reyes, Gómez, Espinoza, Bravo y Ganoza, 2009)

Componente	Maíz grano %	Coronta %
Humedad	11,40	11,20
Proteína	6,70	3,74
Grasa	1,50	0,32
Fibra	1,80	24,01
Cenizas	1,70	3,29
Carbohidratos	76,90	57,44

Nota: citado por (Cabezas, 2019)

2.2.1.2. *Maíz morado como alimento funcional*

“El maíz morado es un antioxidante natural que retarda el envejecimiento celular, principalmente por los mecanismos de acción de la cianidina-3- β -glucósido, pelargonidina-3- β -glucósido, peonidina-3- β -glucósido, ácidos fenólicos, quercetina y hesperidina” (Guillén-Sánchez, Mori-Arismendi, & Paucar-Menacho, 2014)

2.2.2. **Concentrado de chicha morada**

“La concentración es el proceso en el cual se separa por ebullición una parte del líquido en una dilución o suspensión. Las bebidas concentradas se comercializan en forma líquida, en jarabe y para la preparación de sumos (jugos) listos para el consumo mediante la adición de agua. Los refrescos de fácil preparación nacen como respuesta a la necesidad de obtener

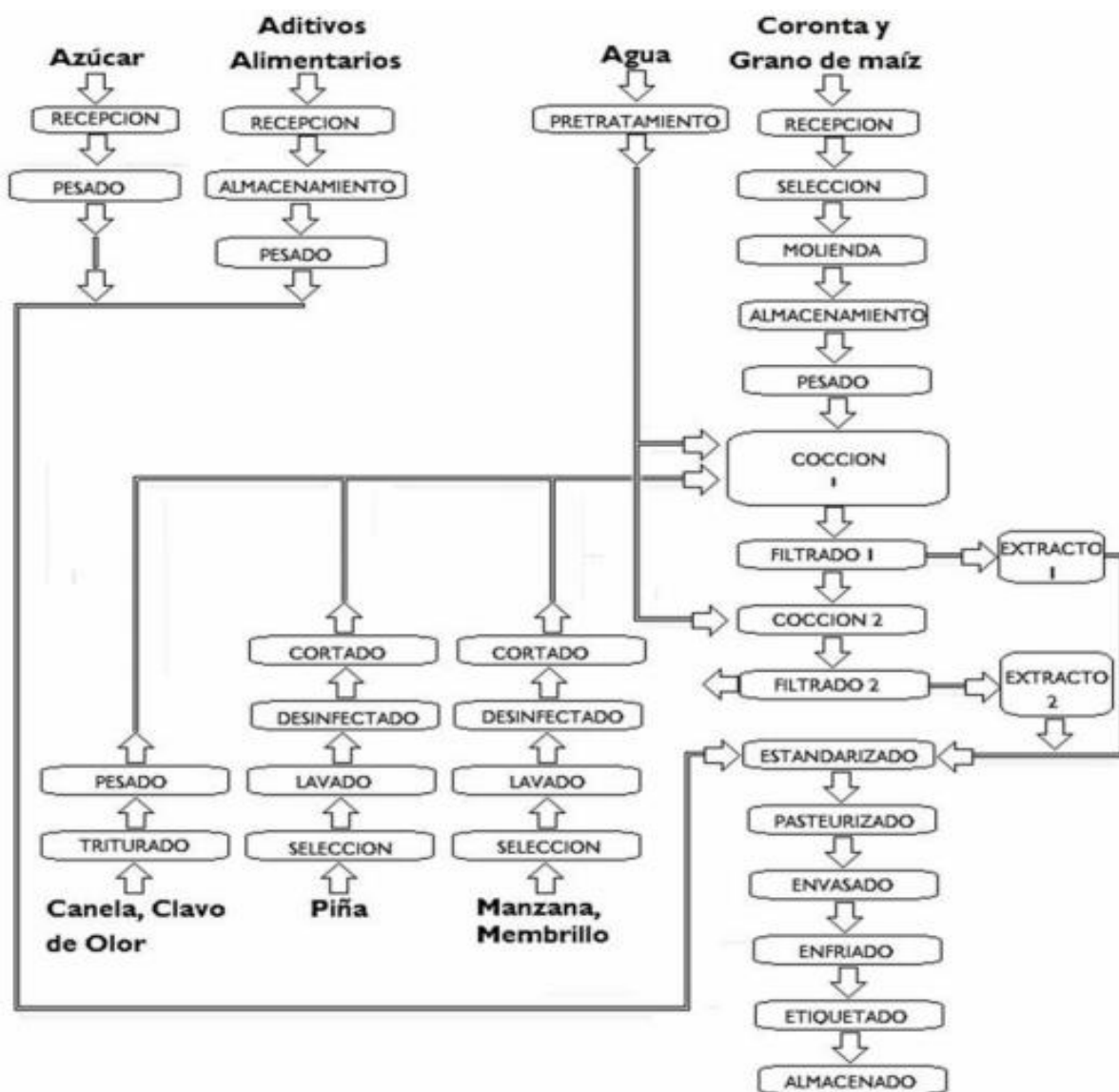
bebidas instantáneas que solo requieren añadir agua y en algunos casos azúcar. Hasta hace poco se consideraba a los jugos y refrescos en polvo como un solo gran mercado, pero ahora se distingue claramente como un segmento, que varían desde los absolutamente no artificiales a los absolutamente artificiales” (Paitan, 2022).

2.2.2.1. *Descripción detallada del proceso de concentra de chicha morada*

“El proceso se inicia con la recepción del maíz morado entero, (granos y tusa). La tusa tiene mayor contenido de antocianina que el grano de maíz, la molienda se realiza hasta tamaño de 2 a 6 mm, se adiciona agua tratada de 3 a 1 respecto al maíz pesado, se realiza la primera cocción, se adiciona canela, clavo de olor, y las frutas (piña, manzana y membrillo) lavadas, desinfectadas y trozadas, después de una hora de cocción se retira el líquido, con el residuo que queda se realiza la segunda cocción, la cual dura 40 minutos, después de la segunda cocción se filtra. El residuo que queda es prensado y el filtrado se pasteuriza a 90°C por 15 minutos. El producto es envasado y almacenado en condiciones óptimas para su conservación”. (Ballena, 2017, p. 51).

Figura 2

Diagrama de flujo del concentrado de chicha morada



Nota. (Ballena, 2017).

2.2.2.2. *Residuos generados del concentrado de chicha morada*

“Los residuos de maíz morado como grano del maíz y coronta o tusa contienen, entre 7,7 a 13% de proteínas, 3,3% de aceites, 61,7% de almidón. También contiene, P, Fe, Vitamina A, Tiamina, Riboflavina, Niacina, Ac. Ascórbico, polifenoles, antocianinas. El maíz morado

(*Zea mays* L.), contiene seis importantes antocianinas, de los cuales la cianidina 3-glucósido es el componente mayoritario. La extracción los compuestos bioactivos del residuo de maíz morado tiene distintas aplicaciones tales como: pigmentos, saborizantes y edulcorantes, en alimentos funcionales, aplicaciones en cosméticos y farmacéuticos” (Terrones & Díaz, 2016).

2.2.3. Compuestos bioactivos

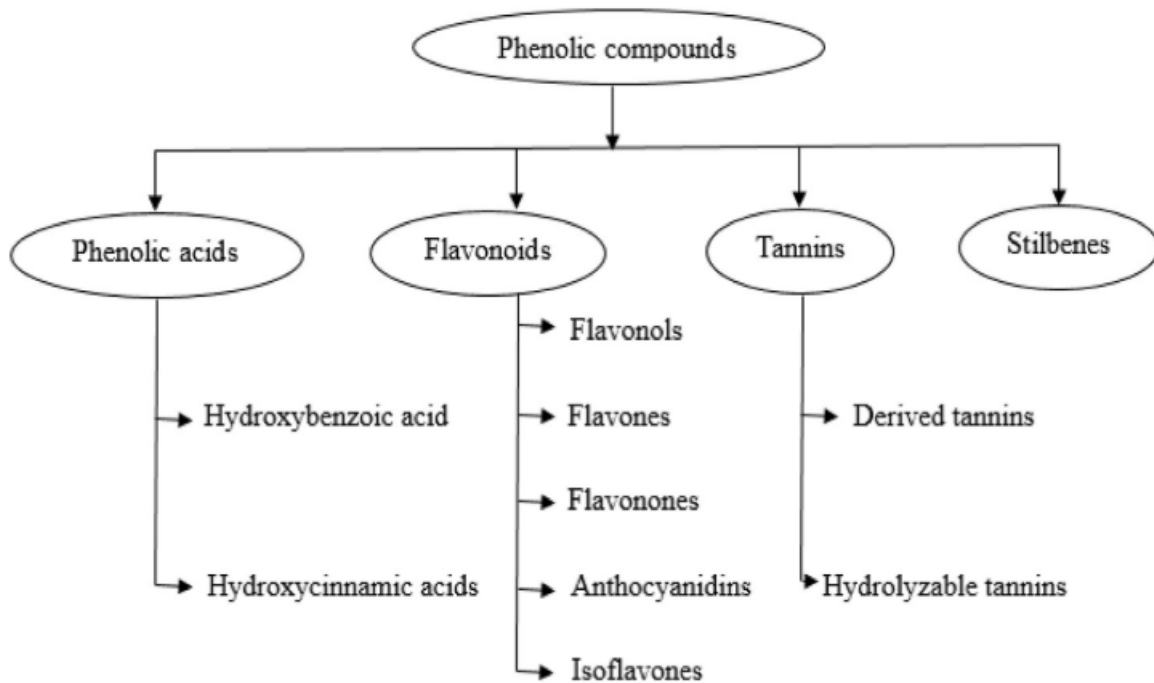
“Los compuestos bioactivos también conocidos como nutraceuticos o fitoquímicos son componentes que tienen actividad biológica dentro del organismo y se encuentran principalmente en los alimentos como frutas y verduras. Se pueden clasificar en tres grupos: terpenoides (carotenoides y esteroides); compuestos fenólicos (flavonoides como las antocianinas) y compuestos azufrados (alínea, alicina y dialilsulfuro)” (Ccaccya, 2020).

2.2.3.1. Compuestos fenólicos

“Los compuestos fenólicos pertenecen a un grupo diverso de metabolitos secundarios que producen las plantas” (Hernández, 2021). Estos metabolitos se agrupan en diferentes grupos en relación con la aparición de anillos de fenol en sus estructuras y en las estructuras que mantienen el anillo en su lugar. Los compuestos fenólicos se produjeron como derivados funcionales como ésteres metílicos, ésteres y glucósidos. Incluyen flavonoides, ácidos fenólicos, fenoles simples y derivados del ácido hidroxicinámico. Los compuestos fenólicos se clasifican en diferentes clases, como se muestra en la Fig. 3.

Figura 3

Principales clases de compuestos fenólicos. Estos incluyen ácidos fenólicos, flavonoides, taninos y estilbenos.



Nota. (Alara et al., 2021)

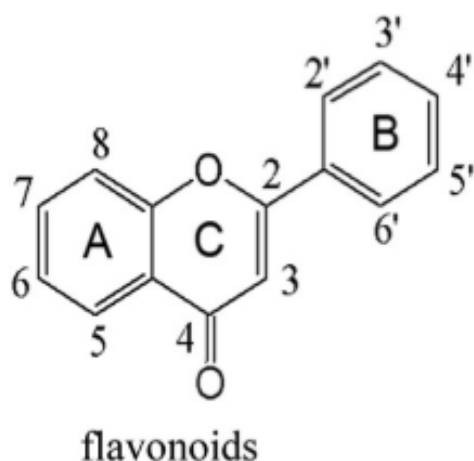
En los últimos años se han reportado enormes cantidades de polifenoles en la mayoría de los alimentos derivados de plantas y desechos agroalimentarios. Aunque los polifenoles existen en varios materiales vegetales, su cantidad y tipo dependen de los métodos de extracción utilizados, su naturaleza química, el tamaño de las partículas, la presencia de compuestos que interfieren y las condiciones de almacenamiento (Alara et al., 2021).

- **Flavonoides**

Todos los flavonoides tienen una estructura similar ya que consisten en dos anillos aromáticos bencénicos que incluyen A y B unidos a átomos 3C para dar un heterociclo oxigenado como el anillo C, cuya estructura química es C6-C3-C6 (Alara et al., 2021; Ccaccya, 2020). Los flavonoides es una clase de compuestos fenólicos como se presenta en la figura 3. Así mismo presentamos la estructura básica de los flavonoides (Figura 4).

Figura 4

Estructura básica de los flavonoides



Nota. (Alara et al., 2021)

La clasificación de los flavonoides depende de las variantes estructurales que presenta la cadena central C3, según el tipo de heterociclo involucrado los flavonoides se clasifican en 6 subclases: flavanonas, antocianidinas, flavonoles, flavonas, flavanoles e isoflavonas.

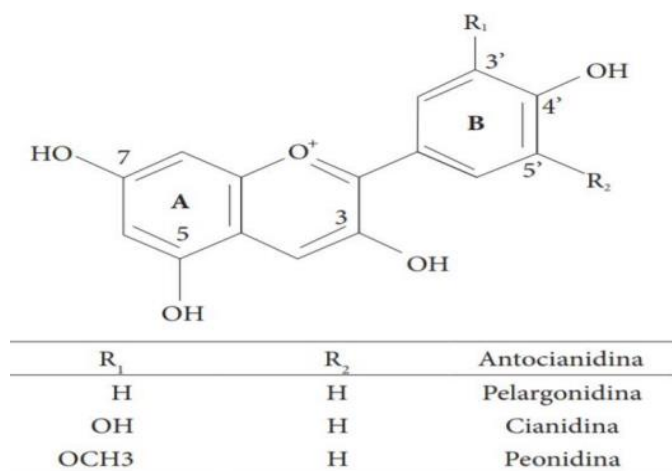
Los compuestos flavonoides presentes en el maíz morado, así como sus residuos (granos y coronta o tusa) provenientes del proceso de concentrado de chicha morada, resaltan las antocianinas.

“Las antocianinas son pigmentos solubles en agua visualmente atractivos responsables de la mayoría de los pigmentos rojo/naranja a azul/púrpura que se exhiben en las plantas” (Paulsmeyer et al., 2017). “Son las responsables del color de las flores, frutas, verduras, y algunos granos de cereal como el maíz morado, así como otros compuestos que presentan un efecto positivo en la salud humana incluyendo vitaminas, fitoquímicos y principalmente compuestos fenólicos” (Koop et al., 2022).

“Las antocianinas son glicósidos que tienen en la posición 3 un azúcar unido mediante el enlace β -glicosídico que cuando se rompe forma la aglicona, conocida como antocianidina, siendo las más comunes: pelargonidina, cianidina, delfinidina, peonidina, malvidina y petunidina” (Ccacaya, 2020).

Figura 5

Estructura química de las antocianidinas más comunes en el grano de maíz morado adaptado de Harborne (1967).



Nota. (Salinas et al., 2013)

2.2.3.2. ***Beneficios como antioxidantes y efectos de la antocianina***

“Aunque hay varias investigaciones científicas sobre las propiedades biológicas de las antocianinas del maíz morado y su poder antioxidante in vitro, hay una falta de pruebas in vivo. El amplio conocimiento de la biodisponibilidad y el metabolismo de las antocianinas es, pues, esencial para que sus efectos sobre la salud sean entendidos. La evidencia actual en la literatura describe el metabolismo de las antocianinas en el ser humano, sin información sobre los efectos biológicos de sus metabolitos”. (Guillén-Sánchez et al., 2014, p. 214)

2.2.4. Extracción de compuestos fenólicos

La extracción de polifenoles a partir de diversas fuentes vegetales es realizada a través de métodos convencionales y no convencionales. Los métodos de extracción convencional se realizan mediante la utilización de un mayor volumen de solvente, estos son: extracción sólido-líquido (SLE) o extracción soxhlet, extracción líquido-líquido (LLE) y maceración son los métodos más utilizados (Alara et al., 2021). Dado que los métodos de extracción convencionales sufren algunos inconvenientes ya que está asociada a un alto consumo de disolventes orgánicos tóxicos, requiriendo un tiempo prolongado de extracción implicando un alto consumo energético (Da Porto et al., 2013), es necesario incluir los métodos no convencionales como la extracción con líquido presurizado (PLE), extracción con agua subcrítica (SWE), extracción con fluido supercrítico (SFE), extracción asistida por microondas (MAE), extracción en fase sólida (SPE), extracción asistida por ultrasonidos (UAE), extracción por alta presión hidrostática (HHPE), extracción líquido-líquido en soporte sólido (SSLLE), dispersión en fase sólida de matriz (MSPD) y cromatografía en contracorriente (CCC) (Alara et al., 2021).

La extracción asistida por ultrasonido (EAU) es uno de los métodos no convencionales usados para extraer compuestos vegetales y superar los inconvenientes con menor consumo de solventes.

2.2.4.1. *Extracción asistida por ultrasonido (EAU)*

Es una técnica de extracción fácil que utiliza la influencia mecánica inducida a través de la explosión de microburbujas para dar una rápida desorganización del tejido que facilita la difusión de fitoquímicos de la sustancia al solvente. Es un método simple y de bajo costo que se puede utilizar tanto en entornos de pequeña como de gran escala (Alara et al., 2021).

