

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

FACULTAD DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

Departamento Académico de Ciencia, Tecnología e Ingeniería de Alimentos



**“EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA Y CUANTIFICACIÓN
DE ANTOCIANINAS EN EL EXTRACTO ACUOSO DE LA
CORONTA DE MAIZ MORADO (*Zea mays L.*), TRATADO
CON ULTRASONIDO”**

TESIS

Para optar el título de

INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

PATRICIA CLARA VELEZ URRELO

TINGO MARIA - PERÚ

2010



Q04
V39

Vélez Urrelo, Patricia Clara

Evaluación Microbiológica y Cuantificación de Antocianinas en el Extracto Acuoso de la Coronta de Maíz Morado (*Zea mays L.*), tratado con Ultrasonido. Tingo María, 2010.

46 h.; 7 cuadros; 6 fgrs.; 28 ref.; 30 cm.

Tesis (Ing. Industrias Alimentarias) Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María (Perú). Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias.

MAIZ MORADO / ANTOCIANINAS / EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA
/ TRATAMIENTO ULTRASÓNICO / TIEMPO DE ALMACENAMIENTO
TINGO MARÍA / RUPA RUPA / LEONCIO PRADO / HUÁNUCO / PERÚ.



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
Tingo María
FACULTAD DE INGENIERIA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
Av. Universitaria s/n. Teléfono (062) 561385 – Fax (062) 561156
Apart. Postal 156 Tingo María E.mail; fia@unas.edu.pe

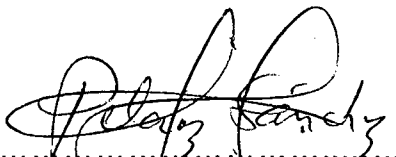
ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS


Los Miembros del Jurado que suscriben, reunidos en acto público el 14 de Octubre de 2010, a horas 7:00 p.m. en la Sala de Grados de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, ubicada en la ciudad de Tingo María, provincia de Leoncio Prado, departamento de Huánuco, para calificar la tesis presentado por la Bach. **VELEZ URRELO, Patricia Clara**, titulada:

**“EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA Y CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS
EN EL EXTRACTO ACUOSO DE LA CORONTA DE MAIZ MORADO
(*Zea mays* L.) TRATADO CON ULTRASONIDO”**

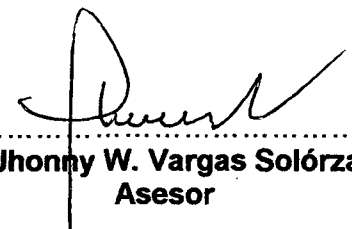
Después de haber escuchado la sustentación, las respuestas a las preguntas formuladas, lo declaran **APROBADO** con el calificativo de **BUENO** en consecuencia la Bachiller, queda apta para recibir el título de **Ingeniero en Industrias Alimentarias** del Consejo Universitario, de conformidad con el Art. 22° de la Ley Universitaria 23733; los artículos 51° y 52° del Estatuto Actualizado de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Tingo María, 20 de Octubre de 2010


.....
Dr. Pedro P. Peláez Sánchez
Presidente


.....
Ing. Alípio A. Ortega Rodríguez
Miembro


.....
Ing. Jaime E. Basilio Atencio
Miembro


.....
Ing. Jhonny W. Vargas Solórzano
Asesor

DEDICATORIA

A Dios y a la Virgen María, por darme la dicha de la vida y ser la fuente de fe y esperanza en mí camino.

A mi querida madre Mariané, en reconocimiento de sus sacrificios y su apoyo indesmayable en el logro de mis objetivos.

A mi sobrina adorada Gilyr Samantha y a mis hermanos: Cecilia, Enrique, Elizabeth, Celia, Francisco y Diego; por su confianza y sobre todo por incentivar me a salir adelante.

A la memoria de mi querido padre,
Enrique Sixto Vélez Barrantes
Q.E.P.D.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional Agraria de la Selva, por ser el alma mater donde culminé mi carrera profesional.

A la Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias, por haberme formado como profesional.

Al Ing. Jhony William Vargas Solorzano, por su valiosa orientación como patrocinador de la tesis.

Al Ing. Caleb Leandro Laguna, por su valiosa colaboración en la investigación.

Al Ing. Juan Villanueva Tiburcio, por su valiosa colaboración en la investigación.

A la Blga. Msc. Margarita Alcedo Romero por su valiosa colaboración en la investigación.

A la Ing. María de Guadalupe Díaz Delgado por su constante ayuda en la investigación.

Al Ing. Msc. Davy Williams Hidalgo Chávez, por su colaboración y participación en la investigación.

A todas aquellas personas que directa o indirectamente hicieron posible la culminación del presente trabajo.

ÍNDICE GENERAL

	Página
I. INTRODUCCION.....	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 Generalidades del maíz morado (Zea mays L.).....	3
2.1.1 Identificación taxonómica.....	3
2.1.2 Descripción morfológica.....	3
2.1.3 Composición química.....	4
2.1.4 Usos del maíz morado.....	4
2.1.5 Importancia del maíz morado.....	5
2.2 Generalidades de los antioxidantes naturales.....	5
2.2.1 Definición.....	5
2.3 Antocianinas.....	7
2.3.1 Estructura química.....	8
2.3.2 Factores que influyen en la estabilidad de las antocianinas.....	9
2.3.3 Espectro de absorción de las antocianinas.....	12
2.4 Ultrasonido.....	12
2.4.1 Ondas de sonido.....	13
2.4.2 Mecanismo y efectos del ultrasonido.....	14
2.4.3 Tipos de ultrasonido.....	15
2.4.4 Inactivación microbiana por ultrasonido.....	16

2.5 Requisitos Microbiológicos.....	18
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
3.1. Lugar de ejecución.....	19
3.2. Materia prima.....	19
3.3. Equipos, materiales y reactivos.....	19
3.3.1. Equipos de laboratorio.....	19
3.3.2. Materiales.....	20
3.3.3. Reactivos y solventes	21
3.4. Métodos de análisis.....	22
3.4.1 Cuantificación de antocianinas del extracto acuoso.....	22
3.4.2 Evaluación microbiológica del extracto acuoso.....	22
3.5. Metodología experimental.....	23
3.5.1. Preparación y obtención del extracto.....	23
3.5.2. Regulación del pH y tratamiento ultrasónico del extracto acuoso.....	24
3.5.3. Evaluación microbiológica y cuantificación de antocianinas del extracto acuoso.....	25
IV. RESULTADOS.....	29
V. DISCUSION.....	34
VI. CONCLUSIONES.....	38
VII. RECOMENDACIONES.....	39
VIII. BIBLIOGRAFÍA.....	40
IX. ANEXO.....	46

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Composición química del maíz morado (g/100g.b.h.).....	4
2. Partes sustituibles de las antocianinas.....	9
3. Requisitos microbiológicos para bebidas no carbonatadas.....	18
4. Efecto del pH en los extractos de la coronta de maíz morado para los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0,10, 20 y 30 min), con tiempos de almacenamiento (0 y 7 días).....	29
5. Efecto del tiempo de sonicado en los extractos de la coronta de maíz morado para los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0,10, 20 y 30 min), con tiempos de almacenamiento (0 y 7 días).....	30
6. Efecto del pH en los extractos de la coronta de maíz morado para los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5), tiempo de sonicado (0 y 30 min.) con tiempos de almacenamiento (0, 7, 14 y 30 días).....	32
7. Efecto del tiempo de sonicado en los extractos de la coronta de maíz morado para los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5), tiempo de sonicado (0 y 30 min.) con tiempos de almacenamiento (0, 7, 14 y 30 días).....	33

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Estructura general de la antocianina.....	8
2. Etapas para la obtención del extracto acuoso de la coronta de maíz morado.....	24
3. Diseño experimental para la evaluación microbiológica y cuantificación de antocianinas del extracto acuoso de la coronta de maíz morado sometido a diferentes valores de pH (3.5, 4.0 y 4.5), diferentes tiempos de tratamiento con ultrasonido (0, 10, 20 y 30min.) y almacenado hasta los 7 días.....	26
4. Diseño experimental para la evaluación microbiológica y cuantificación de antocianinas del extracto acuoso de la coronta de maíz morado sometido a diferentes valores de pH (3.5, 4.0 y 4.5), dos tiempos de tratamiento con ultrasonido (0 y 30 min) y almacenado hasta los 30 días.....	27
5. Efecto de los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0, 10, 20 y 30 min) con tiempos de almacenamiento (0 y 7 días), en el contenido de antocianinas.....	31
6. Efecto de los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0 y 30 min) con tiempos de almacenamiento (0, 7, 14 y 30 días), en el contenido de antocianinas.....	33

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo	Página
A – Ia. Análisis de varianza según el modelo estadístico elegido, para antocianinas de acuerdo a los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0,10, 20 y 30 min) con tiempo de almacenamiento (0 y 7 días).....	47
A – Ib. Análisis de varianza para antocianinas de acuerdo a los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0,10, 20 y 30 min) con tiempo de almacenamiento (0 y 7 días).....	47
A – Ic. Múltiple comparación para antocianinas de acuerdo a los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0,10, 20 y 30 min) con tiempo de almacenamiento (0 y 7 días).....	47
A – Ila Análisis de varianza según el modelo estadístico elegido, para el recuento de mohos y levaduras de acuerdo a los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0,10, 20 y 30 min) con tiempo de almacenamiento (0 y 7 días).....	48
A – I Ib. Análisis de varianza para el recuento de mohos y levaduras de acuerdo a los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0,10, 20 y 30 min) con tiempo de almacenamiento (0 y 7 días).....	48
A – I Ic. Múltiple comparación para el recuento de mohos y levaduras de acuerdo a los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado	

	(0,10, 20 y 30 min) con tiempo de almacenamiento (0 y 7 días).....	48
A – IIIa.	Análisis de varianza según el modelo estadístico elegido, para el recuento total de acuerdo a los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0,10, 20 y 30 min) con tiempo de almacenamiento (0 y 7 días).....	49
A – IIIb.	Análisis de varianza para el recuento total de acuerdo a los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0,10, 20 y 30 min) con tiempo de almacenamiento (0 y 7 días).....	49
A – IIIc.	Múltiple comparación para el recuento total de acuerdo a los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0,10, 20 y 30 min) con tiempo de almacenamiento (0 y 7 días).....	49
A – IVa.	Análisis de varianza según el modelo estadístico elegido, para antocianinas de acuerdo a los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0 y 30 min) con tiempo de almacenamiento (0, 7, 14 y 30 días).....	50
A – IVb.	Análisis de varianza para antocianinas de acuerdo a los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0 y 30 min) con tiempo de almacenamiento (0, 7, 14 y 30 días).....	50
A – IVc.	Múltiple comparación para antocianinas de acuerdo a los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0,10, 20 y 30 min) con tiempo de almacenamiento (0, 7, 14 y 30 días).....	50
A – Va.	Análisis de varianza según el modelo estadístico elegido, para el	

	recuento de mohos y levaduras de acuerdo a los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0 y 30 min) con tiempo de almacenamiento (0, 7, 14 y 30 días).....	51
A – Vb.	Análisis de varianza para el recuento de mohos y levaduras de acuerdo a los factores: tiempo de almacenamiento (0, 7, 14 y 30 días), pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0, y 30 min).....	51
A – Vc.	Múltiple comparación para el recuento de mohos y levaduras de acuerdo a los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0,10, 20 y 30 min) con tiempo de almacenamiento (0, 7, 14 y 30 días).....	51
A – VIa.	Análisis de varianza según el modelo estadístico elegido, para el recuento total de acuerdo a los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0 y 30 min) con tiempo de almacenamiento (0, 7, 14 y 30 días).....	52
A – VIb.	Análisis de varianza para el recuento total de acuerdo a los factores: tiempo de almacenamiento (0, 7, 14 y 30 días), pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0, y 30 min).....	52
A – VIc.	Múltiple comparación para el recuento total de acuerdo a los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0,10, 20 y 30 min) con tiempo de almacenamiento (0, 7, 14 y 30 días).....	52
A – VIIa.	Contenido de antocianinas en la coronta rallada del maíz morado.....	53

A –VIIb. Contenido de antocianinas en la coronta entera del maíz morado....	53
A – VIIIa. Efecto de la interacción pH (3.5, 4.0 y 4.5), tiempo de sonicado (0, 10, 20 y 30 min.) y tiempo de almacenamiento (0 y 7días) en extractos de la coronta de maíz morado.....	54
A – VIIIb. Efecto de la interacción pH (3.5, 4.0 y 4.5), tiempo de sonicado (0 y 30 min.) y tiempo de almacenamiento (0, 7, 14 y 30 días) en extractos de la coronta de maíz morado.....	55

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se desarrolló en el Centro de investigación de productos naturales de la Amazonía (CIPNA) y en el Centro de investigación y Desarrollo Biotecnológico de la Amazonía (CIDBAM) – UNAS. Los objetivos fueron: la evaluación microbiológica mediante los métodos de recuento total, y de mohos y levaduras, así como la cuantificación de antocianinas por el método de pH diferencial, en extracto acuoso (pH: 3.5, 4.0 y 4.5) a partir de la coronta de maíz morado tratado con ultrasonido (10, 20 y 30 min) y un testigo (0 min de sonicado, ebullición 5 min), durante el almacenamiento (0, 7, 14 y 30 días) a temperatura ambiente. Los resultados se expresaron como la media \pm SEM, para el análisis estadístico se empleó el diseño de bloques completo al azar con arreglo factorial (DBCA) y donde hubo diferencia estadística se aplicó la prueba de Duncan ($p < 0,05$). El mayor contenido de antocianinas se obtuvo a pH 4.0 (114.445 \pm 10.841 mg de antocianina/mL de extracto), así mismo durante el almacenamiento por 30 días, se conservó mejor el contenido de antocianinas en extractos acuosos de la coronta de maíz morado, a valores de pH 4.0, con tiempo de sonicado de 30 minutos, alcanzando un contenido final de 89.141 mg de antocianina/mL de extracto. Los extractos con sonicado de 0 y 30 min, presentaron las menores cargas microbianas, sin diferencia significativa en su conteo hasta los 14 días, además pudieron ser evaluados hasta los 30 días (Recuento total < 10 y Mohos y levaduras < 1 ; Recuento total < 10 y Mohos y levaduras < 10 ufc/mL de extracto, respectivamente).

I. INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) es uno de los principales cereales cultivados para la alimentación humana y animal en muchos países. Toda la planta puede ser aprovechada y las aplicaciones posibles de este cultivo incluyen alimento, forraje y materia prima para la industria. Como alimento se pueden producir almidón, aceite, proteínas, bebidas alcohólicas y edulcorantes alimenticios. Es la planta más domesticada y evolucionada del reino vegetal. Existen varias especies de maíz entre estos el morado; sus colores negros, morados y rojos se deben a las antocianinas las cuales tienen un efecto funcional.

En el consumo de alimentos, una de las características sensoriales utilizadas en la comercialización de productos, como es el caso de las bebidas, son los atributos de color, que de hecho en las últimas décadas, han sido utilizados los colorantes artificiales, se tiene conocimiento que éstos colorantes artificiales son responsables de diversos tipos de males, como el cáncer.

El interés por las antocianinas se debe a sus múltiples beneficios en la salud, ya que se consideran como antioxidantes naturales, que pueden neutralizar radicales libres que dañan las biomoléculas. Así mismo diferentes

investigaciones mencionan que el consumo de antocianinas reduce los riesgos de cáncer y enfermedades como el mal de Parkinson, arteroesclerosis; sin embargo, se tiene conocimiento que las antocianinas son degradadas por cambios de temperatura, pH, enzimas, azúcares, oxígeno.

Así mismo existen diferentes tratamientos para la conservación de los alimentos, tales como la pasteurización, refrigeración, congelación, altas presiones, entre otros. No obstante, el tratamiento con ultrasonido de baja frecuencia se considera una buena alternativa, el cual afecta la pared celular produciendo un efecto letal en los microorganismos. Además al ser un tratamiento no térmico, se espera que afecten en menor grado la calidad del producto, sobre todo en cuanto a pérdidas de sus componentes bioactivos, tales como el contenido de antocianinas.

Por todo lo anterior, se consideró de suma importancia plantear los siguientes objetivos:

- Evaluar microbiológicamente el extracto acuoso de la coronta de maíz morado tratado con ultrasonido, durante el almacenamiento a temperatura ambiente.
- Cuantificar el contenido de antocianinas en el extracto acuoso de la coronta de maíz morado tratado con ultrasonido, durante el almacenamiento a temperatura ambiente.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Generalidades del maíz morado (*Zea mays* L.)

2.1.1. Identificación taxonómica.

Según COLLAZOS (1993), el maíz morado presenta la siguiente clasificación taxonómica.

Familia : Gramíneas.