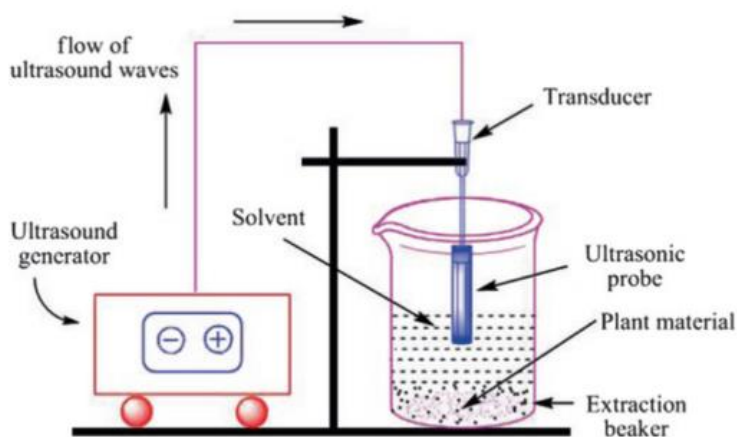
En los últimos años se han utilizado la extracción asistida por ultrasonido (EAU) para extraer compuestos fenólicos de diferentes materiales vegetales, la eficiencia del tratamiento de ultrasonido se atribuye principalmente a sus efectos mecánicos que facilitan en gran medida la transferencia de masa entre fases inmiscibles a través de una super agitación (Shirzad et al., 2017).

“A las ondas implicadas en el ultrasonido se les denomina ondas ultrasónicas, cuyas frecuencias se encuentran por encima del intervalo audible (>20 kHz) y por debajo de las frecuencias de microondas (hasta 10 MHz)” (Medina, 2017, p. 25).

El proceso experimental generalmente requiere el uso de ultrasonidos con un rango de frecuencia entre 20 y 2000 kHz para aumentar la permeabilidad de la pared celular y producir cavitación. Según investigaciones en uso de este método, los EAU aseguran una extracción mejor y más rápida de polifenoles con una descomposición mínima de los compuestos en relación con otras técnicas de extracción, la representación gráfica de la técnica de la EAU presenta en la figura 6.

Figura 6

Representación gráfica de la técnica de extracción asistida por ultrasonido (EAU)



Nota. (Alara et al., 2021)

2.2.4.2. *Solventes usados en la extracción de compuestos fenólicos*

“El rendimiento de la extracción de compuestos fenólicos de materiales vegetales se ve influenciado por las condiciones en la que se lleva el proceso de extracción sólido-líquido utilizando un solvente para separar una fracción soluble a partir de un sólido permeable. La elección del solvente es uno de los pasos previos más importantes” (Melgarejo, 2018, p. 24).

“Los disolventes adecuados para este uso son mezclas acuosas con etanol, metanol, acetona y dimetilformamida. Generalmente, la acetona es el mejor disolvente para la extracción de proantocianidinas y taninos; etanol extrae de manera eficiente los flavonoides y sus glucósidos, catecoles y taninos; mientras que los ácidos fenólicos y catequina se extrajeron mejor con metanol. Estos hechos van de acuerdo con la polaridad del disolvente utilizado para la extracción y la solubilidad de los compuestos fenólicos en ellos ya que la polaridad de la acetona, el etanol y el metanol son 0.355, 0.654 y 0.762, respectivamente. Por lo tanto, no hay disolvente único capaz de extraer todas las clases de compuestos fenólicos a partir de una muestra, de forma simultánea” (Melgarejo, 2018, p. 24).

“Para el uso en la industria alimentaria el etanol es el solvente más adecuado debido a la toxicidad del metanol” (Melgarejo, 2018, p. 25).

“El etanol es un bio-solvente, producido por fermentación de varios materiales que contienen carbohidratos. A diferencia de otros solventes tales como metanol o acetona, el etanol no es tóxico y puede ser reutilizado tras su recuperación después de su eliminación del extracto a través de la destilación, generando así prácticamente cero desechos” (Amyrgialaki et al., 2014, p. 2).

2.2.4.3. Optimización de la extracción asistida por ultrasonido (EAU)

“Para el análisis de las variables se puede realizar mediante la metodología de superficie respuesta (MSR), este es una herramienta matemática y estadística que ha sido ampliamente utilizada para optimizar las condiciones experimentales de un proceso” (M. Chen et al., 2015, p. 543).

“Entre los diferentes métodos, el diseño de Box-Behnken es el más frecuentemente reportado, seguido por el diseño central compuesto y el diseño experimental cúbico. El análisis de regresión sobre los resultados obtenidos a partir de la implementación de estos modelos, genera ecuaciones polinómicas (utilizando los valores significativos de los coeficientes de regresión estimados), de los cuales, se determinan las condiciones óptimas del proceso. La principal ventaja de MSR es el pequeño número de ensayos experimentales necesarios para evaluar el efecto de múltiples parámetros en conjunto con sus interacciones, es por esta razón, que en el proceso de obtención de polifenoles por medio de EAU, esta herramienta se ha utilizado con el fin de maximizar el rendimiento de extracción y la actividad biológica del extracto” (Medina, 2017, p. 29).

2.2.5. Espectrofotometría UV-Vis

La espectrofotometría UV-visible es una técnica analítica simple, sencillo, confiable y de bajo costo, permite la determinación de concentraciones muy bajas de compuestos. “La espectrofotometría de absorción ultravioleta y visible es la técnica basada en la atenuación de la radiación electromagnética medida por una sustancia absorbente. Esta radiación, tiene un rango espectral de aproximadamente 190-800 nm, que también difieren en términos de rangos de energía y tipo de excitación de otras regiones relacionadas. Esta atenuación resulta de la reflexión, dispersión, absorción o interferencias. Sin embargo, se pueden realizar

mediciones precisas de la atenuación registrando solo la absorbancia. Dentro de unos límites, la absorbancia es proporcional a la concentración del analito a determinar y a la distancia de la luz cuando pasa a través de la muestra durante la irradiación. Esta relación se denomina ley de Beer y comúnmente se escribe como $A = \epsilon \times b \times c$, donde A significa absorbancia, ϵ es el coeficiente de absorbancia molar (dependiente de la longitud de onda) en mol⁻¹ L cm⁻¹, b es la longitud del camino en cm y c es la concentración del absorbedor en mol L⁻¹. Esta relación lineal puede estar influenciada por diferentes factores como las características del espectrofotómetro, fotodegradación de las moléculas, presencia de interferencias de dispersión o absorción en la muestra, compuestos fluorescentes en la muestra, interacciones entre el analito y el solvente, y el pH”. (Passos & Saraiva, 2019, p. 897)

“La función de un detector UV-Vis es convertir una señal de luz en una señal eléctrica. Debe responder en un amplio rango de longitud de onda, responder con alta sensibilidad y bajo ruido, tener un rango de respuesta lineal, tener una respuesta rápida, permitir la miniaturización y un bajo consumo de muestra” (Passos & Saraiva, 2019, p. 897).

2.2.6. Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

La cromatografía líquida (LC) es la técnica más importante y ampliamente utilizada para la recuperación y aislamiento de proteínas, péptidos y otras biomoléculas. LC ha demostrado no solo ser altamente selectivo, sino también extremadamente flexible y muy suave. Esta combinación única permite un buen rendimiento tanto de masa como de actividad biológica junto con una pureza extremadamente alta.

Para la cuantificación de compuestos químicos se utilizan varios métodos analíticos, un programa adecuado de fase móvil y gradiente binario debe ser seleccionado para obtener una separación cromatográfica eficaz (Karaaslan Ayhan & Rosenberg, 2021).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

La presente investigación se realizó en el laboratorio de Investigación y Servicios Técnicos y en la Unidad de Espectrometría de Masa de la Facultad de Ingeniería Química e Industrias Alimentarias, de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

3.2. Población y muestra

Población

Maíz morado proveniente de Canta, Lima, obtenido en el mercado modelo de Lambayeque, provincia de Lambayeque, departamento de Lambayeque.

Muestra

1 Kg de maíz morado (granos y tusa)

3.3. Materiales y equipos

3.3.1. Materiales

- Matraces aforados de 50, 100, 250 ml de capacidad
- Vasos precipitados de 10, 50, 250 ml de capacidad
- Micropipeta de volumen variable de 2 – 20 ul, 10 – 100 ul, 100 – 1000 ul
- Micropipeta de volumen fijo de 100 ul, 1000 ul
- Fiolas de 10, 25, 100, 250 ml de capacidad
- Papel filtro de 10 um x 110 mm de diámetro
- Microtubos graduados de polipropileno tapa de 2 ml con tapa con bisagra con un gancho pequeño que encaja alrededor del borde del tubo.
- Crioviales de 5 ml

- Tubos de centrifuga de 15 ml y 50 ml
- Jeringas de 3ml
- Filtro de jeringa de 0,22 y 0,45 μ m
- Filtro de membrana de celulosa de 0,22 μ m
- Viales con tapa y septa de 2ml
- films de polietileno hermético autosellables para almacenar muestras
- papel aluminio

3.3.2. Equipos

- Cromatógrafo liquido de ultra performance (UHPLC) con detector de masas (MS) – Modelo LCMS -2020
- Centrifuga refrigerada – Modelo CR4000R
- molino universal modelo M 20 UNIVERSAL MILL marca IKA
- Baño ultrasónico digital-cap.10 litros (abs/ac. Inox) – Modelo UCP-10
- Balanza de precisión electrónica – Modelo AEJ 200-5CM
- Multi rotator Multi Bio RS-24 marca Boeco-Germany
- Juego de tamices marca RC-TAP, modelo Rx-29-16, de 7 números
- Cámara frigorífica a -20°C marca Ílshin BioBase
- Cámara de conservación a 20°C marca velp scientifica
- Espectrofotómetro UV-visible
- Purificador de Agua Tipo I y Tipo III – Modelo ARIUM MINI PLUS
- Estufa

3.4. Reactivos

- Alcohol etílico 96°

- Acetonitrilo grado LC-MS
- Metanol grado LC-MS
- Acido fórmico LC-MS
- Ácido sulfúrico QP 99.9%
- Hidróxido de sodio
- Reactivo fenol segun Folin-Ciocalteu – Marca Sigma Aldrich
- Ácido gálico monohidratado grado HPLC
- DPPH, LIBRE DE RADICAL 50 mg (2,2-difenil-1-picril hidrazilo)
- Trolox 500 mg (6-HYDROXY-2,5,7,8-TETRAMETHYLCHROMAN-2-C)

3.5. Operacionalización de variables

Tabla 2.

Operacionalización de variables

Variable	Tipo de variable	Dimensión	Indicadores
Tiempo de extracción	Independiente	60; 150; 240	Minutos
Concentración de etanol	Independiente	0; 40; 80	%
Temperatura de extracción	Independiente	30; 45; 60	°C
Extracción de flavonoides	Dependiente		mg

3.6. Obtención de la harina del residuo de maíz morado

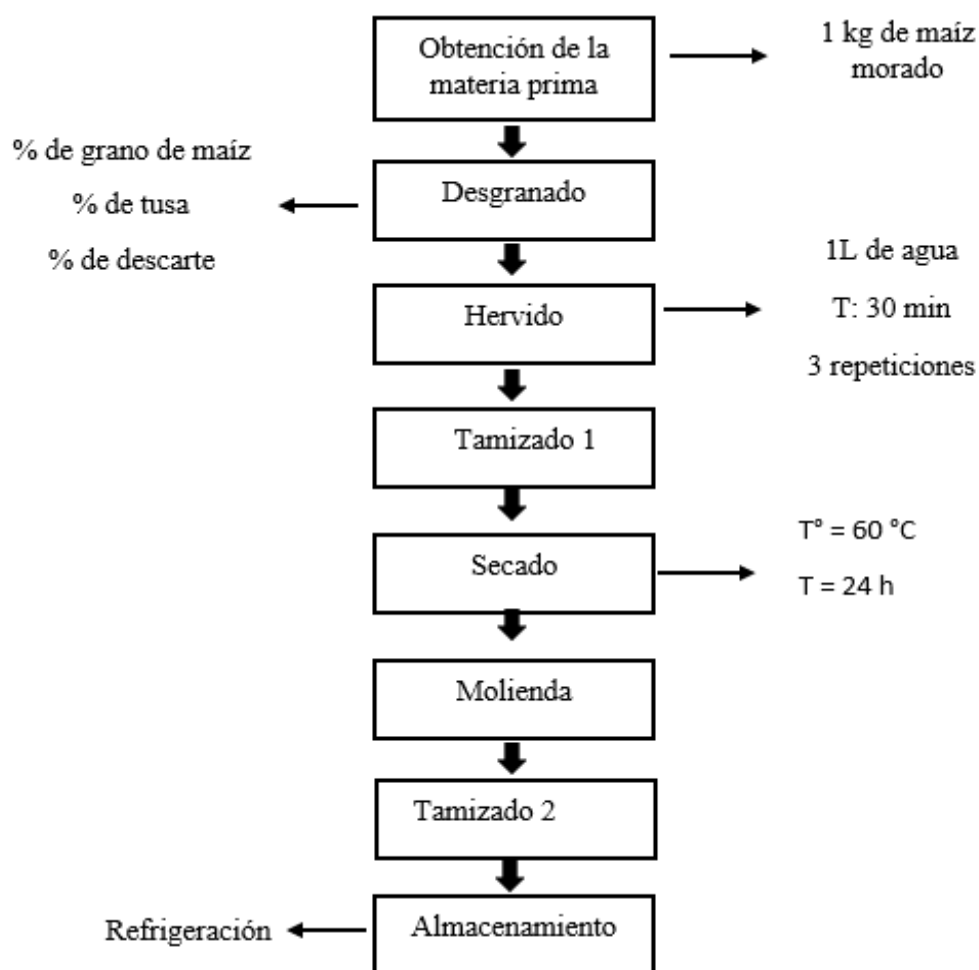
En este estudio se utilizó residuos de tusa (RT) y residuos de granos (RG) del proceso de obtención de concentrado de chicha morada, 1 kg de maíz morado se desgarnó para tener los granos y la tusa, se hirvió por un tiempo de 30 min durante 3 hervidas, y el residuo generado de este proceso se separó, se secó en estufa a 60°C durante 24 horas, se realizó una moliendo

en un molino universal, la molienda se realizó por 3 minutos con intervalos de 1 minuto, para evitar recalentar la muestra en el caso del grano evitar desprendimiento de los aceites.

3.6.1. Descripción del proceso de obtención de la harina del residuo de maíz morado

Figura 7

Diagrama de bloque de obtención de la harina del residuo de maíz morado



- *Obtención de la materia prima*

Se utilizó 1 kg de maíz morado obtenido del mercado modelo Lambayeque, luego se trasladó al laboratorio, donde se realizó el pesado de la materia prima.

- *Desgranado*

Consistió en separar los granos en forma manual de la tusa y determinar el porcentaje de cada uno de ellos, también se separó los granos picados, mohosos y los que no cumplían con las características para el proceso (porcentaje de descarte), para luego ser lavado con agua corriente antes de llevar al hervido.

- *Hervido*

El hervido del maíz desgranado (granos y tusa) se realizó a temperatura de ebullición en una cocina eléctrica.

Primer hervido: se realizó durante un tiempo de 30 minutos agregando un 1L de agua, transcurrido el tiempo se escurrió el concentrado de chicha morada.

Segundo y tercer hervido: para cada hervido se agregó 1L de agua y se llevó a ebullición por 30 minutos.

- *Tamizado 1*

Utilizando un colador se escurrió el concentrado de chicha morada para separar los residuos de granos (RG) y residuos de tusa (RT) después del tercer hervido.

- *Secado*

Los residuos de grano (RG) y los residuos de tusa (RT) fueron colocados en bandejas y llevado a ser secado en una estufa a una temperatura de 60 °C durante 24 h.

- *Molienda*

Cada lote de 20 g se molió por un tiempo de 3 minutos, con intervalo de tiempo de 1 min para evitar el desprendimiento de aceites para el caso de los granos, se realizó en un molino universal modelo M 20 UNIVERSAL MILL marca IKA

- *Tamizado 2*

Se tamizó en un agitador Tyler Ro Tap RX 29-16 con tamices de malla 8 a 200, muestras de residuos de grano (RG) y residuos de tusa (RT) en forma separada por un tiempo de 5

minutos cada tamizado.

- *Almacenamiento de la harina de residuo de maíz morado (RG y RT)*

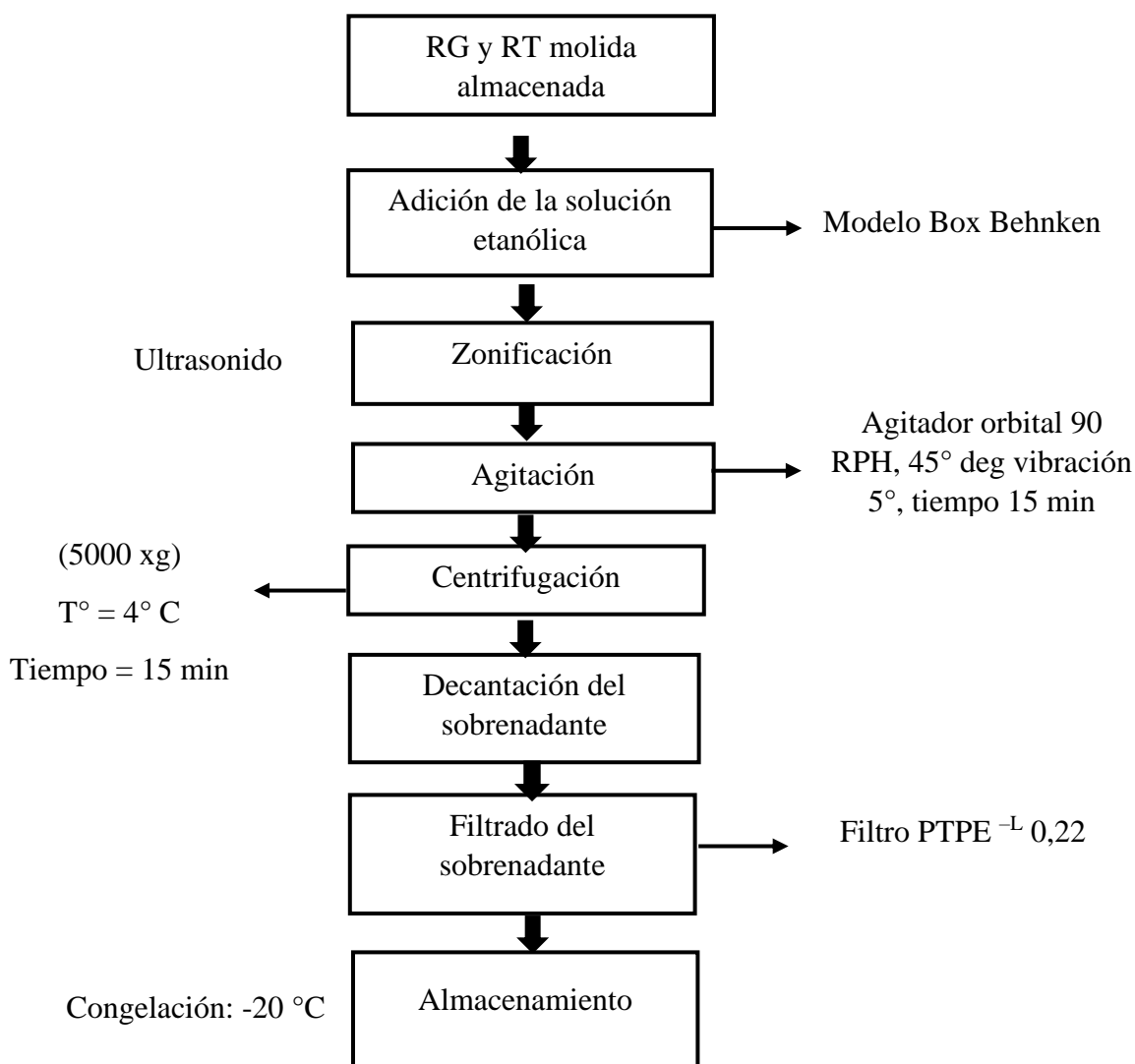
Las harinas de RG y RT para los tratamientos fueron de tamaño de partícula de 300 a 150 μm (retenidas en malla 100), las muestras molidas se empacaron en films de polietileno hermético autosellables y en crioviales de 5 ml envuelto con papel aluminio y codificada, almacenando en una cámara de conservación a 20 °C hasta la extracción de compuestos fenólicos y los análisis posteriores.

3.6.2. Proceso de extracción de compuestos fenólicos por ultrasonido

Para la extracción de los compuestos fenólicos por ultrasonido se preparó las muestras de harina del residuo maíz morado (RG y RT) aplicado el diseño Box- Behnken.

Figura 8

Diagrama de bloque del proceso de extracción de compuestos fenólicos por ultrasonido



- *Muestra molida almacenada*

Se pesó 0,5 g de harina del residuo de grano (RG) y residuo de tusa (RT) en una balanza analítica de capacidad de 220 g con 5 dígitos ± 0.001 g de error, utilizando crioviales de 5 ml para cada muestra, esta variable se mantuvo constante para todos los tratamientos.

- *Adición de la solución etanólica*

A cada uno de los tratamientos de acuerdo al modelo Box Behnken según la tabla de tratamientos (tabla 3) se le agregó la solución etanólica en las concentraciones de 0, 40 y 80 % de etanol en solución acuosa para el proceso de extracción de compuestos fenólicos.

Tabla 3.*Modelo Box Behnken para 15 tratamientos*

Tratamiento por cada repetición	Tiempo de extracción (min)	Etanol en solución acuosa (%)	Temperatura de extracción (°C)
T1	150	40	45
T2	60	0	45
T3	240	0	45
T4	60	80	45
T5	240	80	45
T6	60	40	30
T7	240	40	30
T8	150	40	45
T9	60	40	60
T10	240	40	60
T11	150	0	30
T12	150	80	30
T13	150	0	60
T14	150	80	60
T15	150	40	45

Nota: El peso de la muestra fue de 0,5 g para todos los tratamientos.

- Zonificación

Las muestras preparadas en solución etanólica de acuerdo al modelo fueron llevados al equipo de ultrasonido para la zonificación con los tratamientos de 60, 150 y 240 minutos de tiempo y 30, 45 y 60°C de temperatura según tabla 2.

- *Agitación*

Todos los tratamientos después de la zonificación se agitaron en un agitador orbital a 90 RPH, 45° Deg, vibración 5° durante 15 minutos.

- *Centrifugación*

Después de la agitación todos los tratamientos se llevaron a una centrifuga refrigerada a 4°C a una velocidad de 5000xg por 15 minutos, para la separación del sobrenadante.

- *Decantación del sobrenadante*

La separación del sobrenadante (líquido) y precipitado (sólido) se realizó en envases de polipropileno o crioviales de 5 ml.

- *Filtrado del sobrenadante*

El filtrado se realizó utilizando una jeringa de 3 ml y filtro ptpe ^{-L} 0,22 µm para separar las partículas que han quedado suspendidas en el sobrenadante, en microtubos de polipropileno de 2 ml con tapa de bisagra.

- *Almacenamiento de la muestra*

Los sobrenadantes de cada tratamiento después del filtrado se codificaron y se almacenaron envuelto en papel aluminio a una T° -20 °C hasta el análisis.

3.7. Métodos de análisis

3.7.1. Análisis químico proximal de la harina de residuo de maíz morado (RG y RT)

Los residuos del concentrado de maíz morado (RG y RT) fueron analizados con los métodos recomendados de la Association of Official Analytical Chemists (AOAC).

Tabla 4.

Métodos de análisis químico proximal

Análisis	Método
Humedad	AOAC. 925.10-2016
Ceniza	AOAC. 930.05-2012
Proteína	AOAC. 978.04-2012
Grasa	AOAC. 930.09-2016
Fibra	AOAC. 962.09-2016
Carbohidratos totales	Se determine por diferencia

Nota. Adaptado de AOAC International

- *Análisis de humedad (AOAC 925.10)*

La determinación se realizó por desecación en estufa a 130°C, durante 1 hora con previopesado de 2g de muestra siguiendo la metodología propuesta por la AOAC 925.10 (2016).

$$\%Humedad = \frac{M - (A - B)}{M} \times 100$$

Peso de la muestra = M

Peso del crisol + muestra después del secado= A

Peso del crisol vacío = B

- *Análisis de ceniza (AOAC 930.05)*

La determinación se realizó siguiendo la metodología AOAC 930.05 (2012), para lo cual se pesó 2 g de muestra y se colocó en el crisol de porcelana, se llevó a la estufa a 100°C durante 40 min, al término del cual se colocó la muestra en la mufla a 600°C durante 2 horas.

Posteriormente el crisol se colocó en el desecador durante 50 min, se enfrió y se pesó inmediatamente.

$$\%Cenizas = \frac{\text{Peso del crisol con cenizas} - \text{peso del crisol}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

- *Análisis de proteína (AOAC 978.04)*

Se siguió la metodología sugerida por la AOAC 978.04 (2012), cuantificando el nitrógeno total por el método de Kjeldahl. Para lo cual se pesó 1 g de muestra previamente seca y se sometió al proceso de digestión utilizando catalizadores de K₂SO₄ (15g), y solución de H₂SO₄ al 98% (25ml) y se calentó en el digestor Kjeldahl hasta que se aclaró la solución, el arrastre por vapor es recepcionado con solución de NaOH al 50% p/v para neutralizar la muestra, para ello se utilizó como refrigerante agua fría. Se conectó inmediatamente el matraz al bulbo de destilación del condensador y se colocó la punta del condensador sumergida en ácido bórico al 4%, seguidamente se calentó hasta que todo el NH₃ se haya destilado (> 150 ml de destilado). Por último, se tituló con HCl 0,1N para expresar la proteína en relación al nitrógeno presente en ella. Se trabajó con el factor de 6.25 para frutas

$$\%P = \frac{V_{HCl} \times N_{HCl} \times 0.014 \times F \times 100}{M}$$

Donde

V_{HCl} = volumen de HCl consumido en la titulación.

N_{HCl} = normalidad del HCl utilizado en la titulación: 0,1

F = factor de conversión utilizado 6,25

M = gramos de muestra utilizada.

- *Análisis de grasa (AOAC. 930.09)*

La determinación se realizó por la técnica de extracción descrita por la AOAC 930.09 (2016), en la que se utilizó como solvente cloroformo grado analítico.

Se pesó el balón de fondo plano, luego se pesó 5g de muestra de residuos de granos y tusa previamente secos y molidos, se colocaron en un cartucho, y este en el equipo Soxhlet; como agente extractor se usó cloroformo; la extracción con reflujos continuos se realizó hasta 7 sifoneadas, al término de la extracción se concentró en un rotavapor (Buchi 110R), donde se recuperó el solvente y finalmente se dejó enfriar en un desecador y se pesó el residuo para calcular el peso de total de las grasas.

$$\% G = \frac{m_2 - m_1}{M} \times 100$$

Donde:

m2= masa final (peso del balón + peso de la grasa extraída)

m1= masa inicial (peso del balón vacío)

M= peso de la muestra

- *Análisis de fibra (AOAC 962.09)*

Se utilizó la metodología de AOAC 962.09 (2016), la cual permitió determinar el contenido de fibra en la muestra, después de la digestión con soluciones de ácido sulfúrico e hidróxido de sodio y la calcinación del residuo. La diferencia de pesos después de la calcinación nos indicó la cantidad de fibra presente.

Se pesó 1 g de muestra seca, a la cual se le adicionó 250 mL de H₂SO₄ al 1,25%, se llevó la muestra al equipo digestor por 30 min, terminada la digestión ácida se activó la bomba de filtración, después de ese proceso se lavó con 100 mL de agua destilada caliente hasta que se verificó el fin de la reacción ácida, se adicionó 100 mL de NaOH al 1,25% caliente, se hirvió nuevamente agitando de vez en cuando como en el primer tratamiento por 30 min,

seguidamente se filtró y lavó hasta que el líquido de los lavados no presentó reacción alcalina, se comprobó con papel indicador, luego se llevó a la estufa por 2 horas a 130 °C y finalmente se calcinó a 600 °C por 30 min hasta obtener cenizas claras y fueron pesadas.

$$\% \text{ Fibra} = \frac{P_1 - P_2}{P_m} \times 100$$

Donde

P1 = Peso de la muestra digerida y seca

P2 = Peso del residuo de la calcinación

Pm = Peso en g de la muestra.

% G = Porcentaje de grasa

- *Análisis de carbohidratos totales*

La determinación de carbohidratos fue obtenida por diferencia entre los demás componentes mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Carbohidratos} = 100 - (\% \text{ Humedad} + \% \text{ Ceniza} + \% \text{ Proteína} + \% \text{ Grasa} + \% \text{ Fibra})$$

3.7.2. Determinación del contenido total de compuestos fenólicos (TPC) por Folin-Ciocalteu

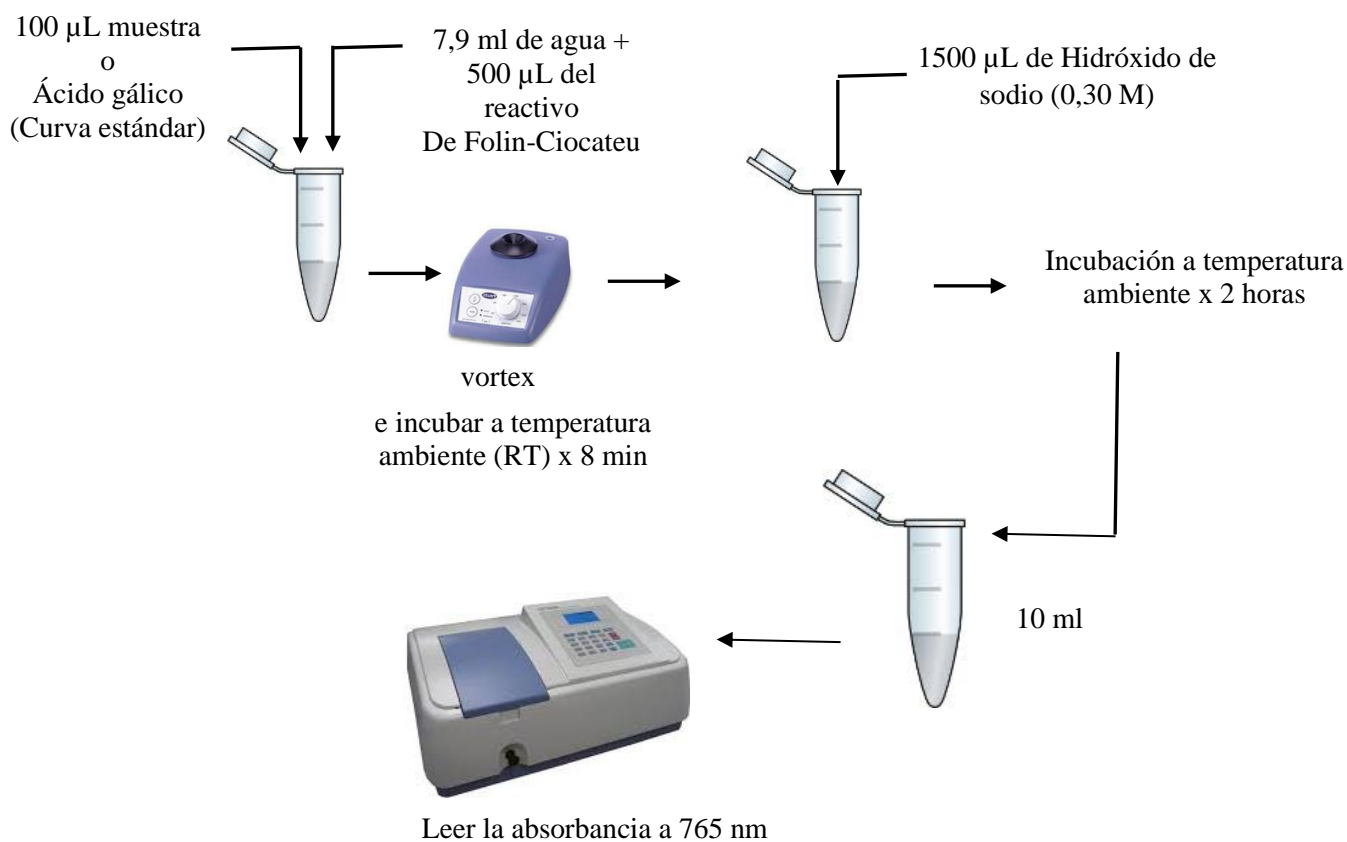
El contenido total de compuestos fenólicos (TPC) se determinó mediante el reactivo fenol Folin-Ciocalteu, primero se preparó la solución stock del estándar de ácido gálico siguiendo el protocolo (Figura 9) establecido de acuerdo al Método de reducción del reactivo Folin-Ciocalteu modificado de Singleton et al., (1999) y Magalhães et al., (2010).

La curva de la calibración del estándar de ácido gálico se preparó en las concentraciones de 0, 20, 50, 100, 250, 500 mg/L, la absorbancia se midió a 765 nm, utilizando un espectrofotómetro UV/VIS.

Se tomó 100 μ l del extracto obtenido de RG y RT, se adicionó 7,9 ml de agua ultrapura y 500 μ l de Folin-Ciocalteu, se dejó encubar aislado de la luz durante 8 minutos a temperatura ambiente, luego se adiciono 1500 μ l de NaOH 0,30 M y se deja encubar por dos horas, terminada la incubación se realizó la lectura en el espectrofotómetro UV/VIS a 765 nm los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico (GAE)/100 g de harina de residuo.

Figura 9

Protocolo para la determinación del contenido total de compuestos fenólicos (TPC)



3.7.3. Determinación de la capacidad antioxidante por captura del radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)

La capacidad antioxidante se determinó por el método de reducción de radicales DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazilo) según la metodología descrita por Brand-Williams, Cuvelier y Berset (1995) con algunas modificaciones descritas por Abderrahim et al. (2013) siguiendo el protocolo de la figura 10.

- Preparación de la muestra

Se preparó una solución madre de 100 mg de muestra (residuo de granos y residuo de tusa) /ml de solución metanólica y se prepararon las diluidos en concentraciones de 33,33; 20:00; 11,11; 5,88; 3,03; 1,54 mg/ml.

- Preparación de la solución de DPPH (60 μ M)

Para preparar la solución de DPPH 60 μ M, primero se preparó una solución stock de 10 mM de DPPH, pesando 0,00394 g y disolviendo en metanol ajustando el volumen a 1 ml en una fiola; se tomó 60 μ L de DPPH stock y se ajustó a un volumen de 10 ml.