Tribu : Tripsaceae (Maydeae.)

Genero : *Zea*

Especie : *Zea mays* L.

2.1.2. Descripción morfológica.

SÁNCHEZ (1987), menciona que se conoce un gran número de variedades de maíz morado que se diferencian por la forma y tamaño de las mazorcas, por el número de hileras que varia de 8 a 12; por el tamaño, forma y color del pericarpio de los granos y por otras características morfológicas. La variación en la intensidad y matiz de la coloración del pericarpio, glumas y tusas en las raíces moradas es causada por genes cuantitativos con efectos menores.

2.1.3. Composición química.

En el cuadro 1, se muestra la composición química del maíz morado.

Cuadro 1. Composición química del Maíz Morado (g/100g.b.h)

Componentes mayores (g) menores (mg)	Maíz morado
Calorías	357,00
Agua	11,40
Proteína (Nx6,25)	6,70
Carbohidratos	76,90
Fibra	1,80
Ceniza	1,70
Calcio	12,00
Fósforo	328,00
Hierro	0,02
Cianidina	0,06
Tiamina	0,38
Riboflavina	0,22
Niacina	2,80
Acido ascórbico reducido	0,00

Fuente: SÁNCHEZ (1987).

2.1.4. Usos del maíz morado (*Zea Mays L.*)

El uso del extracto sufrió cambios en el tiempo, por influencia de la repostería e ingenio de las amas de casa, como es el caso de la mazamorra y la chicha morada de sabores exquisitos (INIA, 1997).

También se utiliza el grano en la industria alimentaria, por su alto contenido de almidón o en la obtención de levadura prensada (INIA, 1997).

En la industria con fines de obtener colorantes se utiliza únicamente la coronta por su significativo contenido de antocianinas; también se puede aprovechar el grano para la extracción de almidones o la elaboración de alimentos balanceados para animales (INIA, 1997).

2.1.5. Importancia del maíz morado (*Zea mays L.*)

El maíz (*Zea mays L.*) es la planta más domesticada y evolucionada del reino vegetal. Existen varias especies de maíz; de color blanco, amarillo, rojo, morado, café y azul. Estos maíces pigmentados están en las 41 razas de maíz, y sus colores negros, morados y rojos se deben a las antocianinas, compuestos presentes en el pericarpio y en la capa de aleurona o en ambas estructuras del grano (AGAMA *et al.*, 2005).

El interés por las antocianinas se debe a sus posibles beneficios en la salud, ya que se consideran como antioxidantes naturales, que pueden atrapar radicales libres que dañan las biomoléculas (AGAMA *et al.*, 2005).

2.2. Generalidades de los antioxidantes naturales

2.2.1. Definición

Son sustancias químicas que inactivan los radicales libres o inhiben su producción, impidiendo así deterioro en las células. Los antioxidantes ceden un electrón al radical libre, oxidándose y transformándose en un radical libre débil que es inofensivo (PINEDA, 2005).

Los antioxidantes son compuestos que prolongan la vida útil de alimentos, protegiendo contra el deterioro causado por la oxidación, inhiben la propagación de radicales libres por eso son utilizados para prevenir el deterioro de los alimentos, evitando la rancidez de las grasas y los cambios de color (SIES, 1997).

Un antioxidante es cualquier sustancia que, al estar presente en bajas concentraciones comparada a las de un sustrato oxidable, previene o retarda la oxidación de dicho sustrato y que protege a los sistemas biológicos frente a efectos potencialmente perjudiciales tanto de procesos como reacciones que causan excesivas oxidaciones (MUÑOZ, 2005). La importancia de un antioxidante depende de su concentración, del medio donde actúa y de su habilidad para interactuar con sistemas regeneradores (SERRANO *et al.*, 1991).

Los polifenoles constituyen una de las principales clases de metabolitos secundarios, son de difícil clasificación pero se pueden subdividir en cuatro grandes grupos, primero los ácidos fenólicos, segundo las ligninas, tercero los taninos y por último los flavonoides, que a su vez se dividen en varios subgrupos como flavonas, isoflavonas, antocianinas, entre otros (ROSALES, 2003).

Los flavonoides son polifenoles de bajo peso molecular formados por la combinación de derivados de fenilalanina y el ácido acético; comparten una estructura común caracterizada por tener un esqueleto difenilpropano ($C_6C_3C_6$) basado en el núcleo flavonoide formado por tres anillos conocidos como A, B y C. Son compuestos fenólicos que pertenecen a los populares

fitoquímicos, sustancias derivados de vegetales, con acción potencialmente beneficiosa para la salud y que constituyen el principio activo de muchas plantas medicinales (UGARTONDO, 2009).

Las diferencias entre los diversos grupos de flavonoides se establecen por el grado de aromaticidad (dobles enlaces conjugados), el patrón de hidroxilación (orden y número), el tipo de sustituciones (glicosilación, metilación, sulfatación, etc.) y el grado de polimerización de sus estructuras. Las variaciones estructurales en los anillos permiten subdividir a los flavonoides en seis subclases flavonoles, flavonas, flavanonas, isoflavonas, flavanoles (catequinas y proantocianidinas) y antocianidinas (UGARTONDO, 2009).

2.3. Antocianinas

Las antocianinas pertenecen al grupo de los compuestos fenólicos, particularmente de los flavonoides, que se caracterizan por su solubilidad en agua y por sus colores brillantes (SALINAS *et al.*, 2005). Son parte de los pigmentos de las flores y ocasionalmente de hojas, tallos y raíces; su gama abarca desde el color rojo hasta el azul (LÓPEZ *et al.*, 2007).

Las antocianinas tienen un carácter antioxidante, por lo que su consumo puede ser benéfico para la salud, ya que disminuyen los niveles de colesterol, proveen protección contra las enfermedades cardíacas y previenen ciertos tipos de cáncer (ROSALES, 2003).

El color de las antocianinas depende de varios factores intrínsecos, como son los sustituyentes químicos que contenga y la posición de los mismos en el grupo flavilio (POO, 2005).

El consumo de antocianinas en U.S, está estimado en el rango de 180 – 215 mg/día, debido a la amplia distribución y presencia en frutas y vegetales (EINBOND *et al.*, 2003)

2.3.1. Estructura química

Las antocianinas son glucósidos solubles en agua de antocianidinas y son parte de los compuestos fenólicos conocidos como flavonoides con un anillo A - benzoil y un anillo B- hidroxicinamoil. La estructura de la antocianina es el 2- fenilbenzopirilio de la sal de flavilio (QUINTERO, 2004).

La estructura química consiste en un grupo flavilo formado por un anillo de benzopirano unido a un anillo fenílico. En la figura 1 se muestra la estructura general de las antocianina (ACEVEDO, 2003).

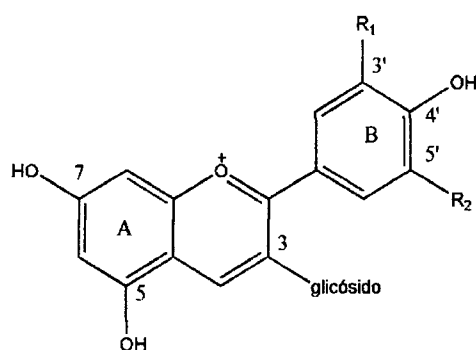


Figura 1. Estructura general de la antocianina

Las formas más comunes de antocianidinas son: pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, malvidina y petunidina. En el cuadro 2 se muestran los diferentes tipos de antocianinas (QUINTERO, 2004).

Cuadro 2. Partes sustituibles de las antocianinas

AGLICONA	SUSTITUCIÓN		λ max (nm) espectro visible
	R1	R2	
Pelargonidina	H	H	494 (naranja)
Cianidina	OH	H	506 (naranja-rojo)
Delfinidina	OH	OH	508 (azul-rojo)
Peonidina	OCH ₃	H	506 (naranja-rojo)
Petunidina	OCH ₃	OH	508 (azul-rojo)
Malvidina	OCH ₃	OCH ₃	510 (azul-rojo)

Fuente: QUINTERO (2004).

2.3.2. Factores que influyen en la estabilidad de las antocianinas

- pH

En soluciones muy ácidas (pH < 0.5) el catión flavilio rojo es la única estructura. Con incrementos de pH la concentración del catión decrece al mismo tiempo que la hidratación da lugar a la base incolora del carbinol incolora. Entre pH 4 y 5.5 habrá poco color, ya que las dos formas coloreadas estarán en bajas concentraciones y el equilibrio se desplazará a las formas incoloras. Por lo tanto, la forma chalcona es la más susceptible a la degradación, y la forma iónica flavilio es la más estable. Con esto se sabe que una de las desventajas de las antocianinas como colorantes de alimentos es la ausencia de color en soluciones ligeramente ácidas o neutras (HERNÁNDEZ, 2003).