60 μ L de DPPH stock

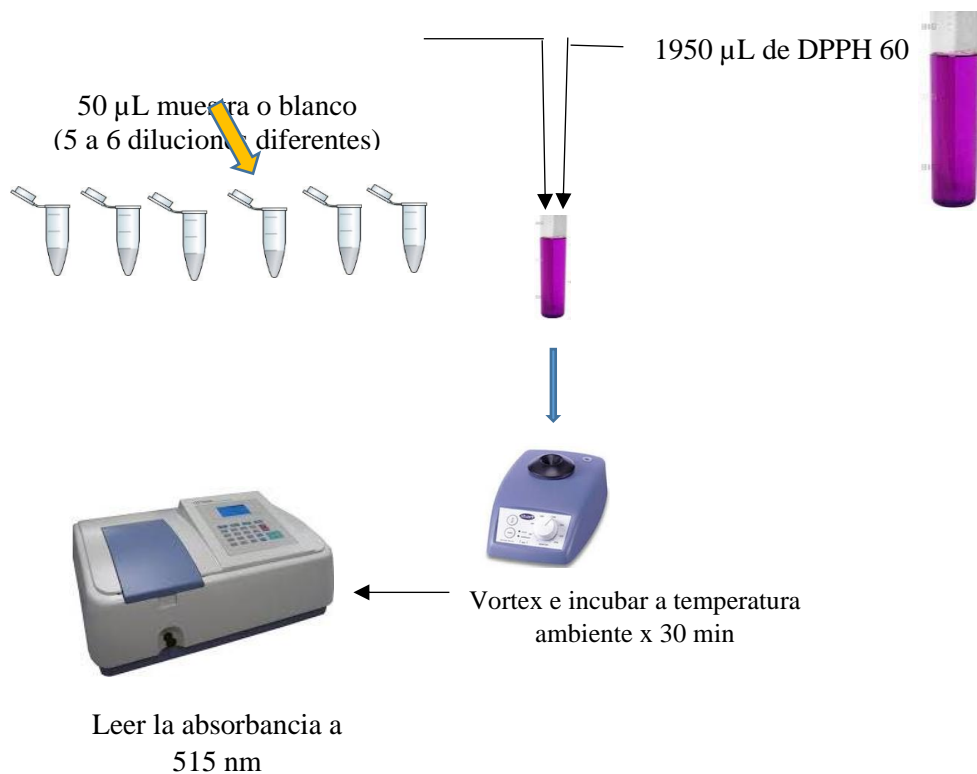


Ajustar el volumen a 10 ml

60 μ M de DPPH

Figura 10

Protocolo para la determinación de la actividad antioxidante



- Cuantificación de la absorbancia

La lectura se realizó en el espectrofotómetro UV/VIS a 515 nm. El porcentaje de inhibición se calculó utilizando la siguiente formula.

$$\% \text{ de Inhibición} = 100 (1 - A_{\text{muestra}}/A_{\text{control}})$$

Donde:

A muestra = Absorbancia de la muestra a 515 nm

A control = Absorbancia del radical DPPH

Se graficó la concentración de cada dilución frente a su respectivo porcentaje de inhibición y se obtuvo los puntos una tendencia lineal de la forma $Y = A + BX$ (donde Y es el porcentaje de inhibición, X es la concentración mg/mL, A es la intercepción y B es la pendiente), el poder reductor se refiere a la pendiente de dicha línea que se estima como SCI (Índice de Capacidad de Secuestro) cuyas unidades son; uMol de DPPH secuestrado/mL de extracto, también se calculó el valor de IC₅₀ (concentración efectiva media con la siguiente ecuación:

$$IC50 = ((\% \text{ de inhibición}/2) - \text{intercepto})/(\text{pendiente})$$

3.7.4. Identificar los flavonoides por espectrometría de masas

La identificación de los flavonoides de los residuos de granos y tusa se realizó utilizando un sistema LC-MS con espectrómetro de masa como detector, la separación se realizó en una columna C18 150mm x 4,6mm, 5µm a un caudal de 0,5mL/min y un volumen de inyección de 10µL, la detección se realizó en el rango de 100 a 1100 m/z con fuente de ionización por electrospray (ESI) en modo Scan, como fase móvil se utilizó ácido fórmico-agua (0,1% v/v, solvente A) y acetonitrilo (solvente B), con gradientes: 15%B (0 min), 25%B (0 -5,5min), 35%B (5,5-11 min), 60%B (11-31 min), 15%B (31-31,01 min), 15%B (31,01-35 min). Los extractos se filtraron con filtro de jeringa de 0,45µm en un vial de 2ml, colocados en el automuestreador para el análisis de sus perfiles metabólicos. Los datos fueron procesados mediante el software LabSolutions.

3.8. Análisis estadístico de datos

El diseño experimental Box-Behnken fue generado y analizados en el software Statgraphics Centurión XVI.II (Statpoint Technologies Inc., VA, USA). Este modelo permitirá optimizar los tres factores seleccionados (Tiempo de extracción, Etanol en solución acuosa y Temperatura de extracción). Se establecieron quince corridas experimentales realizadas por triplicado y bajo aleatoriedad, de las cuales tres representan los puntos centrales de cada factor respecto a sus niveles altos y bajos, según se detalla en la Tabla 3.

La identificación de los picos cromatográficos en el HPLC-DAD se realizó a 520 nm de longitud de onda (λ) detectándose en los diferentes tiempos de retención, el análisis de los datos se realizó a través del software LabSolutions y en el HPLC-MS en las masas de 100 a

1100 m/z l detectándose los picos cromatográficos mediante el análisis de datos través del software LabSolutions.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudio realizado por León (2019), muestra los productos concentrados de chicha morada que se vende en diferentes presentaciones en los mercados y centros de expendio a nivel nacional, y los residuos generados en este proceso no son utilizados, como también lo indica Gil-Martín et al. (2022) las empresas agroindustriales generan gran cantidad de desechos y subproductos no comestibles, los cuales pueden ser utilizados por sus compuestos fenólicos que presentan, es por eso que en este estudio se utilizó los residuos de granos (RG) y residuos de tusa (RT), por el cual se realiza el presente estudio.

El maíz morado utilizado en el presente estudio estuvo constituido en un 75,61% de grano y 24,39% de coronta (tusa).

4.1. Análisis proximal de los residuos del maíz morado

La composición proximal de los residuos del maíz morado del proceso de concentrado de maíz morado (granos y tusa) se presenta en la tabla 5.

Tabla 5.

Composición proximal de residuos de granos y tusa de maíz morado

Componente a	Muestras	
	Residuo de grano (RG)	Residuo de tusa (RT)
	(%) b	(%) b
Humedad	6,9930 ± 0,3785	5,4764 ± 0,5811
Ceniza	1,3749 ± 0,0027	1,5512 ± 0,0046

Proteína	8,3812 ± 0,3215	2,5550 ± 0,4476
Grasa	5,7446 ± 0,0994	1,5684 ± 0,2157
Carbohidratos	75,7101 ± 0,1460	66,2214 ± 0,9040
Fibra	1,7963 ± 0,1063	22,6275 ± 0,3449

a/ El análisis de cada uno de los componentes se realizó a los residuos de granos y tusa después del proceso de extracción del concentrado del maíz morado.

b/ los valores representan el promedio de 3 repeticiones ± desviación estándar.

La caracterización de los residuos de los granos y tusa se realizaron en forma separada, en la tabla 5 se observa que la humedad fue mayor en el grano de $6,9930 \pm 0,3785$ comparado con la tusa de $5,4764 \pm 0,5811$, respecto al contenido de cenizas, la tusa presentó un mayor porcentaje $1,5512 \pm 0,0046$, en cuanto a la proteína y grasa los granos presentaron mayor porcentaje de $8,3812 \pm 0,3215$ y $5,7446 \pm 0,0994$ respectivamente y el porcentaje mayor de fibra fue de la tusa $22,6275 \pm 0,3449$ y respecto a los carbohidratos ambos tienen un alto porcentaje $75,7101 \pm 0,1460$ para granos y $66,2214 \pm 0,9040$ para la tusa, los valores son similares a la muestra control de granos y tusa presentado por Cabezas (2019), teniendo en cuenta que la tabla presentada corresponde a los residuos del proceso de obtención de concentrado de chicha morada.

4.2. Extracción de polifenoles totales por ultrasonido

Según Gil-Martín et al. (2022), la extracción asistida por ultrasonido (EAU) es una opción asequible para valorar los subproductos vegetales, demostrando en la extracción de compuestos flavonoides a partir de residuos sólidos de varias matrices como una alternativa que presentó mayor recuperación tanto en fenoles totales como en actividad antioxidante, así mismo mezclando la EAU con etanol:agua ventajas como alternativa verde para la recuperación de polifenoles con capacidad antioxidante.

La extracción de metabolitos secundarios de materiales vegetales generalmente está influenciada por muchos factores intrínsecos e extrínsecos desde la práctica agrícola hasta las condiciones de extracción, los polifenoles y las antocianinas se ven fácilmente afectadas por la temperatura, la exposición a la luz y el pH. Los procedimientos de extracción más comunes involucraron el uso de una mezcla de solventes orgánicos acuosos, generalmente acidificados para mejorar el rendimiento, a una temperatura inferior a 50-60 °C por diferentes tiempos (Hong et al., 2020).

4.2.1. Curva de calibración de ácido gálico

La lectura de la curva del ácido gálico se realizó en un espectrofotómetro UV-Vis a 765 nm de longitud de onda (λ), expresado en absorbancia (UA).

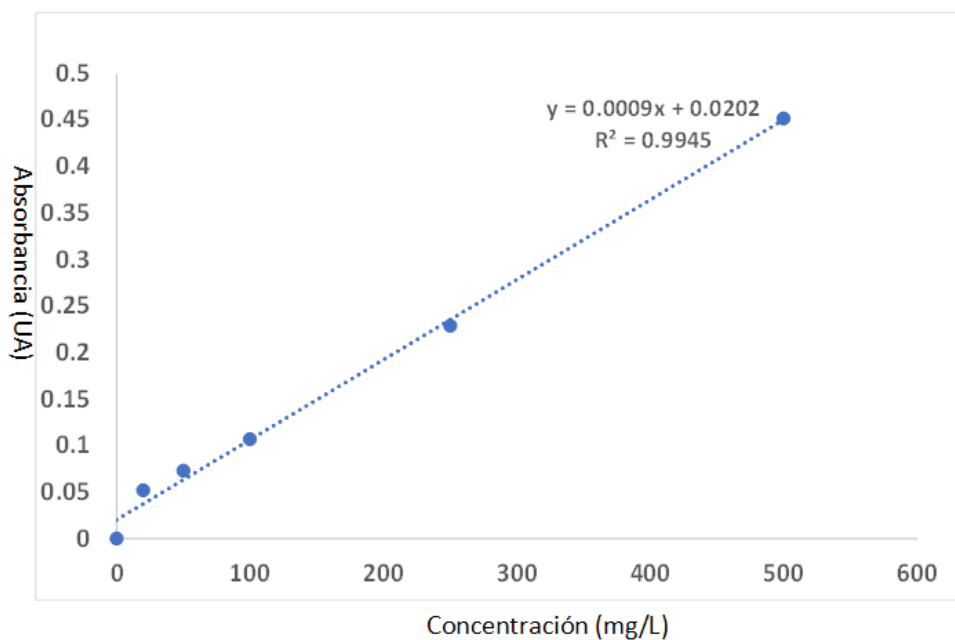
Tabla 6.

Curva de calibración de ácido gálico

Concentración (mg/L)	Absorbancia (UA)
0	0
20	0,052
50	0,073
100	0,107
250	0,229
500	0,452

Figura 11

Curva del ácido gálico



En la figura 11 se muestra la curva de calibración de ácido gálico en el rango de concentraciones de 0 a 500 mg/L que responde a la ecuación $Y = 0.0009x + 0.0202$ y a un R^2 de 0.9945.

Tabla 7.

Contenido de polifenoles totales de los extractos de la harina de residuo de tusa (RT) de acuerdo al Modelo Box Behnken para 15 tratamientos

ID	Tiempo de extracción (min)	Etanol en solución acuosa (%)	Temperatura de extracción (°C)	Concentración de Polifenoles Totales (mg GAE/L)	Concentración de Polifenoles Totales (mg GAE/100 g)
RT1	150	40	45	550,513	5505,13
RT2	60	0	45	407,598	4075,98
RT3	240	0	45	383,198	3831,98

RT4	60	80	45	322,779	3227,79
RT5	240	80	45	400,627	4006,27
RT6	60	40	30	470,341	4703,41
RT7	240	40	30	504,037	5040,37
RT8	150	40	45	420,379	4203,79
RT9	60	40	60	490,094	4900,94
RT10	240	40	60	549,351	5493,51
RT11	150	0	30	346,017	3460,17
RT12	150	80	30	451,751	4517,51
RT13	150	0	60	314,645	3146,45
RT14	150	80	60	433,16	4331,6
RT15	150	40	45	512,17	5121,7

Nota: 2022

Tabla 8.

Contenido de polifenoles totales de los extractos de la harina de residuo de grano (RG) de acuerdo al Modelo Box Behnken para 15 tratamientos

ID	Tiempo de extracción (min)	Etanol en solución acuosa (%)	Temperatura de extracción (°C)	Concentración de Polifenoles Totales (mg GAE/L)	Concentración de Polifenoles Totales (mg GAE/100 g)
RG1	150	40	45	142,654	1426,54
RG2	60	0	45	108	1080
RG3	240	0	45	69,761	697,61

RG4	60	80	45	66,176	661,76
RG5	240	80	45	106,805	1068,05
RG6	60	40	30	129,51	1295,1
RG7	240	40	30	258,566	2585,66
RG8	150	40	45	160,579	1605,79
RG9	60	40	60	215,547	2155,47
RG10	240	40	60	171,333	1713,33
RG11	150	0	30	68,566	685,66
RG12	150	80	30	72,151	721,51
RG13	150	0	60	75,736	757,36
RG14	150	80	60	121,145	1211,45
RG15	150	40	45	173,723	1737,23

Nota: 2022

En las tablas 7 y 8 se muestran los contenidos de polifenoles totales de los extractos de la harina de residuo de tusa (RT) y residuos de grano (RG) de acuerdo al Modelo Box Behnken expresado en mg de ácido gálico equivalente (mgGAE) /100 g de harina de RT o RG.

4.2.2. Optimización de polifenoles totales de las muestras de harina de residuos de tusa (RT) mediante modelo de superficie respuesta (MSR)

Tabla 9.

Análisis de Varianza para Concentración de Polifenoles Totales de los extractos de la harina de residuo de tusa (RT)

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Tiempo de extracción	267916.	1	267916.	0.63	0.4649

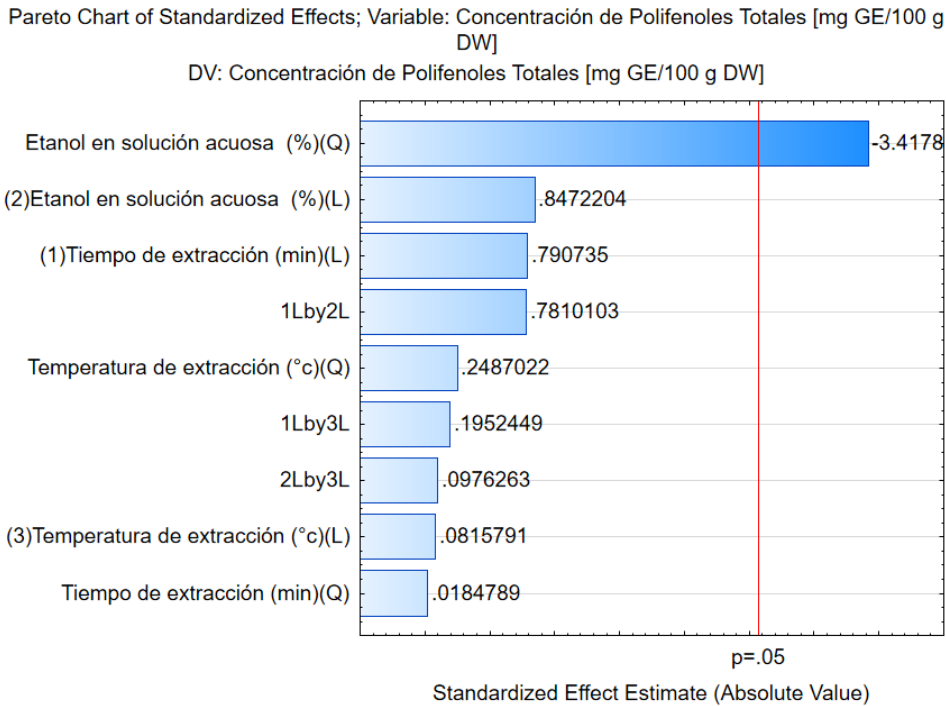
B:Etanol en solución acuosa	307559.	1	307559.	0.72	0.4355
C:Temperatura de extracción	2851.64	1	2851.64	0.01	0.9381
AA	146.315	1	146.315	0.00	0.9860
AB	261366.	1	261366.	0.61	0.4701
AC	16334.1	1	16334.1	0.04	0.8529
BB	5.00553E6	1	5.00553E6	11.68	0.0189
BC	4083.85	1	4083.85	0.01	0.9260
CC	26503.0	1	26503.0	0.06	0.8135
Error total	2.14243E6	5	428486.		
Total (corr.)	8.14687E6	14			

R-cuadrada = 73.7024 por ciento

En la Tabla 9 se muestra el ANOVA para Concentración de Polifenoles Totales de los extractos de la harina de residuo de tusa (RT), donde no existe efecto significativo individual de ninguna de las variables evaluadas ($p>0,05$), esto también se puede observar en el gráfico de Pareto estandarizado de la Figura 12.