A pH muy bajos se forma el catión flavilo (rojo), a medida que incrementa el pH se forma la base quinoidal (anhidra) del color azul, en un

medio alcalino, aparece el carbinol incoloro. En condiciones básicas fuertes (pH 7) se produce daño irreversible en el pigmento con la aparición de una chalcona de color amarillo pálido (ACEVEDO, 2003).

- **Azúcares**

Los azúcares a altas concentraciones estabilizan a las antocianinas, porque a elevadas concentraciones se tiene una baja actividad de agua, que es uno de los factores de degradación de las antocianinas, por el ataque nucleofílico al catión flavilio que ocurre en el C-2 formando la base carbinol incolora. Por otro lado, cuando los azúcares están en bajas concentraciones no tendrán efecto sobre la actividad del agua, provocando que sus productos de degradación (hidroximetilfurfural y furfural) aceleren la degradación de las antocianinas (HERNÁNDEZ, 2003).

- **Oxígeno**

El oxígeno molecular hace muy susceptible a la molécula insaturada de la antocianina. Las antocianinas son rápidamente oxidadas y degradadas cuando éstas se encuentran principalmente en su forma quinoidal. Por lo tanto la remoción de dicho oxígeno genera una prevalencia más amplia del color, por lo que el procesado de los alimentos con antocianinas se lleva a cabo bajo condiciones de vacío o nitrógeno (HERNÁNDEZ, 2003).

- **Ácido ascórbico**

Se ha observado que en presencia de oxígeno, el ácido ascórbico destruye a las antocianinas, ya que forma peróxido de hidrógeno durante la oxidación del mismo; esta reacción se acelera en presencia de cobre y es inhibida en presencia de flavonoles como la quercetina. El H_2O_2 actúa

rompiendo el anillo de pirilio de la antocianina por un ataque nucleofílico en C₂ produciendo ésteres incoloros y derivados de la cumarina. Estos productos de degradación son totalmente destruidos y polimerizados para formar precipitados cafés (HERNÁNDEZ, 2003).

- **Temperatura**

El efecto de la temperatura en la estabilidad de antocianinas en sistemas modelos y en productos alimenticios ha sido estudiado por muchos investigadores; el consenso general es que los pigmentos antocianínicos son notoriamente destruidos por el calor durante el procesamiento y almacenamiento de los alimentos, existe un incremento logarítmico con un incremento aritmético de la temperatura. Cuando las soluciones de antocianinas se secan por aspersion, a temperaturas mayores a 100°C, ocurre una degradación del color, mientras que a las temperaturas por debajo de los 90°C resulta en una degradación mínima (ACEVEDO, 2003).

La estabilidad de la antocianina está directamente relacionada con la temperatura. Las conversiones estructurales de las antocianinas son reacciones endotérmicas. Resisten bien los procesos térmicos alta temperatura-corto tiempo. Por efecto del calor (a temperaturas por encima de 60 °C) se degradan según una cinética de primer orden. En general, las características estructurales que conducen a una mayor estabilidad al pH son las mismas que conducen a una mayor estabilidad térmica. Por lo tanto, las antocianinas altamente hidroxiladas son menos estables térmicamente que las metiladas, glicosiladas o acetiladas (HERNANDEZ, 2003).

2.3.3. Espectro de absorción de las antocianinas

El espectro de absorción de los flavonoides se caracteriza por tener dos bandas separadas, una a longitudes de onda largas (Banda I) determinada por la conjugación del anillo B, y la segunda en la región ultravioleta (Banda II) determinada por la conjugación del anillo A. A mayor sustitución del anillo B, la absorbancia máxima de las antocianinas se desplaza hacia el extremo del rojo del espectro (ACEVEDO, 2003).

Las sales de antocianinas de alta coloración en una solución ácida poseen dos absorciones máximas, una en la región visible entre los 465 y 550 nm, y otra menos intensa en la región ultravioleta entre los 270 y 280 nm (ACEVEDO, 2003).

2.4. Ultrasonido

Ultrasonido está definido como ondas de sonido con frecuencias por encima de lo que un humano puede escuchar. El sonido se propaga a través de diferentes materiales en diferentes formas. El efecto que las ondas de ultrasonido de alto poder tienen en las propiedades físicas, biofísicas y microbiológicas de los alimentos ha atraído el interés de muchos en los últimos años. Esto es porque el ultrasonido puede producir varios efectos dependiendo de la combinación de las características de las ondas de ultrasonido y las características del producto utilizado para caracterizarlo sin ser destructivo o producir alguna transformación física (MARTÍNEZ, 2008).

La ultrasonicación opera a baja temperatura. Sin embargo, el tiempo de tratamiento es largo en realidad, durante la inactivación de enzimas y / o

microorganismos, lo que puede causar alto consumo de energía. Normalmente, este tratamiento deberá ser combinado con otras técnicas para optimizar el proceso (JARUPAN, 2002).

2.4.1. Ondas de sonido

Las ondas de ultrasonido tienen un comportamiento similar a las ondas de sonido, pero su frecuencia es mucho más alta para la percepción del oído humano. La transmisión de sonido ocurre a la par con movimientos periódicos y ordenados de las moléculas del medio, con el paso de energía de movimiento a las moléculas adyacentes sin que haya transferencia de materia. Típicamente, el rango de frecuencia percibida por lo humanos es de 20 Hz a 20 kHz, mientras que la frecuencia del ultrasonido abarca de los 20 a los 1.2×10^{10} kHz (la frecuencia más alta que puede ser transmitida por sólidos o líquidos). Las ondas de ultrasonido tienen las propiedades de una onda suave, como su reflexión, interferencia, absorción y dispersión, y pueden ser propagadas a través de sólidos, líquidos y gases (MARTÍNEZ, 2008).

Las ondas ultrasónicas son generadas por las vibraciones mecánicas de las frecuencias más altas que 18 kHz. Durante el ciclo de expansión y de ondas ultrasónicas de alta intensidad hacen que crezcan pequeñas burbujas en estado líquido. Cuando alcanzan un volumen en el que no puede absorber suficiente energía, se da una implosión violenta. Este fenómeno es conocido como cavitación (JARUPAN, 2002).

2.4.2. Mecanismos y efectos del ultrasonido

- **Cavitación:** es la formación, el crecimiento y la violenta desintegración de pequeñas burbujas en líquidos como resultado de presiones de fluctuación (JARUPAN, 2002).

Cuando una onda de sonido se propaga en un medio líquido como una onda longitudinal, crea una alternancia entre un ciclo de compresión y expansión. Cuando la presión negativa en el líquido, creada por el ciclo de expansión, es lo suficientemente baja para superar las fuerzas intermoleculares (esfuerzo extensible), se forman pequeñas burbujas. Durante el siguiente ciclo de expansión/compresión, las burbujas de gas se expanden y se contraen. La formación y evolución de estas burbujas es conocida como cavitación (MARTÍNEZ, 2008).

- **Efectos estructurales:** Cuando los líquidos son sometidos a la alta intensidad de sonido de campos, la dinámica de agitación y tensiones producidas afectan a sus propiedades estructurales, en particular su viscosidad. Por lo general, los fluidos newtonianos mantienen sus características, pero los fluidos dilatantes y los tixotrópicos tienden a fortalecer o bien ser menos viscoso, respectivamente (JARUPAN, 2002).

- **Turbulencia:** la alta intensidad del ultrasonido en los líquidos de baja viscosidad produce violenta agitación, que pueden utilizarse para dispersar las partículas. Esto reduce la capa límite de difusión, aumenta la convección de transferencia de masa, y acelera considerablemente difusión en los sistemas ordinarios de mezcla donde no es posible (JARUPAN, 2002).

2.4.3. Tipos de ultrasonido

Pueden dividirse en ultrasonido de señal y de potencia (AZUOLA y VARGAS, 2007).

•Ultrasonido de señal (100 kHz a 1 MHz)

En el ultrasonido de señal, el producto modifica la señal, y esta proporciona información sobre dicho producto. Son utilizadas para monitorear un proceso o producto; además son señales de ultrasonido de baja intensidad. Ejemplos de aplicaciones en la industria alimentaria incluyen: medida del grosor de la carcasa en animales vivos, medición del grosor de la cáscara de huevos, detección de agujeros en quesos y papas, medición de estado de maduración en melones y aguacates, determinación de propiedades reológicas en quesos, propiedades de textura en frutas como manzana, kiwi y melocotón y determinación de edad de huevos y papas (AZUOLA y VARGAS, 2007).