Figura 12

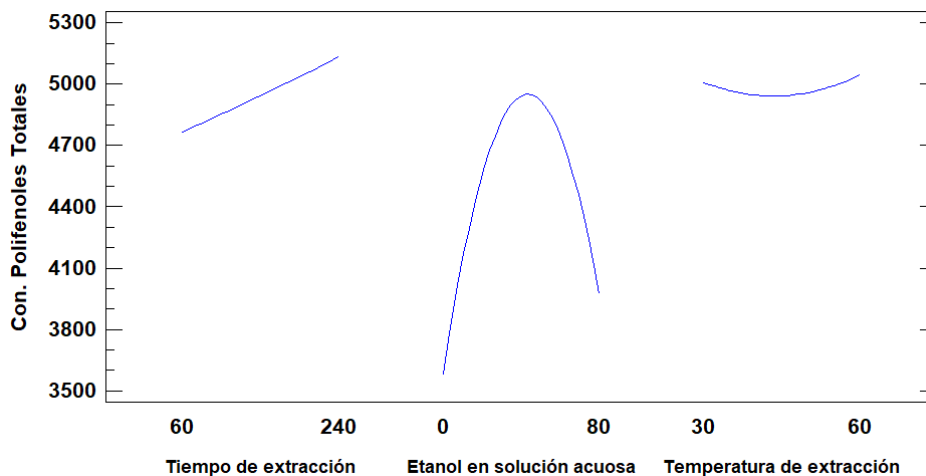
Diagramas de Pareto de efectos estandarizados para las variables de respuesta de polifenoles totales de los extractos de la harina de residuos de tusa (RT)



Si bien no existió un efecto significativo sobre la concentración de polifenoles podemos decir que la variable que generó mayor efecto es la de concentración de etanol en solución acuosa, la cual junto con la figura 13 podemos ver que las concentraciones que podrían generar mayores extracciones están cercanas a 40%. Seguido en efecto está el tiempo donde se observa que a mayor tiempo de extracción se puede seguir extrayendo polifenoles. El rango de temperatura evaluado no causó ningún efecto, esto se puede observar en la figura 13.

Figura 13

Gráfico de contorno para las variables de respuesta de polifenoles totales de los extractos de la harina de residuos de tusa (RT)



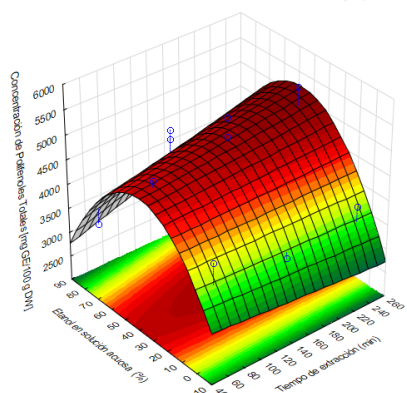
Con el
objetivo
de
observar

cual es la mejor combinación de las variables de estudio se ajustó a un modelo de superficie de respuesta (MSR), el cual logró un ajuste del 73,7024%, las figuras generadas y la ecuación se muestran en la Figura 14, estos valores nos sirvieron para ajustar una primera optimización teniendo como meta la “maximización de polifenoles totales”, donde el tiempo óptimo es de 240 minutos, el porcentaje de etanol en solución acuosa es de 47,8% y temperatura de 60°C. Es importante estos valores pues permitirán en el futuro mejorar las técnicas de extracción en Tusa.

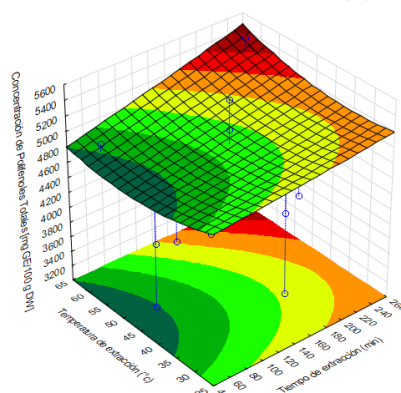
Figura 14

Gráfico de superficie de respuesta (Box-Behnken) de polifenoles totales de los extractos de la harina de residuos de tusa (RT)

Fitted Surface; Variable: Concentración de Polifenoles Totales [mg GE/100 g DW]
DV: Concentración de Polifenoles Totales [mg GE/100 g DW]



Fitted Surface; Variable: Concentración de Polifenoles Totales [mg GE/100 g DW]
DV: Concentración de Polifenoles Totales [mg GE/100 g DW]



$$\text{Con. Polifenoles Totales} = 4842.89 - 3.17011*A + 50.0711*B - 41.8608*C + 0.00077716*A^2 + 0.0710056*A*B + 0.0473352*A*C - 0.727706*B^2 + 0.0532542*B*C + 0.376544*C^2$$

El valor óptimo del contenido de polifenoles totales (TPC) fue de 5350,38 mg GAE/100 g de harina de residuo de tusa (RT), como se observa en la tabla 10 la optimización de la extracción asistida por ultrasonido se realizó mediante la metodología de superficie respuesta (MSR) a 47,8% de etanol como solvente en solución acuosa (v/v), tiempo de 240 y 60 °C de temperatura.

Tabla 10.

Valor bajo, alto y óptimo de los extractos de harina de residuo de tusa

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
A: Tiempo de extracción	60.0	240.0	240.0
B: Etanol en solución acuosa	0.0	80.0	47.8
C: Temperatura de extracción	30.0	60.0	60.0

4.2.3. Optimización de polifenoles totales de las muestras de harina de residuos de granos (RG) mediante modelo de superficie respuesta (MSR)

Tabla 11.

Análisis de Varianza para Concentración de Polifenoles Totales de los extractos de la harina de residuo de granos

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Tiempo de extracción	95117.8	1	95117.8	2.26	0.1935
B:Etanol en solución acuosa	24436.0	1	24436.0	0.58	0.4809
C:Temperatura de extracción	37768.5	1	37768.5	0.90	0.3875
AA	133571.	1	133571.	3.17	0.1353
AB	155504.	1	155504.	3.69	0.1129
AC	750562.	1	750562.	17.79	0.0083
BB	3.01205E6	1	3.01205E6	71.41	0.0004
BC	43731.2	1	43731.2	1.04	0.3553
CC	91404.4	1	91404.4	2.17	0.2010
Error total	210897.	5	42179.4		
Total (corr.)	4.74246E6	14			

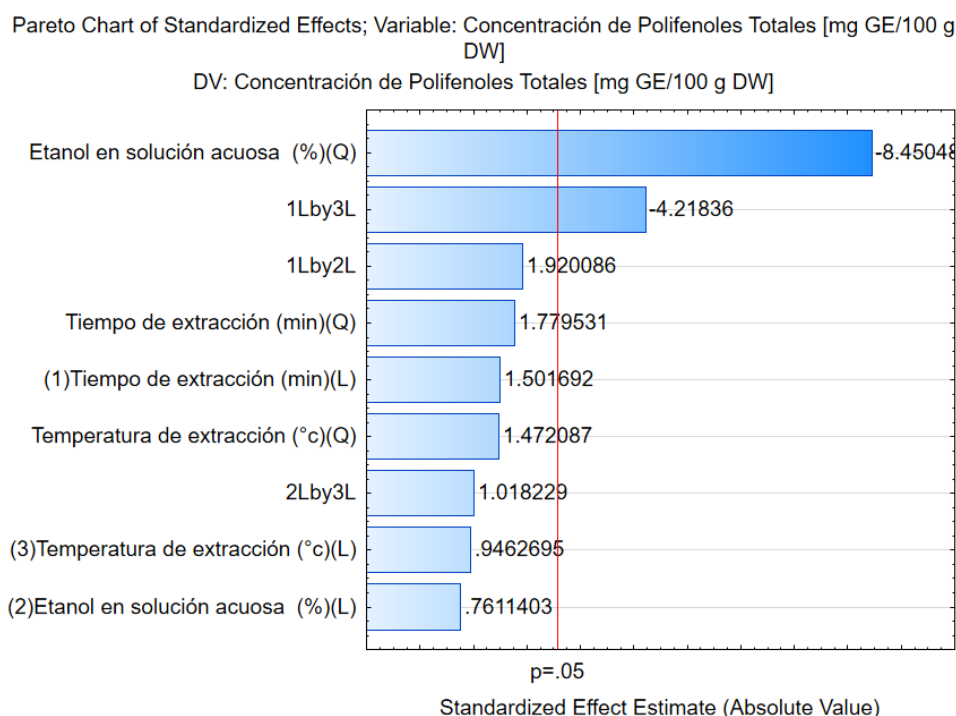
R-cuadrada = 95.553 por ciento

La tabla 11 muestra el ANOVA Concentración de Polifenoles Totales de los extractos de la harina de residuo de grano (RG), al igual que en el caso de extracción de polifenoles totales en tusa, ninguno de las variables de estudio generó un efecto significativo en la extracción ($p > 0,05$), solo se generó este efecto en el proceso de interacción entre el tiempo y la

temperatura ($p < 0,05$), esta misma información se puede ver en el gráfico de Pareto estandarizado de la figura 15.

Figura 15

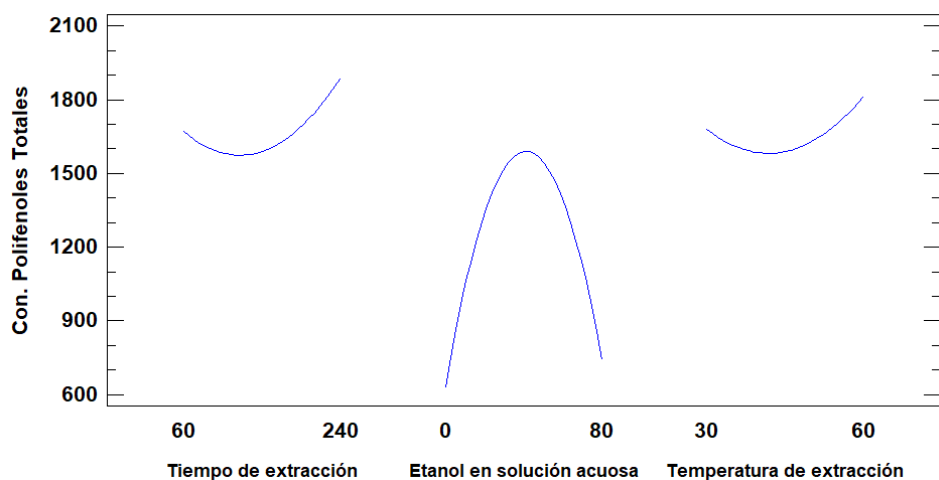
Diagramas de Pareto de efectos estandarizados para las variables de respuesta de polifenoles totales de los extractos de la harina de residuos de grano (RG)



Al analizar los efectos individuales mostrados en la figura 16 podemos observar que el comportamiento de la concentración de etanol generó extracciones alrededor de 40%, lo cual es lo mismo que en el proceso de extracción en tusa, en los casos del tiempo y temperatura no han tenido un efecto visible en el rango evaluado.

Figura 16

Gráfico de contorno para las variables de respuesta de polifenoles totales de los extractos de la harina de residuos de grano (RG)

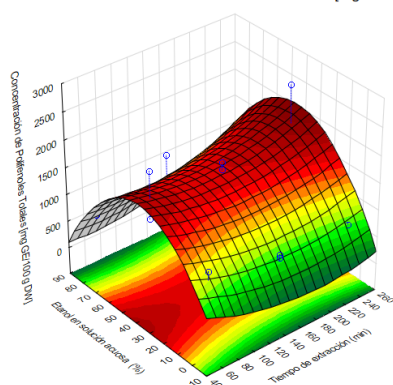


Con el objetivo de observar cual es la mejor combinación de las variables de estudio se ajustó a un modelo de superficie de respuesta (MSR), el cual logro un ajuste del 95,553 %, las figuras generadas y la ecuación se muestran en la Figura 17. estos valores nos sirvieron para ajustar una primera optimización teniendo como meta la “maximización de polifenoles totales”, donde el tiempo óptimo es de 240 minutos, el porcentaje de etanol en solución acuosa es de 43.2% y temperatura de 30°C. Es importante estos valores pues permitirán en el futuro mejorar las técnicas de extracción en granos.

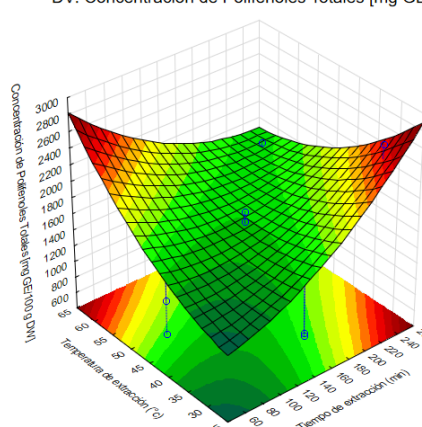
Figura 17

Gráfico de superficie de respuesta (Box-Behnken) de polifenoles totales de los extractos de la harina de residuos de grano (RG)

Fitted Surface; Variable: Concentración de Polifenoles Totales [mg GE/100 g DW]
DV: Concentración de Polifenoles Totales [mg GE/100 g DW]



Fitted Surface; Variable: Concentración de Polifenoles Totales [mg GE/100 g DW]
DV: Concentración de Polifenoles Totales [mg GE/100 g DW]



$$\text{Con. Polifenoles Totales} = 664.321 + 6.41556*A + 30.4841*B - 17.1948*C + 0.0234813*A^2 + 0.0547694*A*B - 0.32087*A*C - 0.564498*B^2 + 0.174267*B*C + 0.699281*C^2$$

El valor óptimo del contenido de polifenoles totales (TPC) fue de 2416,91mg GAE/100 g de harina de residuo de grano, como se observa en la tabla 12 la optimización de la extracción asistida por ultrasonido se realizó mediante la metodología de superficie respuesta a 43,2% etanol como solvente en solución acuosa (v/v), tiempo de 240 y 30 °C de temperatura.

Tabla 12.

Valor bajo, alto y óptimo de los extractos de harina de residuo de grano

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
A: Tiempo de extracción	60.0	240.0	240.0
B: Etanol en solución acuosa	0.0	80.0	43.2
C: Temperatura de extracción	30.0	60.0	30.0

Parámetros óptimos de los extractos de harina de residuo de tusa y granos respecto a la variable de etanol en solución acuosa fue de 47,8 y 43,2 respectivamente, para una alta extracción a optimizar los compuestos fenólicos concordante con lo obtenido por Melgarejo (2018) quien seleccionó una concentración de etanol moderada (40%) como el disolvente más apropiado para optimizar los parámetros de extracción de polifenoles totales de camu camu.

4.3. Capacidad antioxidante

Tabla 13.

Capacidad de inhibición de radicales libres presentes en tusa y granos del residuo de maíz morado comparados con tusa y granos control de maíz morado

Muestra	IC₅₀ DPPH ^a (mg/mL)
Residuo Tusa (RT)	8,57±1,30
Residuo grano (RG)	11,22 ±3,29
Tusa control (TC)	0,74 ±0,80
Grano control (GC)	11,65±0,95

a/ los valores representan el promedio de 3 repeticiones ± desviación estándar.

Estudios realizados por Diaz García et al. (2021); Guillen-Sánchez et al. (2014); Jing et al. (2007) y Lao & Giusti (2016) muestran que el maíz morado presenta compuestos fenólicos, antocianinas que son compuestos con actividad antioxidante, en la tabla 13 se presenta la capacidad para inhibir el 50% de los radicales presentes en las muestras expresado en IC₅₀ de DPPH.

Los residuos de tusa y granos después de haber pasado por el proceso de obtención de concentrado de chicha morada donde el residuo de tusa presenta 8,57±1,30 mg/mL y los

residuos de grano $11,22 \pm 3,29$ mg/mL presentan una alta inhibición de los radicales libres similar a los granos control de $11,65 \pm 0,95$ mg/mL de capacidad de inhibición a los radicales libres de esto se puede decir que presenta cantidad necesaria para eliminar la acción de los radicales libres.

4.4. Identificación de Flavonoides por HPLC-DAD

La identificación se realizó en el HPLC con detector de arreglo de fotodiodos (DAD) a 520 nm de longitud de onda, se han identificados picos cromatográficos a diferentes tiempos de retención (figura 18 y figura 19).