•Ultrasonido de potencia (18-100 kHz)

Hoy el ultrasonido de potencia se considera una prometedora tecnología para la industria de procesamiento de alimentos. Son señales de alta intensidad que se utilizan para modificar un proceso o un producto. Con una frecuencia más baja y mayor potencia producen cambios físicos y químicos en el medio a través de la generación y subsiguiente colapso de burbujas de cavitación, las cuales aparecen, crecen y colapsan dentro del líquido. Esto ocurre asimétricamente cerca de las interfases y golpes sobre la superficie sólida (AZUOLA y VARGAS, 2007).

2.4.4. Inactivación Microbiana por Ultrasonido

El efecto bactericida del ultrasonido es generalmente atribuido por la cavitación intracelular generada. En donde se dice que los choques micro-mecánicos son creados por la continua formación y ruptura de burbujas microscópicas inducidas por presiones que fluctúan bajo el proceso de ultrasonicación. Estos choques interrumpen componentes estructurales y funcionales celulares hasta el punto de lisis (muerte) de la célula (ACEVEDO, 2004).

En general es admitido que la mayoría de las células son más sensibles al ultrasonido, y que las bacterias en forma de barra alargada son más susceptibles que las que tienen forma redonda (MARTÍNEZ, 2008).

El estudio del mecanismo de acción de las ondas de ultrasonido es muy importante, ya que puede resultar en nuevos diseños para procesos de conservación de alimentos, especialmente con procesos combinados. El efecto letal de ultrasonido de bajo poder es pequeño y se conoce que la cavitación producida por el ultrasonido de alto poder es el responsable del efecto letal en los microorganismos. Cuando las burbujas se forman en un campo de ultrasonido, son generadas altas temperaturas y presiones en un punto de colisión. Por lo tanto, calor, ondas de shock de presión, o ambas, pueden ser las responsables del efecto letal del ultrasonido (MARTÍNEZ, 2008).

Diferentes tipos de microorganismos pueden ser más susceptibles al tratamiento con ultrasonido que otros. En general se ha visto que las células largas o más grandes son más sensibles al ultrasonido. Con el incremento en el área de superficie, las células de mayor tamaño son más bombardeadas por

la presión producida por la cavitación, haciéndolas más vulnerables al tratamiento (ACEVEDO, 2004).

Las células Gram-positivas son más resistentes al ultrasonido que las Gram-negativas porque la pared celular de las Gram-positivas es más gruesa y contiene una capa adherente cercana de peptidoglicanos. Sin embargo encontraron que el efecto del ultrasonido en los microorganismos no es por su morfología celular sino que se atribuye más por el efecto que se produce dentro de la membrana citoplasmática, donde las células con forma de cocos son más resistentes que las de forma de bacilos. En general, los microorganismos esporulados presentan mayor resistencia que los vegetativos. Las especies de microorganismos que producen esporas los hace más resistentes a tratamientos con calor y el mismo efecto se observa con el ultrasonido (ACEVEDO, 2004).

El daño microbiológico al aplicar diferentes amplitudes de onda de ultrasonido va a depender de factores críticos como el tiempo de contacto con el microorganismo, el tipo de microorganismo, la cantidad y composición de alimento, y la temperatura durante el tratamiento (ACEVEDO, 2004).

La resistencia de las bacterias a las ondas de ultrasonido cambia fuertemente todo el tiempo, a comparación de la resistencia que las bacterias tienen al tratamiento térmico. Sin embargo existen ventajas del ultrasonido sobre el tratamiento térmico como la pasterización, donde la seguridad microbiológica se logra por tratamientos térmicos que dependen en su mayoría de cada especie de microorganismos que contaminan el producto, en cambio en el caso del ultrasonido se obtiene un aseguramiento similar de la estabilidad

microbiológica sin que afecte la especie o comportamiento de cada microorganismo (MARTÍNEZ, 2008).

2.5. Requisitos Microbiológicos

Si bien no es obligatorio en los EE.UU., actualmente en el Perú DIGESA ha establecido criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad que deben cumplir los alimentos y bebidas en estado natural, elaborados o procesados, para ser considerados aptos para el consumo humano. La verificación de su cumplimiento está a cargo de los organismos competentes en vigilancia sanitaria de alimentos y bebidas a nivel nacional.

"m" (minúscula): Límite microbiológico que separa la calidad aceptable de la rechazable. En general, un valor igual o menor a "m", representa un producto aceptable.

"M" (mayúscula): Los valores de recuentos microbianos superiores a "M" son inaceptables, el alimento representa un riesgo para la salud.

Cuadro 3. Requisitos microbiológicos para bebidas no carbonatadas

Agente microbiano	Límite por g o mL	
	m	M
Aerobios mesófilos	10	10 ²
Mohos	1	10
Levaduras	1	10

Fuente: FICHA DE REQUISITOS TÉCNICOS DE ACCESO AL MERCADO DE E.UU (2009).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se ejecutó en los laboratorios del Centro de investigación de Productos Naturales de la Amazonía (CIPNA) y en el Centro de Investigación y Desarrollo Biotecnológico de la Amazonía (CIDBAM) de la Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS); ubicada en el distrito de Rupa - Rupa, provincia de Leoncio Prado, departamento de Huánuco; a una altitud de 660 m.s.n.m. a 09° 17' 08" de Latitud Sur, a 75° 59' 52" de Latitud Oeste ,con clima tropical húmedo y con una humedad relativa media de 84% y temperatura media anual de 24 °C.

3.2. Materia prima.

Se utilizó el maíz morado (*Zea mays L.*). La materia empleada fue procedente del mercado de abastos de la ciudad de Tingo María.

3.3. Equipos, materiales y reactivos

3.3.1. Equipos de laboratorio

- Espectrofotómetro modelo Genesys 6 (Thermo Electrón Corporation).

- Balanza analítica modelo AE 163 (METLER TOLEDO, Switzerland).
- Estufa modelo ODH6- 9240A (TOMOS Heating Drying Oven).
- Refrigeradora Icebeam Door Cooling LG GR-5392QLC.
- Ultrasonido (JAC Ultrasonic 1002 serie KD – 05AB – 023 – W, 40 kHz, 220 voltios).
- Calentador (Type 1000 stir plate, thermolyne, Sybron)
- pH – metro (Jenway 3510 pHmeter)
- Autoclave (All American, Electric pressure stean sterilizer model N°25x)

3.3.2. Materiales

3.3.2.1. Materiales de vidrio

- Vasos de precipitación de 50, 100, 250 y 1000 mL.
- Pipetas graduadas de 5 y 10 mL.
- Tubos de ensayo Gene Mate[®] de 10 mL.
- Fiolas de 25, 50, 100, y 500 mL.
- Probetas graduadas de 10, 100, 250 y 500 mL.
- Tubos de vidrio con tapa 15 mL.
- Embudo
- Varilla
- Placas petri
- Frascos con tapa

3.3.2.2. Otros materiales

- Micropipetas 10 – 50 μ l, 20-200 μ l y 100-1 000 μ l.
- Cubetas de poliestireno, Gene Mate[®] (1cmx 1cmx4.5cm).
- Tips, FISHERBRAND[®] (1 000ul, 200ul).
- Espátulas.
- Gradillas.
- Papel de filtro rápido
- Mechero

3.3.3. Reactivos y solventes

- Ácido clorhídrico (Merck)
- Cloruro de potasio (Sigma)
- Acetato de sodio (Merck)
- Hidróxido de sodio (Scharlau)
- Ácido cítrico
- Peptona bacteriológica (Merck)
- Agar Plate count (Merck)
- Agar OGYE (Merck)
- Etanol absoluto al 96%
- Hidróxido de Sodio (NaOH) en lentejas. ISO. Merck. Germany.
- Agua destilada.

3.4. Métodos de análisis

3.4.1. Cuantificación de antocianinas del extracto acuoso

Se realizó por el método del pH Diferencial reportado por POO (2005).

Para la cuantificación de antocianinas primero se procedió a la preparación de las soluciones buffer:

- **Buffer pH = 1:** 250 mL de 0,2 M KCl y 750 mL de 0,2 M HCl.
- **Buffer pH = 4,5:** 400 mL de 1 M CH₃COONa, 240 mL de 1 M HCl y 360 mL de H₂O.

Luego se tomó dos volúmenes de muestra (cada uno de 1 mL). Un volumen se diluyó con el buffer de pH 1,0 y el otro con buffer de pH 4,5, la absorbancia se registró a 510 nm, la concentración de antocianinas se calculó mediante la ecuación:

$$C(\text{mg/mL}) = (A_{\text{pH}=1,0} - A_{\text{pH}=4,5}) * 482,82(1000/24825) * \text{DF} \dots\dots\dots(1)$$

Donde:

484,82: es la masa molecular de la cianidina-3-glucósido.

24825: es la absortividad molar a 510 nm, a pH = 1,0 y pH = 4,5 (es la corrección de la formación de productos de degradación).

DF: es el factor de dilución.

3.4.2. Evaluación microbiológica del extracto acuoso

Se realizó por el método recomendado por la FAO, 1981.

- Enumeración de las bacterias aerobias mesófilas (Recuento aeróbico en placa).
- Enumeración de mohos y levaduras.

3.5. Metodología experimental

3.5.1. Preparación y obtención del extracto.

Para la obtención del extracto acuoso se procedió de la siguiente manera (figura 2):

- **Maíz morado**

El maíz morado se obtuvo del mercado de abastos de la ciudad de Tingo María.

- **Secado del maíz morado**

El maíz morado se secó en estufa (65 °C/24 h).

- **Desgranado y molido de la coronta**

Luego de secado el maíz morado se desgranó y mediante un molido de la coronta se obtuvo la muestra. La humedad de la coronta es de 10 – 12%.

- **Pesado de la muestra**

Una vez molida la coronta del maíz morado se pesó 10g. de muestra.

- **Extracción del extracto acuoso**

Se calentó 500 mL de agua destilada a 98,6 °C (ebullición), se colocó los 10g. de muestra por 25 minutos (a los 25 min se obtiene la mayor concentración de antocianinas en la coronta rallada A – IXa), con agitación constante.

- **Enfriado y filtrado**

El extracto se enfrió a temperatura ambiente y luego se filtró con papel Whatman (pasada rápida).

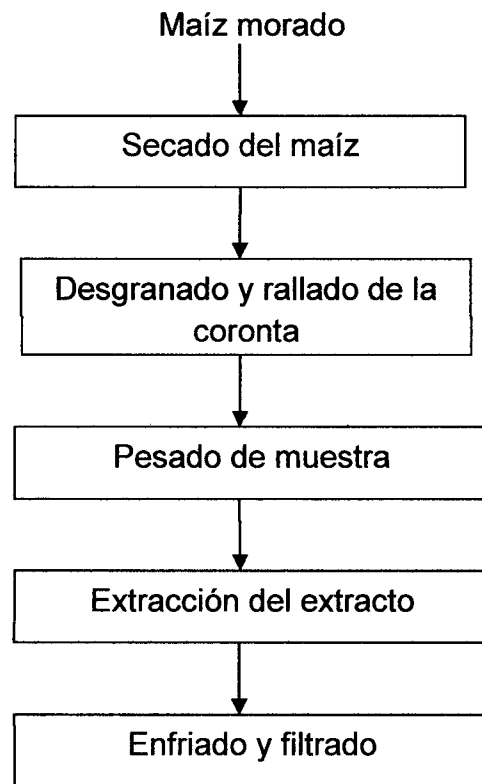


Figura 2. Etapas para la obtención del extracto acuoso de la coronta de maíz morado.

3.5.2. Regulación del pH y tratamiento ultrasónico del extracto acuoso

• Regulación del pH

El extracto obtenido se reguló a diferentes valores de pH: 3,5; 4,0 y 4,5; se colocó en tubos de vidrio con tapa rosca para ser sometidos al tratamiento con ultrasonido.

• Tratamiento ultrasónico (40 kHz)

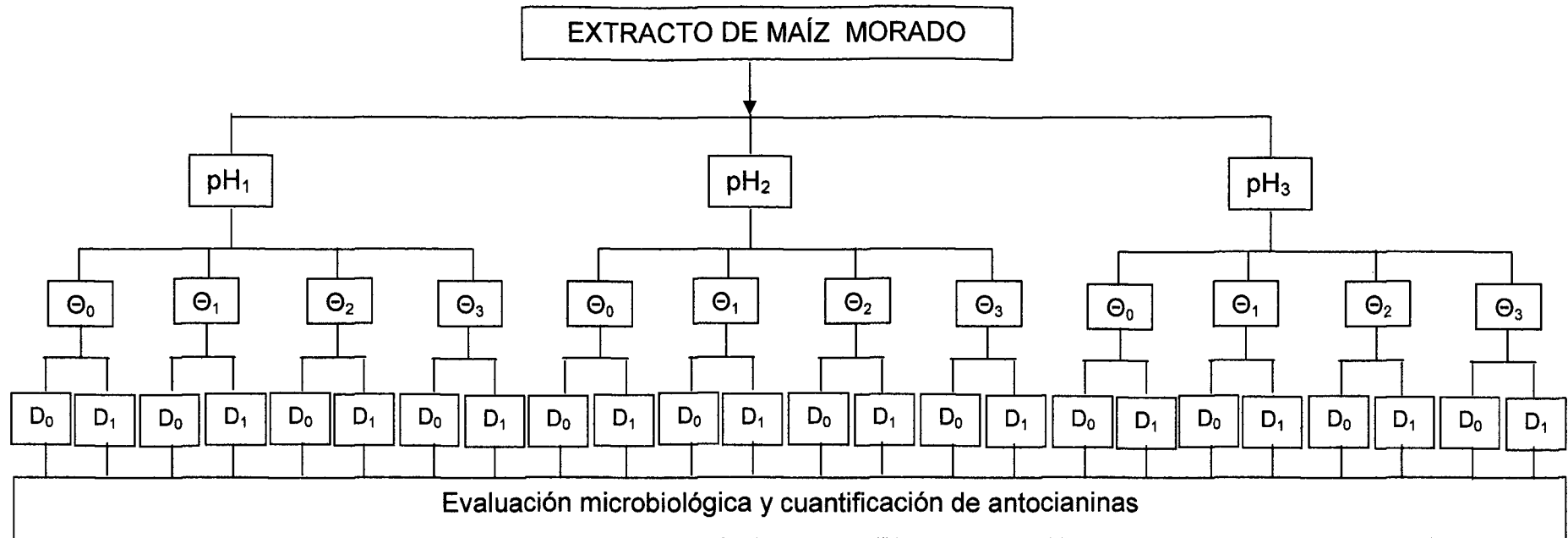
El extracto cuyo pH ha sido regulado se sometió a tratamiento ultrasónico (40kHz.) a diferentes tiempos: 0, 10, 20 y 30 minutos.

Dicho tratamiento ultrasónico se utilizó para la conservación del

extracto. El tiempo 0 min fue el tratamiento testigo el cual se sometió a ebullición durante 5 minutos.

3.5.3. Evaluación microbiológica y cuantificación de antocianinas del extracto acuoso

El extracto acuoso se almacenó a temperatura ambiente y en tubos de vidrio de 15 mL. con tapa rosca. La cuantificación de antocianinas y la evaluación microbiológica del extracto acuoso se realizó según lo descrito en métodos de análisis.