Figura 18

Picos cromatográficos a 520 nm obtenidos mediante HPLC-DAD de identificación de flavonoides en el extracto de residuos de tusa (RT)

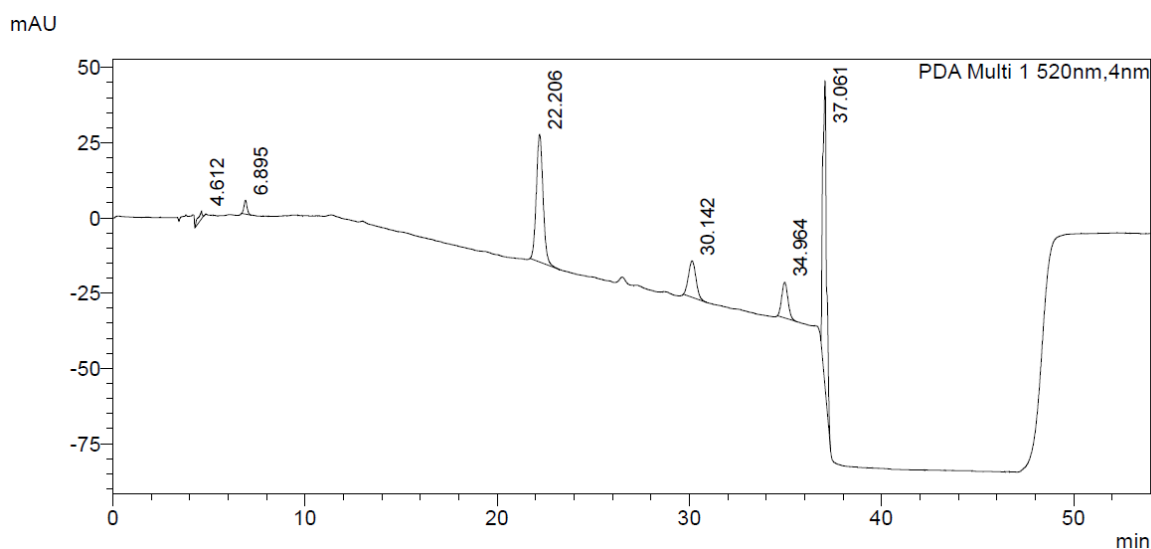


Tabla 14.

Cromatograma HPLC de identificación de flavonoides en el extracto de residuos de tusa (RT)

PDA Ch1 520nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	4.612	42454	2544	1.378
2	6.895	51662	4610	1.676
3	22.206	1030611	42409	33.440
4	30.142	329778	12086	10.700
5	34.964	267856	11931	8.691
6	37.061	1359597	101487	44.115
Total		3081959	175067	

En la tabla 14 se presenta 6 picos cromatográficos a 520 nm de longitud de onda en los diferentes tiempos de retención, cuya longitud de onda corresponde a las antocianinas que son un subclase de flavonoides (Guillén-Sánchez et al., 2014).

De esto podemos decir que la tusa utilizada en el proceso de concentrado de chicha morada aun cuenta con compuestos de antocianinas de acuerdo a la identificación realizada con el detector de arreglo de fotodiodos (DAD).

Figura 19

Cromatograma HPLC de identificación de flavonoides en el extracto de residuos de granos (RG)

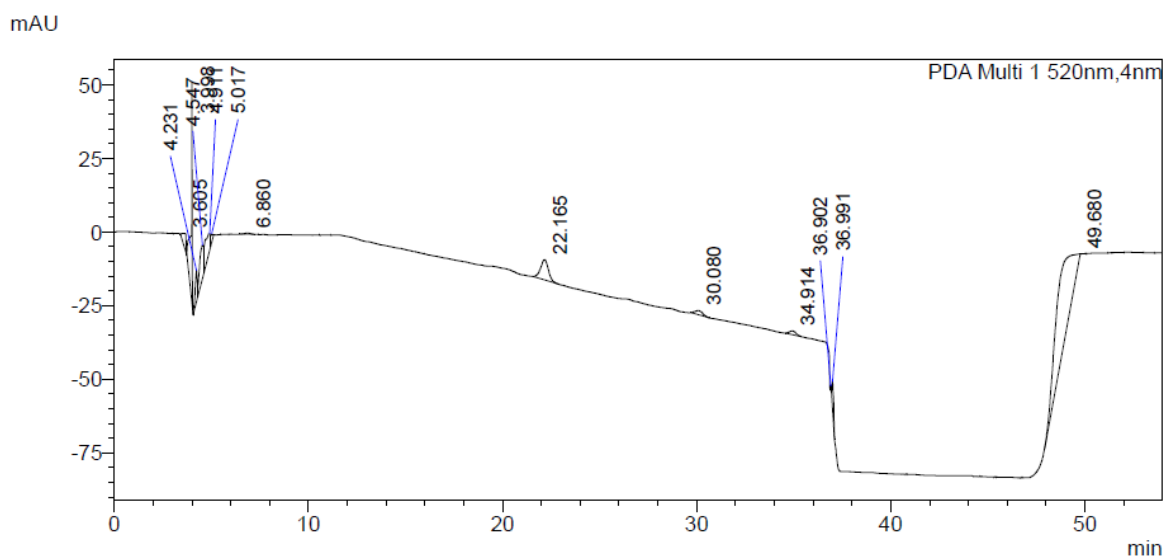


Tabla 15.

Cromatograma HPLC de identificación de flavonoides en el extracto de residuos de grano (RG)

PDA Ch1 520nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	3.605	59599	4622	2.107
2	3.998	310639	75147	10.983
3	4.231	80788	10633	2.856
4	4.547	168664	11088	5.963
5	4.911	163230	5678	5.771
6	5.017	16382	2918	0.579
7	6.860	8031	372	0.284
8	22.165	190676	6857	6.742
9	30.080	39541	1457	1.398
10	34.914	29744	1257	1.052
11	36.902	2399	1487	0.085
12	36.991	55466	8418	1.961
13	49.680	1703148	2844	60.218
Total		2828307	132778	

En la tabla 15 se presenta 13 picos cromatográficos a 520 nm de longitud de onda en los diferentes tiempos de retención, cuya longitud de onda corresponde a las antocianinas que son una subclase de flavonoides.

De esto podemos decir que los granos utilizados en el proceso de concentrado de chicha morada aun cuentan con compuestos de antocianinas de acuerdo a la identificación realizada con el detector de arreglo de fotodiodos (DAD).

Similarmente se procedió a la identificación de los compuestos por el detector de masa (MS).

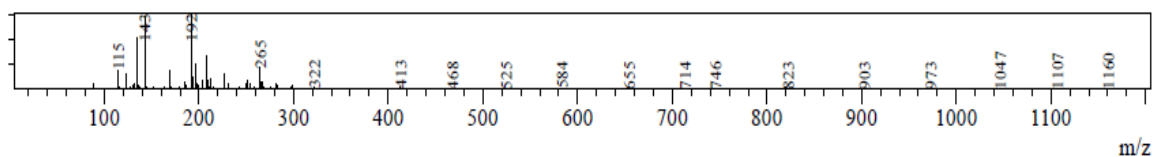
4.5. Identificación de Flavonoides por HPLC-MS

La identificación se realizó en el HPLC con detector de masa (MS) a masa de 100 a 1100 m/z, identificando picos cromatográficos a diferentes tiempos de retención (figura 20 y figura 21).

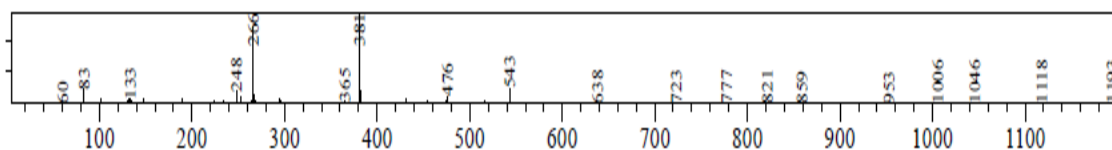
Figura 20

Scan de los flavonoides de residuos de tusa (RT) a de 100 a 1100 m/z obtenidos mediante HPLC-MS para su identificación

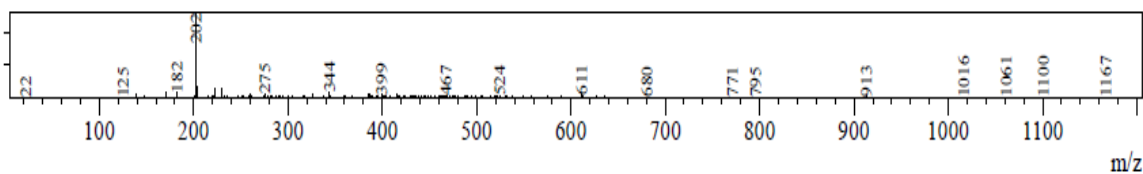
Pico 1:



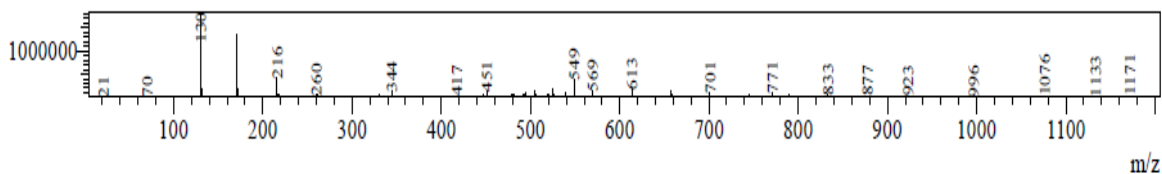
Pico 2:



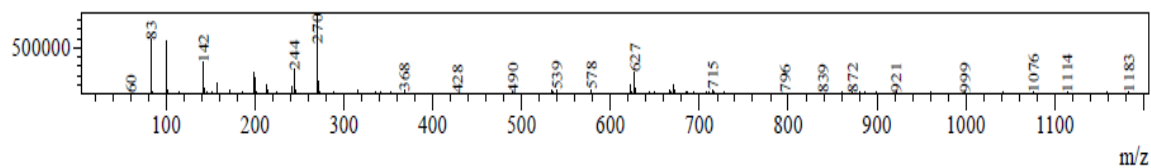
Pico 3:



Pico 4:



Pico 5:



En la figura 20 se observa los picos cromatográficos de los flavonoides presentes en los extractos obtenidos de los residuos de tusa optimizado mediante el modelo de superficie respuesta (MSR).

Tabla 16.

Cromatograma HPLC-MS de identificación de flavonoides en el extracto de residuos de tusa (RT)

Pico cromatográfico	Tiempo de retención (Tr)	m/z	Área	A/H
1	3,45	192	249116015	10,259
2	3,77	381	46518881	3,684
3	4,63	202	40571319	3,110
4	37,43	130	178624520	14,588
5	37,65	83	85317218	8,883

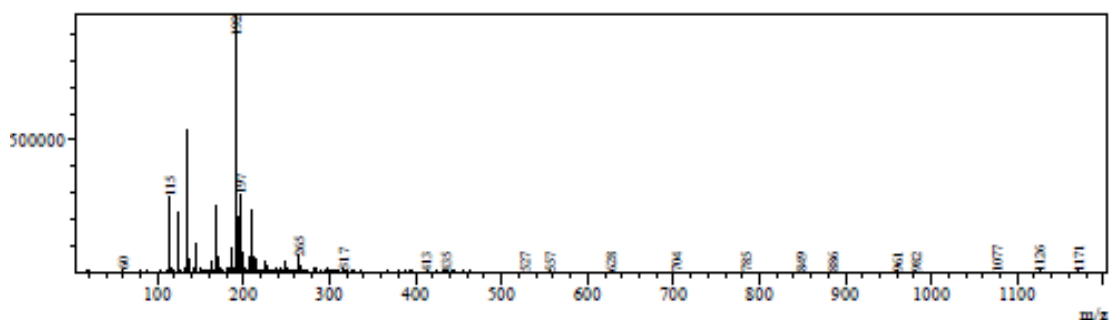
Nota. m/z (masa/carga); H/A (Área/Altura del pico)

En la tabla 16 se presenta el tiempo de retención en el cual son identificados cada uno de los picos cromatográficos en el rango de 100 a 1000 m/z, observando que su masa se encuentra entre 83 a 381 m/z.

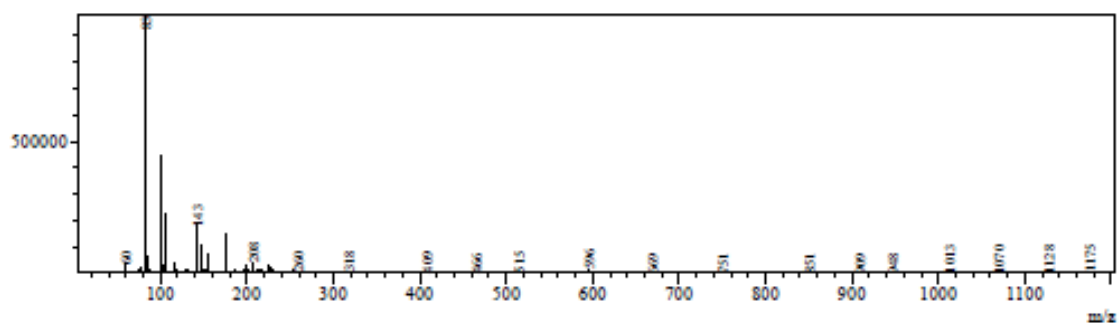
Figura 21

Scan de los flavonoides de residuos de granos (RG) a de 100 a 1100 m/z obtenidos mediante HPLC-MS para su identificación

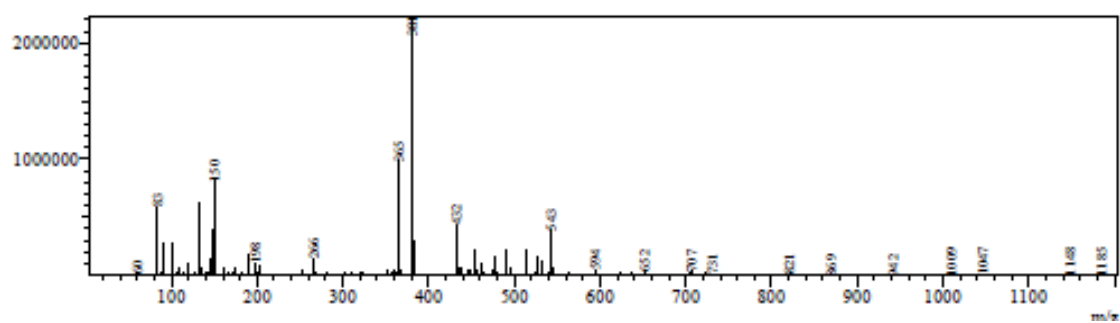
Pico 1:



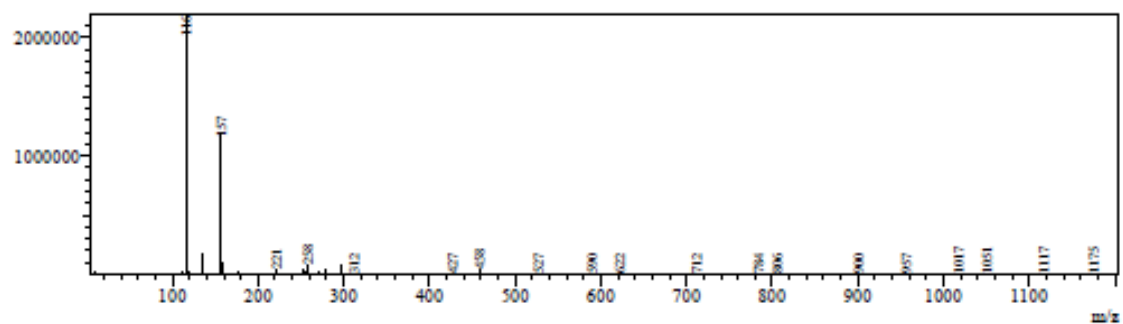
Pico 2:



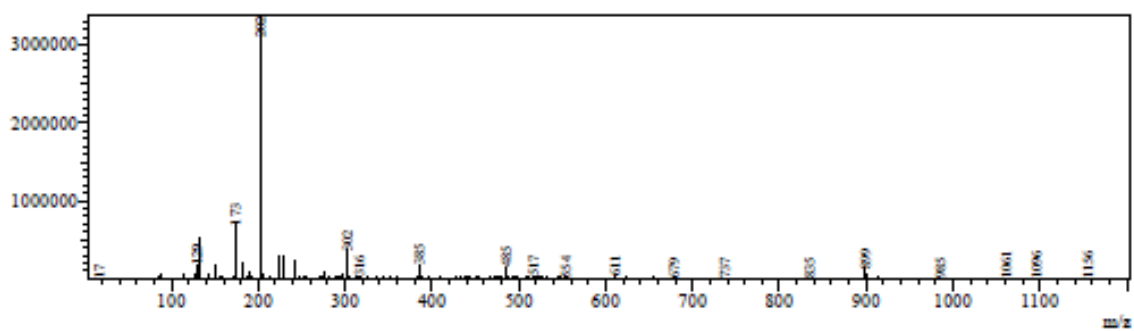
Pico 3:



Pico 4:



Pico 5:



En la figura 21 se observa los picos cromatográficos de los flavonoides presentes en los extractos obtenidos de los residuos de granos optimizado mediante el modelo de superficie respuesta (MSR).

Tabla 17.

Cromatograma HPLC-MS de identificación de flavonoides en el extracto de residuos de granos (RG)

Pico cromatográfico	Tiempo de retención (T_R)	m/z	Area	A/H
1	3,39	192	37092014	5,829
2	3,58	83	21366927	7,672
3	3,76	381	143673251	10,865
4	3,98	116	114359375	12,022
5	4,49	202	48747550	3,633

Nota. m/z (masa/carga); H/A (Área/Altura del pico)

En la tabla 17 se presenta el tiempo de retención en el cual son identificados cada uno de los picos cromatográficos en el rango de 100 a 1000 m/z, observando que su masa se encuentra entre 83 a 381 m/z.

V. CONCLUSIONES

Se determinó las condiciones óptimas de extracción del contenido de compuestos fenólicos totales de residuos de maíz morado como granos y tusa para obtener la mayor recuperación de los fenoles de los granos y tusa lixiviada durante el proceso de obtención de la chicha morada, realizado mediante extracción sólido-líquido asistido por ultrasonido con solución etanólica.

Se establecieron las condiciones de pretratamiento de secado, molienda (tamaño de partícula) que permitió mejorar la extracción.

Se determino la caracterización química de residuos de granos (RG) y tusa (RT) y la actividad antioxidante.

Se realizó el perfil de metabolito cualitativo de los compuestos del residuo de tusa y granos del maiz morado mediante HPLC-DAD a 520 nm de longitud de onda y HPLC-MS de 100 a 1100 m/z. Se detectaron 5 compuestos.

VI. BIBLIOGRAFÍA

Abderrahim, F., Arribas, S. M., Carmen Gonzalez, M., & Condezo-Hoyos, L. (2013).

Rapid high-throughput assay to assess scavenging capacity index using DPPH. *Food Chemistry*, 141(2), 788–794. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.055>

Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science*, 4(December 2020), 200–214. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.03.011>

Amyrgialaki, E., Makris, D. P., Mauromoustakos, A., & Kefalas, P. (2014). Optimisation of the extraction of pomegranate (*Punica granatum*) husk phenolics using water/ethanol solvent systems and response surface methodology. *Industrial Crops and Products*, 59, 216–222. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.05.011>

Ballena, J. (2017). “DISEÑO DE UNAMINIPLANTA DEPRODUCCIÓN DE CONCENTRADONATURAL DE CHICHA MORADAPARALA PREPARACION DEBEBIDAS YDERIVADOS.” Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)

- Cabezas, M. (2019). Efecto de los parámetros de extracción acuosa de antocianinas de tres procedencias de la coronta de maíz morado (*Zea mays* L.). *UPeU*, 174.
- Ccaccya, A. (2020). *Compuestos bioactivos y actividad antioxidante del maíz morado Zea Mays L. procedente de tres regiones del Perú*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Chen, L., Yang, M., Mou, H., & Kong, Q. (2018). Ultrasound-assisted extraction and characterization of anthocyanins from purple corn bran. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(1). <https://doi.org/10.1111/jfpp.13377>
- Chen, M., Zhao, Y., & Yu, S. (2015). Optimisation of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from sugar beet molasses. *Food Chemistry*, 172, 543–550. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.110>
- Colombo, R., Ferron, L., & Papetti, A. (2021). Colored Corn: An Up-Date on Metabolites Extraction, Health Implication, and Potential Use. In *Molecules (Basel, Switzerland)* (Vol. 26, Issue 1). NLM (Medline). <https://doi.org/10.3390/molecules26010199>
- Cristianini, M., & Guillén Sánchez, J. S. (2020). Extraction of bioactive compounds from purple corn using emerging technologies: A review. *Journal of Food Science*, 85(4), 862–869. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15074>
- Da Porto, C., Porretto, E., & Decorti, D. (2013). Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(4), 1076–1080. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.12.002>
- Díaz-García, A., Salvá-Ruíz, B., Bautista-Cruz, N., & Condezo-Hoyos, L. (2021).

Optimization of a natural low-calorie antioxidant tea prepared from purple corn (*Zea mays* L.) cobs and stevia (*Stevia rebaudiana* Bert.). *LWT*, 150.

<https://doi.org/10.1016/J.LWT.2021.111952>

Fernandez-Aulis, F., Hernandez-Vazquez, L., Aguilar-Osorio, G., Arrieta-Baez, D., & Navarro-Ocana, A. (2019). Extraction and Identification of Anthocyanins in Corn Cob and Corn Husk from Cacahuacintle Maize. *Journal of Food Science*, 84(5), 954–962.
<https://doi.org/10.1111/1750-3841.14589>

Gil-Martín, E., Forbes-Hernández, T., Romero, A., Cianciosi, D., Giampieri, F., & Battino, M. (2022). Influence of the extraction method on the recovery of bioactive phenolic compounds from food industry by-products. In *Food Chemistry* (Vol. 378).
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131918>

Guillén-Sánchez, J., Mori-Arismendi, S., & Paucar-Menacho, L. M. (2014). Características y propiedades funcionales del maíz morado (*Zea mays* L.) var. subnigroviolaceo. *Scientia Agropecuaria*, 211–217. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2014.04.05>

Hernández, M. (2021). *BEBIDA A BASE DE MAÍZ MORADO (ZEAMAYS) COMPUESTOS BIOACTIVOS Y EFECTO ANTIOXIDANTE EN UN MODELO IN VIVO*. Universidad Autónoma de Nuevo León.

Hong, H. T., Netzel, M. E., & O'Hare, T. J. (2020). Optimisation of extraction procedure and development of LC–DAD–MS methodology for anthocyanin analysis in anthocyanin-pigmented corn kernels. *Food Chemistry*, 319(October 2019), 126515.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126515>

Jing, P. U., Noriega, V., Schwartz, S. J., & Mónica Giusti, M. (2007). Effects of Growing

Conditions on Purple Corn cob (Zea mays L.) Anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 8625–8629. <https://doi.org/10.1021/jf070755q>

Karaaslan Ayhan, N., & Rosenberg, E. (2021). Development of comprehensive liquid chromatography with diode array and mass spectrometric detection for the characterization of (poly-)phenolic and flavonoid compounds and application to asparagus. *Food Chemistry*, 354(March), 129518. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129518>

Koop, L. B., Nascimento da Silva, M., Diniz da Silva, F., Thayres dos Santos Lima, K., Santos Soares, L., José de Andrade, C., Ayala Valencia, G., & Rodrigues Monteiro, A. (2022). Flavonoids, anthocyanins, betalains, curcumin, and carotenoids: Sources, classification and enhanced stabilization by encapsulation and adsorption. In *Food Research International* (Vol. 153). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110929>

Lao, F., & Giusti, M. M. (2016). Quantification of Purple Corn (Zea mays L.) Anthocyanins Using Spectrophotometric and HPLC Approaches: Method Comparison and Correlation. *Food Analytical Methods*, 9(5), 1367–1380. <https://doi.org/10.1007/s12161-015-0318-0>

León, S. (2019). *CAMPAÑA DE LANZAMIENTO PARA CONCENTRADO DE CHICHA MORADA “ANDINA.”* Universidad de Lima.

Luiza Koop, B., Nascimento da Silva, M., Diniz da Silva, F., Thayres dos Santos Lima, K., Santos Soares, L., José de Andrade, C., Ayala Valencia, G., & Rodrigues Monteiro, A. (2022). Flavonoids, anthocyanins, betalains, curcumin, and carotenoids: Sources,

classification and enhanced stabilization by encapsulation and adsorption. In *Food Research International* (Vol. 153). Elsevier Ltd.

<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110929>

Magalhães, L. M., Santos, F., Segundo, M. A., Reis, S., & Lima, J. L. F. C. (2010). Rapid microplate high-throughput methodology for assessment of Folin-Ciocalteu reducing capacity. *Talanta*, 83(2), 441–447. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.09.042>

Medina, N. (2017). *Efecto del ultra sonido en la extracción y nanoencapsulación de polifenoles de limón persa (citrus Latifolia)*. Centro de Investigación y Asistencia en tecnología y diseño del Estado de Jalisco, A.C.

Melgarejo Cabello, S. V. (2018). Uso de residuos sólidos de la industrialización del camu camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. Mc Vaugh) para la extracción de compuestos fenólicos. *Universidad Nacional Agraria La Molina*.

Melgarejo, S. (2018). *USO DE RESIDUOS SÓLIDOS DE LA INDUSTRIALIZACIÓN DEL CAMU CAMU (Myrciaria dubia H.B.K. Mc Vaugh) PARA LA EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS [Tesis de Maestría, Universidad Nacional Agraria La Molina]*. 96.

Mex-Álvarez, RMJ; Bolívar-Fernández, NJ; Garma-Quen, PM; Tut-Heredia, JA; Romero-Guillén, K. (2013). Actividad antioxidante de cinco variedades de maíz cultivadas en Campeche, México. *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*.

Paitan, Z. (2022). *Propueta de un plan HACCP en la linea de concentrado de chicha morada de la empresa El Moradito S.A*. Universidad Nacional Agraria La Molina.

- Passos, M., & Saraiva, L. (2019). Detection in UV-visible spectrophotometry: Detectors, detection systems, and detection strategies. *Measurement: Journal of the International Measurement Confederation*, 135, 896–904.
<https://doi.org/10.1016/j.measurement.2018.12.045>
- Paucar-Menacho, L. M., Martínez-Villaluenga, C., Dueñas, M., Frias, J., & Peñas, E. (2017). Optimization of germination time and temperature to maximize the content of bioactive compounds and the antioxidant activity of purple corn (*Zea mays* L.) by response surface methodology. *LWT - Food Science and Technology*, 76, 236–244.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.07.064>
- Paulsmeyer, M., Chatham, L., Becker, T., West, M., West, L., & Juvik, J. (2017). Survey of Anthocyanin Composition and Concentration in Diverse Maize Germplasms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(21), 4341–4350.
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b00771>
- Reyes, M.; Gómez, I.; Espinoza, C.; Bravo, F.; & Ganoza, L. (2009). Tablas Peruanas de composición de Alimentos.
- Salinas, Y., García, C., Coutiño, B., & Vidal, V. (2013). Variabilidad en contenido y tipos de antocianinas en granos de color azul/morado de poblaciones mexicanas de maíz. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36(SUPPL.3), 285–294.
<https://doi.org/10.35196/rfm.2013.3-s3-a.285>
- Shirzad, H., Niknam, V., Taheri, M., & Ebrahimzadeh, H. (2017). Ultrasound-assisted extraction process of phenolic antioxidants from Olive leaves: a nutraceutical study using RSM and LC–ESI–DAD–MS. *Journal of Food Science and Technology*, 54(8),

2361–2371. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2676-7>

Singleton, Vernon; Orthofer, Rudolf; Lamuela-Raventós, R. (1999). Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *METHODS IN ENZYMOLOGY*, 299, 152–178.

Terrones, J., & Díaz, L. (2016). *MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DEL COLORANTE DE Zea maíz L (MAIZ MORADO) PARA LA ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA SALUDABLE*. Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas.

ANEXOS

Anexo 1: Preparación de la materia prima

Figura 1

Obtención de la materia prima (Hervido de los granos y tusa del maíz morado y escurrido y separación del concentrado)



Figura 2

Tamizado de los granos y tusa



Figura 3

Secado de los residuos de granos y tusa



Figura 4

Molienda de los residuos de granos y tusa

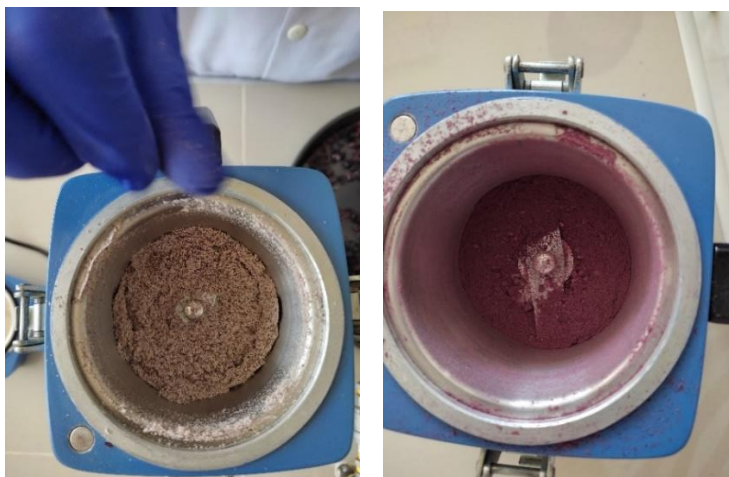


Figura 5

Muestras de residuo de granos y tusa empacados para su almacenamiento hasta el análisis



Anexo 2: Proceso de extracción de compuestos fenólicos por ultrasonido

Figura 6

Pesado de las muestras de grano y tusa para la extracción de acuerdo al Modelo Box Benker



Figura 7

Adición de la solución etanólica a las muestras

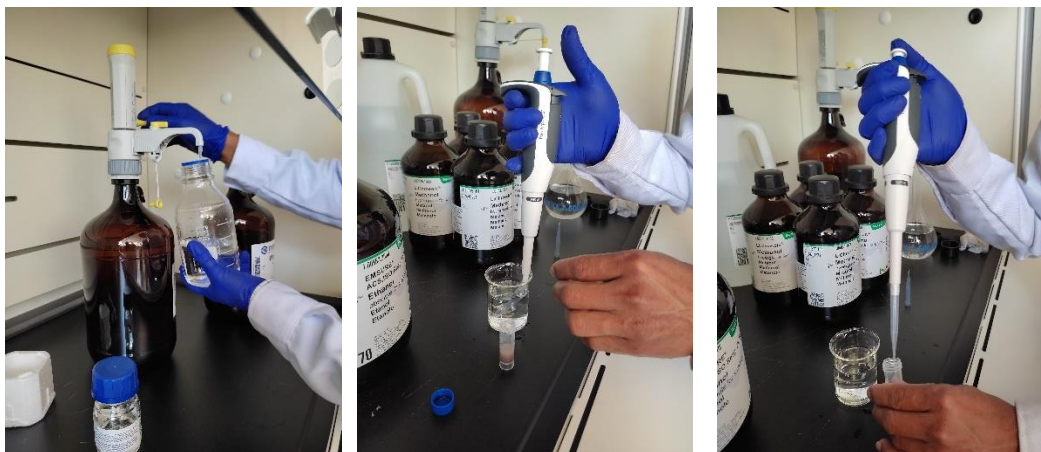


Figura 8

Muestras de tusa y grano en solución etanólica

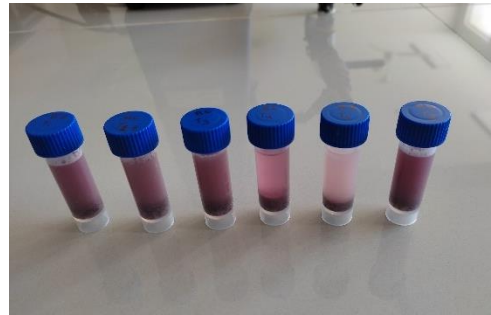
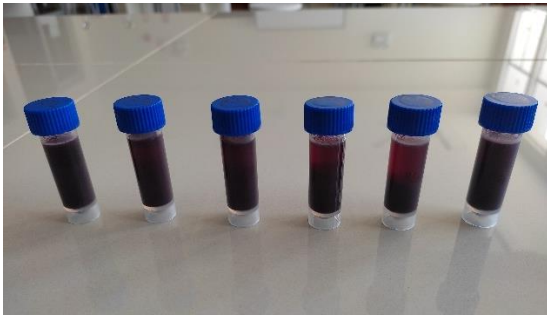


Figura 9

Zonificación de muestras



Figura 10:

Agitación de muestras de residuo de tusa y grano en el agitador orbital



Figura 11

Centrifugación de muestras de tusa y grano y después de la centrifugación.