**DONDE:**

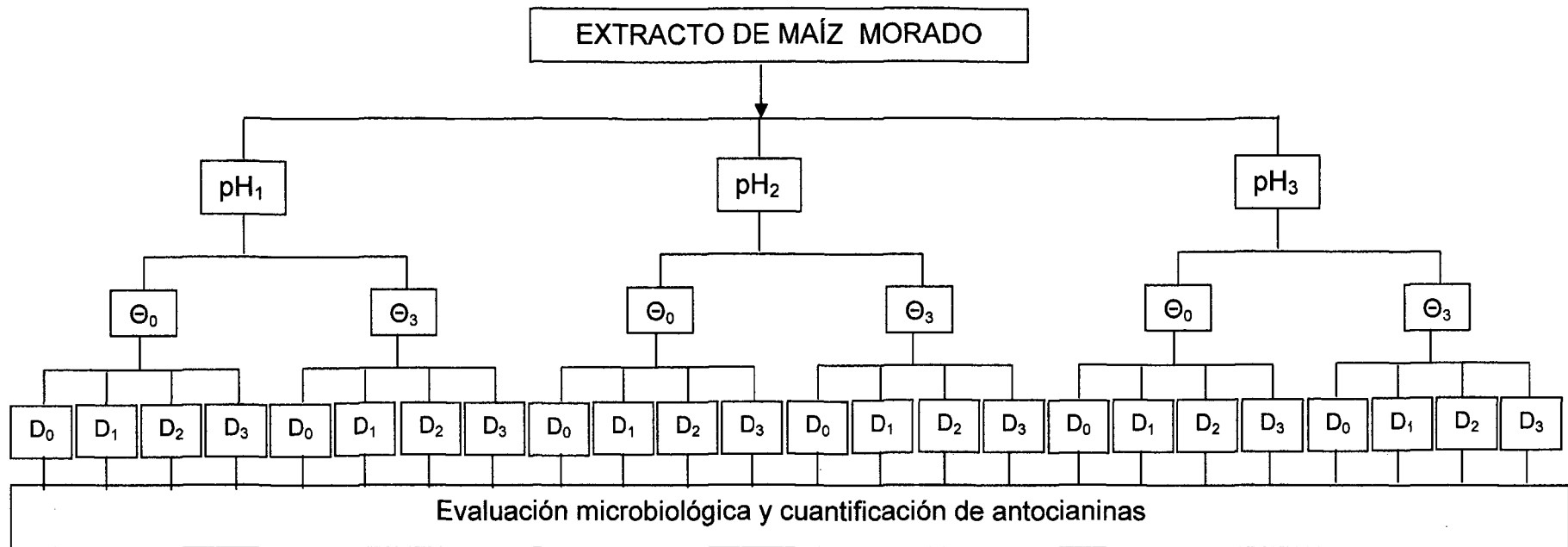
pH_1 , pH_2 , pH_3 : 3.5; 4.0; 4.5

Θ_0 : 0 min. es el testigo sin tratamiento ultrasónico el cual será sometido a ebullición durante 5 min.

Θ_1 , Θ_2 , Θ_3 : 10, 20 y 30 min tratamiento ultrasónico a 40kHz.

D_0 , D_1 : 0 y 7 días de almacenamiento (T° amb)

Figura 3. Diseño experimental para la evaluación microbiológica y cuantificación de antocianinas del extracto acuoso de la corona de maíz morado sometido a diferentes valores de pH (3.5, 4.0 y 4.5), diferentes tiempos de tratamiento con ultrasonido (0, 10, 20 y 30min.) y almacenado hasta los 7 días.

**DONDE:**

pH₁, pH₂, pH₃: 3.5; 4.0; 4.5

Θ₀: 0 min. es el testigo sin tratamiento ultrasónico el cual será sometido a ebullición durante 5 min.

Θ₃: 30 min tratamiento ultrasónico a 40kHz.

D₀, D₁, D₂, D₃: 0, 7, 14 y 30 días de almacenamiento (T° amb)

Figura 4. Diseño experimental para la evaluación microbiológica y cuantificación de antocianinas del extracto acuoso de la coronta de maíz morado sometido a diferentes valores de pH (3.5, 4.0 y 4.5), dos tiempos de tratamiento con ultrasonido (0 y 30 min) y almacenado hasta los 30 días.

Para evaluar los resultados de acuerdo al diseño experimental se utilizó el modelo estadístico diseño en bloques completo al azar con arreglo factorial, para lo cual se empleó el siguiente modelo matemático (CALZADA, 1976):

$$Y_{ijk} = \mu + a_i + b_j + c_k + (ab)_{ij} + e_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} : Concentración de antocianinas / Recuento total y recuento de mohos y levaduras.

μ : Efecto de la media general de las evaluaciones.

a_i : Efecto del pH

b_j : Efecto del tiempo de tratamiento con ultrasonido.

c_k : Efecto de los bloques (tiempo de almacenamiento)

$(ab)_{ij}$: Efecto de la interacción del pH y el tiempo de tratamiento ultrasónico.

e_{ij} : Efecto del error experimental.

Donde debe existir significancia entre los tratamientos, se evaluó con la prueba de Duncan, con un nivel de significación del 5%. El análisis estadístico se realizó mediante el software STATGRAPHICS PLUS 5.1.

IV. RESULTADOS

Condiciones iniciales del extracto acuoso: contenido de antocianinas de 102.562 mg/mL. y carga microbiana de $10^3 - 10^4$ ufc/mL.

En los cuadros 4 y 5, se muestran los resultados para el modelo estadístico planteado. Se consideró un DBCA con arreglo factorial 3x4 donde los días de almacenamiento son los bloques.

Cuadro 4. Efecto del pH en los extractos de la coronta de maíz morado para los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0,10, 20 y 30 min), con tiempos de almacenamiento (0 y 7 días).

pH	Antocianinas (mg/mL)	Recuento total (ufc/mL)	Mohos y levaduras (ufc/mL)
3.5	109.198 ± 9.226 ^a	67 ^a	40 ^a
4.0	114.445 ± 10.841 ^b	74 ^a	51 ^a
4.5	108.154 ± 3.897 ^a	77 ^a	50 ^a

Estos datos reportan la media ± la desviación estándar para n = 24. Valores de una misma columna con superíndices diferentes son significativos ($p < 0,05$) según la prueba de comparación múltiple de Duncan.

En el cuadro 4, con respecto al contenido de antocianinas se observa que no se ha encontrado diferencia estadística entre los extractos de pH 3.5 y 4.5, y que el extracto de pH 4.0 es estadísticamente superior a los extractos de pH 3.5 y

4.5. Con respecto a la carga microbiana tanto para el recuento total como para el recuento de mohos y levaduras, se observa que el pH no influye (no existe diferencia estadística, $p < 0.05$).

Cuadro 5. Efecto del tiempo de sonicado en los extractos de la coronta de maíz morado para los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0, 10, 20 y 30 min), con tiempos de almacenamiento (0 y 7 días).

Tiempo (min)	Antocianinas (mg/mL)	Recuento total (ufc/mL)	Mohos y levaduras (ufc/mL)
0	109.279 ± 20.456 ^{ab}	<1 ^a	<1 ^a
10	113.695 ± 16.312 ^b	150 ^b	101 ^b
20	106.199 ± 5.711 ^a	139 ^b	84 ^b
30	113.223 ± 5.940 ^b	<1 ^a	<1 ^a

Estos datos reportan la media ± la desviación estándar para $n = 18$. Valores de una misma columna con superíndices diferentes son significativos ($p < 0,05$) según la prueba de comparación múltiple de Duncan.

Según los resultados del cuadro N°5 en cuanto al contenido de antocianinas, se observa que no existe significancia estadística entre los extractos de maíz morado sometidos a tratamiento ultrasónico por 10, 30 y 0 min y, son estadísticamente superiores a los tratamientos ultrasónicos de 20 min y 0 min, siendo estos últimos estadísticamente iguales. Por lo tanto desde el punto de vista del tratamiento ultrasónico, el que mejor preserva el contenido de antocianinas al cabo de siete días de almacenamiento, es el extracto sometido a los 10 min de sonicado.

Para el recuento total y el recuento de mohos y levaduras, se observa que no existe significancia estadística entre los extractos de maíz morado sometidos a tratamiento ultrasónico por 0 y 30 min y, son estadísticamente superiores al tratamiento ultrasónico de 20 y 10 min. Por lo tanto desde el punto de vista del tratamiento ultrasónico, el que mejor conserva el extracto de maíz morado con respecto a la carga microbiana y tomando en consideración la no degradación de antocianinas al cabo de siete días de almacenamiento, es el extracto sometido a 30 min de sonocado.