Figura 12

Separación del sobrenadante y del precipitado después de la centrifugación

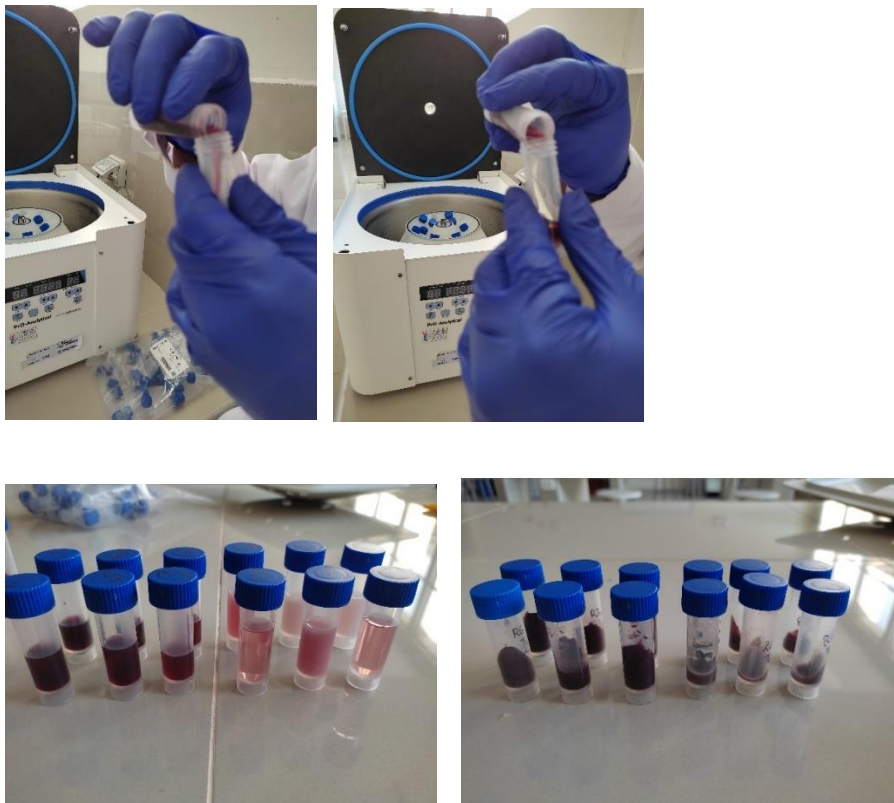


Figura 13

Filtrado del sobrenadante del residuo del grano

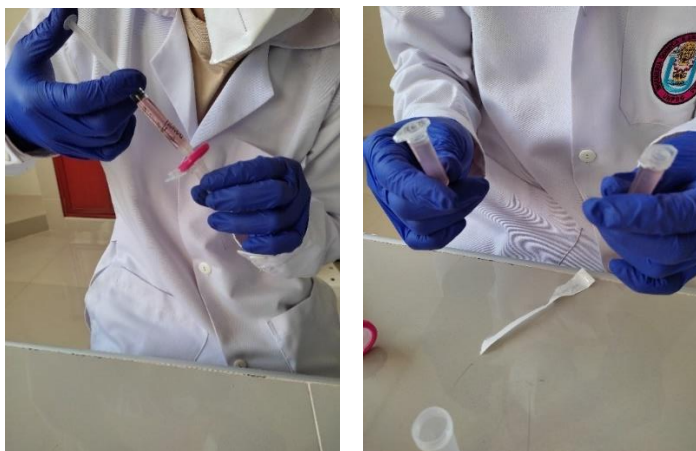


Figura 14

Filtrado del sobrenadante del residuo de tusa

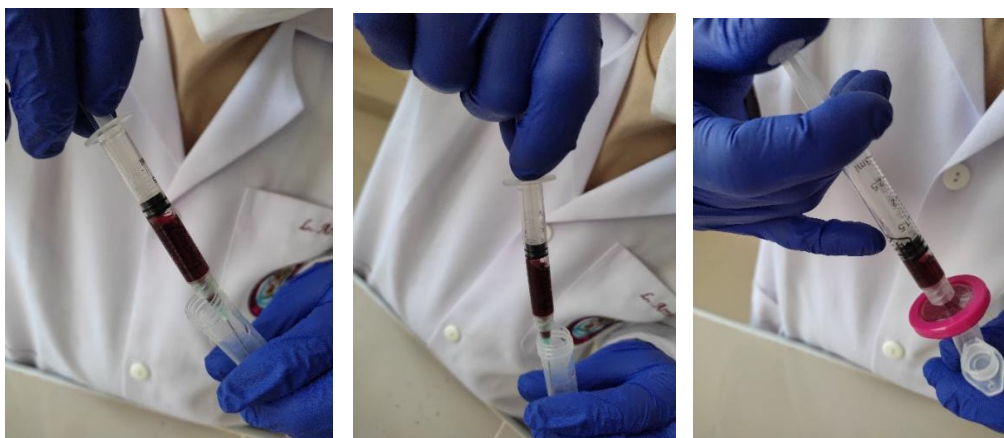
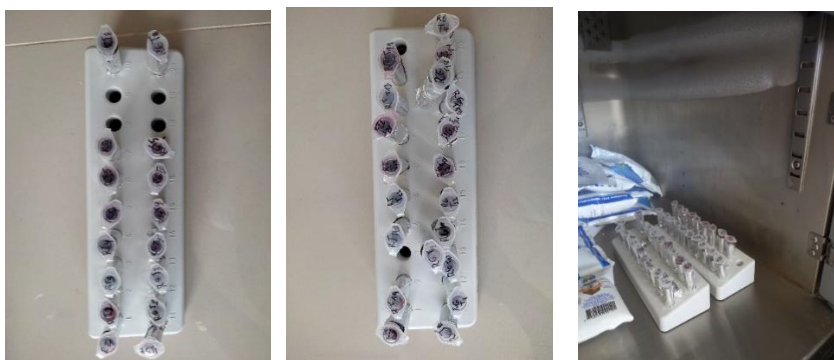


Figura 15

Muestra filtrada envuelta en papel aluminio para su almacenamiento a -20°C



Anexo 3: Composición química de granos y tusa

Figura 16

Pesado de muestras para determinación de humedad



Figura 16

Preparación de las muestras para determinación de cenizas



Figura 17

Digestión, destilación y titulación de muestras de tusa y granos para proteína



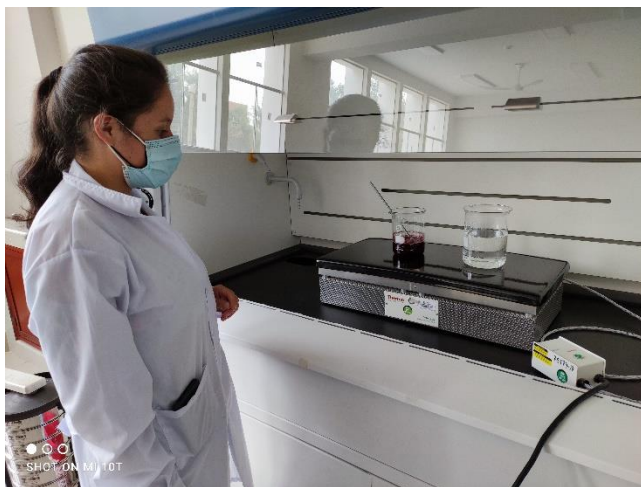
Figura 18

Extracción de grasa de muestra de tusa y granos



Figura 19

Preparación de muestra de tusa y granos para determinación de fibra



Anexo 4: Determinación de polifenoles totales

Figura 20

Preparación de muestras granos y tusa para determinación del contenido de polifenoles totales



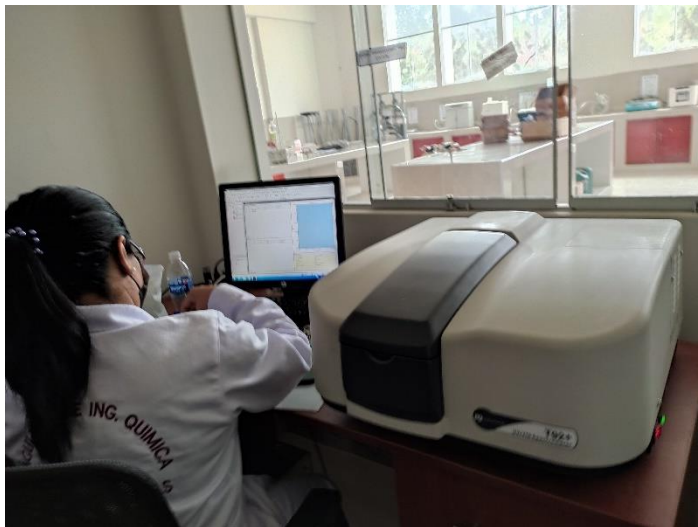
Figura 21

Muestras de granos y tusa con reactivo Folin-Ciucateu



Figura 22

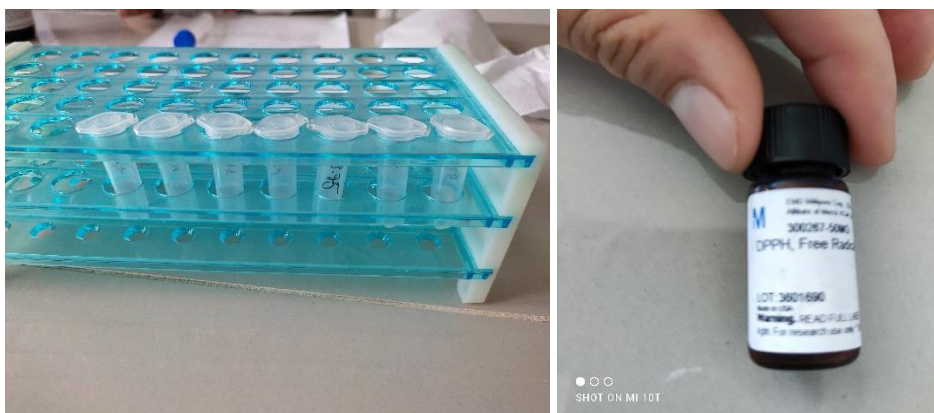
Lectura en el espectrofotómetro UV- Vis a 765 nm de longitud de onda (λ)



Anexo 5: Determinación de la Capacidad antioxidante

Figura 23

Preparación de las diluciones para la actividad antioxidante utilizando el radical DPPH



Anexo 6: Identificación de flavonoids (antocianinas)

Figura 24

Muestras óptimas de granos y tusa para la lectura en el HPLC-DAD y HPLC-MS

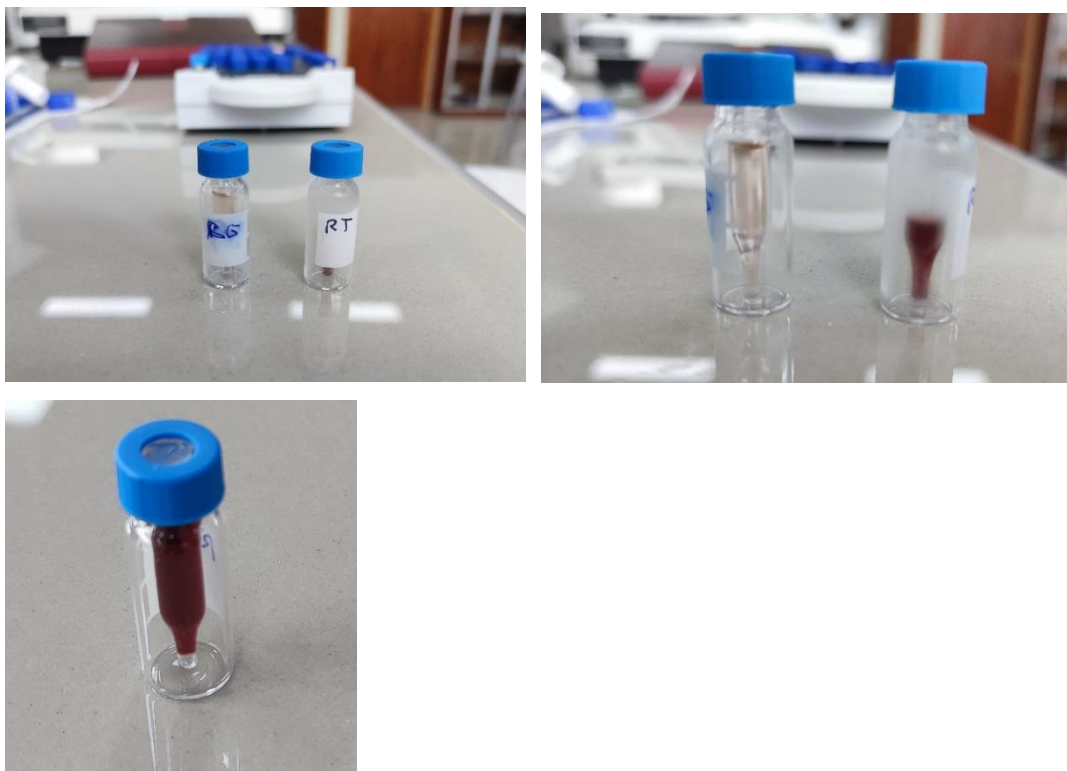


Figura 25

Preparación de la fase móvil, solución A: 2% de ácido fórmico en agua y solución B: Acetonitrilo.



Figura 26

Preparación del equipo, purga de la solución de la fase móvil para estabilizar las bombas A y B



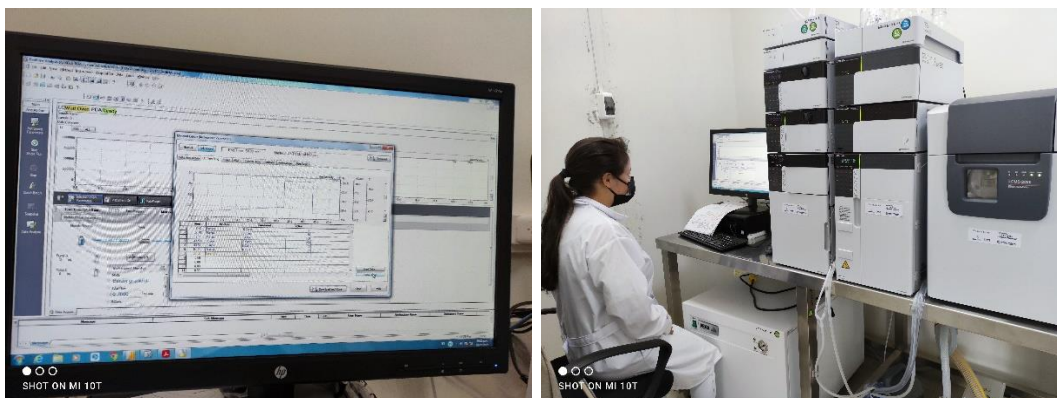
Figura 27

Colocar la muestra en el automuestreador para las lecturas



Figura 28

Preparación de la gradiente de la fase móvil en el software LabSolutions



Extracción de flavonoides del residuo de maíz morado por ultrasonido e identificación por espectrometría de masas

INFORME DE ORIGINALIDAD

13%

INDICE DE SIMILITUD

12%

FUENTES DE INTERNET

3%

PUBLICACIONES

3%


TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	cybertesis.unmsm.edu.pe Fuente de Internet	2%
2	hdl.handle.net Fuente de Internet	2%
3	repositorio.lamolina.edu.pe Fuente de Internet	1%
4	repositorio.unjfsc.edu.pe Fuente de Internet	1%
5	ciatej.repositorioinstitucional.mx Fuente de Internet	1%
6	www.dspace.uce.edu.ec Fuente de Internet	1%
7	es.scribd.com Fuente de Internet	1%
8	www.blacpma.usach.cl Fuente de Internet	<1%
9	tesis.ucsm.edu.pe Fuente de Internet	

Dra Noemí León Roque
DNI:23006439

		<1 %
10	qdoc.tips Fuente de Internet	<1 %
11	Submitted to Universidad Católica de Santa María Trabajo del estudiante	<1 %
12	pesquisa.bvsalud.org Fuente de Internet	<1 %
13	tauja.ujaen.es Fuente de Internet	<1 %
14	tesis.ipn.mx Fuente de Internet	<1 %
15	repositorio.usmp.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
16	repositorio.unsa.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
17	Loredana Dumitraşcu, Elena Enachi, Nicoleta Stănciuc, Iuliana Aprodu. "Optimization of ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from cornelian cherry fruits using response surface methodology", CyTA - Journal of Food, 2019 Publicación	<1 %
18	eprints.ucm.es Fuente de Internet	


 Dra Noemí León Roque
 DNI:23006439

		<1 %
19	www.coursehero.com Fuente de Internet	<1 %
20	doku.pub Fuente de Internet	<1 %
21	Submitted to Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo Trabajo del estudiante	<1 %
22	doczz.es Fuente de Internet	<1 %
23	linguamatica.com Fuente de Internet	<1 %
24	repositorio.untrm.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
25	Patricia Batista Grau. "Desarrollo de nanoestructuras de ZnO mediante anodizado electroquímico en diferentes condiciones para su aplicación en el área energética", Universitat Politecnica de Valencia, 2021 Publicación	<1 %
26	Submitted to Universidad Nacional del Santa Trabajo del estudiante	<1 %
27	Yolanda Salinas-Moreno, Carolina García-Salinas, Bulmaro Coutiño-Estrada, Víctor A.	<1 %




Dra Noemí León Roque
DNI:23006439

Vidal-Martínez. "VARIABILIDAD EN
CONTENIDO Y TIPOS DE ANTOCIANINAS EN
GRANOS DE COLOR AZUL/MORADO DE
POBLACIONES MEXICANAS DE MAÍZ", Revista
Fitotecnia Mexicana, 2013

Publicación

28	acadpubl.eu Fuente de Internet	<1 %
29	core.ac.uk Fuente de Internet	<1 %
30	MARTA GALLEGO IBÁÑEZ. "PÉPTIDOS GENERADOS EN JAMÓN CURADO COMO MARCADORES DE CALIDAD", Universitat Politecnica de Valencia, 2015 Publicación	<1 %
31	Rodrigo Andrés Sarria Villa, José Antonio Gallo Corredor, Ricardo Benítez Benítez. "Extracción de compuestos fenólicos y contenido de catequina en cortezas de tres especies forestales del Cauca-Colombia", Entre ciencia e ingeniería, 2021 Publicación	<1 %
32	Submitted to Universidad Nacional de Frontera Trabajo del estudiante	<1 %
33	www.unprg.edu.pe Fuente de Internet	<1 %


Dra Noemí León Roque
DNI:23006439



Recibo digital

Este recibo confirma que su trabajo ha sido recibido por **Turnitin**. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega: **MarlÍ Burga**
Título del ejercicio: **TESIS**
Título de la entrega: **Extracción de flavonoides del residuo de maíz morado por ul...**
Nombre del archivo: **Avance_tesis_Marli.docx**
Tamaño del archivo: **10.7M**
Total páginas: **76**
Total de palabras: **12,326**
Total de caracteres: **66,422**
Fecha de entrega: **17-dic.-2022 11:51a. m. (UTC-0500)**
Identificador de la entre... **1983557500**

 UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUÍZ GALLO
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA E
INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA DE INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS

TESIS

"Extracción de flavonoides del residuo de maíz morado por ultrasonido e
identificación por espectrometría de masas"

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

PRESENTADO POR:

Ing. BURGUA FENÁNDEZ MARLÍ

ASESORA: Dra. NOEMI LEÓN ROQUE
ASESOR METODOLÓGICO: M.Sc. JIMY FRANK OBLITAS CRUZ

Lambayeque - Perú
2022


Dra Noemí León Roque
DNI:23006439