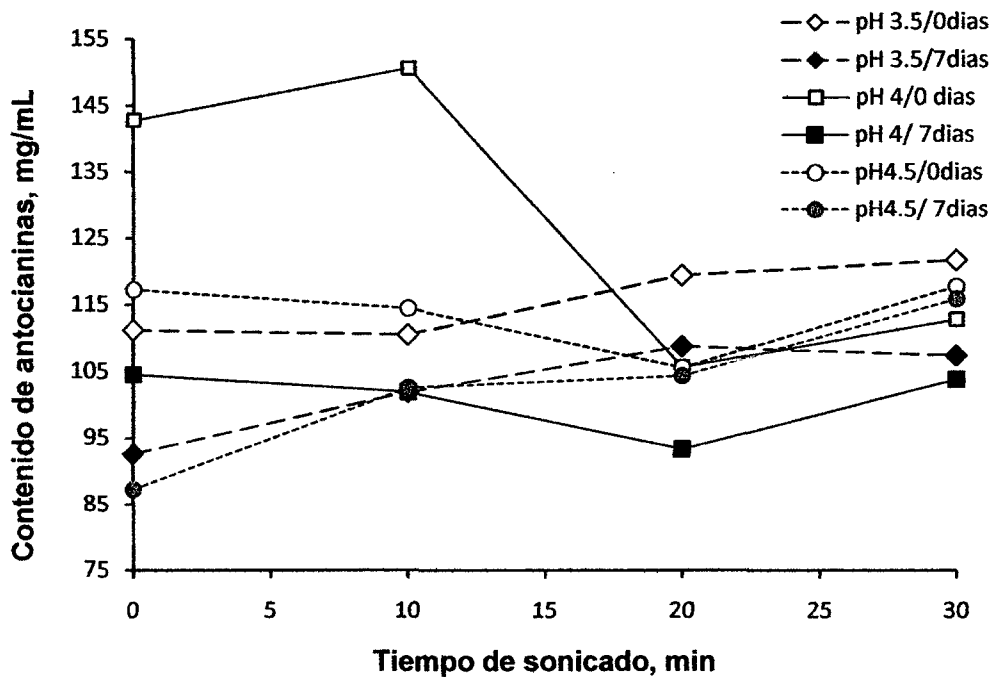


Figura 5. Efecto de los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonocado (0, 10, 20 y 30 min) con tiempos de almacenamiento (0 y 7 días), en el contenido de antocianinas.

En los cuadros 6 y 7, se muestran los resultados para el modelo estadístico planteado. Se consideró un DBCA con arreglo factorial 3x2 donde los días de almacenamiento son los bloques.

Cuadro 6. Efecto del pH en los extractos de la coronta de maíz morado para los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0 y 30 min) con tiempos de almacenamiento (0, 7, 14 y 30 días).

pH	Antocianinas (mg/mL)	Recuento total (ufc/mL)	Mohos y levaduras (ufc/mL)
3.5	95.9785 ± 16.388 ^b	<10 ^{ab}	<10 ^b
4.0	101.398 ± 19.769 ^c	<10 ^b	<10 ^{ab}
4.5	91.248 ± 22.819 ^a	<10 ^a	<1 ^a

Estos datos reportan la media ± la desviación estándar para n = 24. Valores de una misma columna con superíndices diferentes son significativos ($p < 0,05$) según la prueba de comparación múltiple de Duncan.

En el cuadro 6, con respecto al contenido de antocianinas se observa que hay diferencia estadística entre los extractos 3 extractos, el extracto de pH 4.0 es estadísticamente superior a los extractos de pH 3.5 y pH 4.5. Con respecto al recuento total de microorganismos los extractos a pH 3.5 y 4.5 poseen menor carga microbiana y son estadísticamente iguales, el extracto de pH 4.5 posee menor carga microbiana que el extracto de pH 4.0 y los extractos de pH 3.5 y 4.0 tienen la mayor carga microbiana y son estadísticamente iguales.

Analizando el recuento de mohos y levaduras los extractos de pH 4.0 y 4.5 poseen un bajo recuento, el extracto de pH 4.5 se encontró menos contaminado que el extracto de pH 3.5. Los extractos de pH 3.5 y 4.0 son los que poseen el mayor recuento de mohos y levaduras.

Cuadro 7. Efecto del tiempo de sonicado en los extractos de la coronta de maíz morado para los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0 y 30 min) con tiempos de almacenamiento (0, 7, 14 y 30 días).

Tiempo (min)	Antocianinas (mg/mL)	Recuento total (ufc/mL)	Mohos y levaduras (ufc/mL)
0	89.6002 ± 26.275 ^a	<10 ^a	<1 ^a
30	102.816 ± 13.015 ^b	<10 ^b	<10 ^b

Estos datos reportan la media ± la desviación estándar para n = 36. Valores de una misma columna con superíndices diferentes son significativos ($p < 0,05$) según la prueba de comparación múltiple de Duncan.

Según los resultados del cuadro N°7 se observa que los extractos con 30 min de sonicado poseen el mayor contenido de antocianinas ($p < 0,05$). Así mismo con respecto a la carga microbiana, el extracto no sonicado es estadísticamente superior, pues posee menor carga microbiana con respecto al extracto sonicado por 30 min.

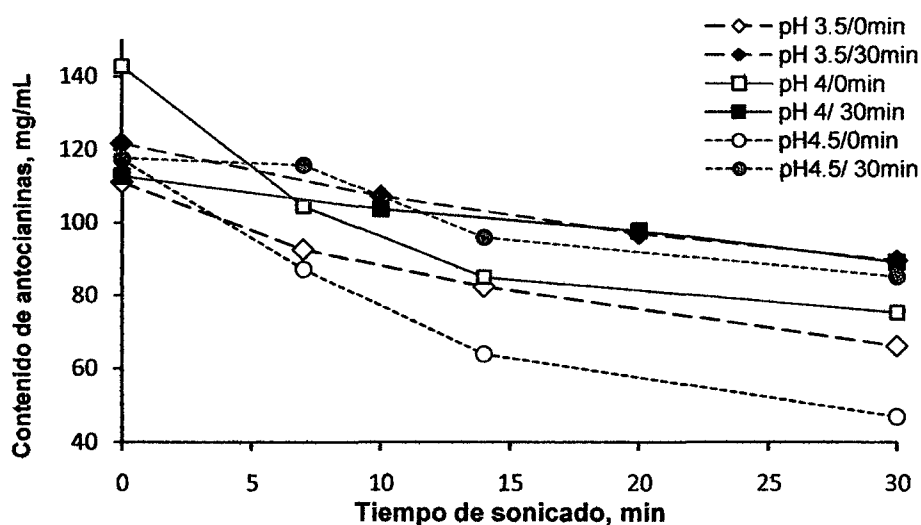


Figura 6. Efecto de los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0 y 30 min) con tiempos de almacenamiento (0, 7, 14 y 30 días), en el contenido de antocianinas.

V. DISCUSION

En el cuadro 4 se observa mayor contenido de antocianinas a pH 4.0 ya que a valores superiores e inferiores a éste se observa menor contenido de antocianinas. HERNÁNDEZ (2003), nos menciona que entre pH 4 y 5.5 habrá poco color, ya que las dos formas coloreadas estarán en bajas concentraciones y el equilibrio se desplazará a las formas incoloras. Con esto se sabe que una de las desventajas de las antocianinas como colorantes de alimentos es la ausencia de color en soluciones ligeramente ácidas o neutras.

Según el cuadro 4 observamos en forma global que los valores de pH en estudio no impiden el crecimiento microbiano en los extractos al cabo de 7 días de almacenamiento. PASCUAL y CALDERÓN (2000), menciona que los productos naturales elaborados con extractos naturales debido a su bajo pH, alta tasa de CO₂, su débil cantidad de sustancias nitrogenadas y vitaminas, su falta de oxígeno y su concentración de azúcar; constituyen medios favorables para el desarrollo de los microorganismos.

En el cuadro 5 se aprecia que los tratamientos ultrasónicos no afecta el contenido de antocianinas y son ligeramente superiores a los extractos no sonicados (0 min) que fueron sometidos a ebullición por 5 min como un método de

preservación con calor. Según ACEVEDO (2003) y HERNANDEZ (2003), uno de los factores que degradan a las antocianinas es la temperatura. JARUPAN (2002) menciona que durante el tratamiento ultrasónico se opera a baja temperatura y para tiempos de exposición prolongados, se inactivan enzimas y/o microorganismos, y la temperatura aumenta levemente.

Según el cuadro N°5 podemos ver respecto a la carga microbiana que se obtuvo la menor carga a los 0 min. Como ya se mencionó, dichos extractos fueron sometidos a ebullición por 5 min. GOMEZ (2004), nos menciona que la temperatura de ebullición destruye a los microorganismos. También, los extractos expuestos a tratamiento ultrasónico por 30 min poseen baja carga microbiana, llegando a calentarse hasta 53°C. Así mismo PASCUAL y CALDERÓN (2000), dicen que por malas manipulaciones se pueden incorporar germen. La flora presente es predominado por las levaduras que son las que, en el 90% de los casos las que alteran algunos productos ácidos, debido a que: son capaces de soportar un pH bajo, no tienen necesidad de vitamina B para su desarrollo y toleran tasas muy elevadas de CO₂.

En el cuadro 6 se observa mayor contenido de antocianinas a pH 4.0 ya que a valores superiores e inferiores a éste se observa menor contenido de antocianinas. En lo demostrado, por DAO *et al.* (1998), quien menciona que se da transformaciones estructurales de las antocianinas en solución acuosa a diferentes valores de pH; causando variaciones en el color lo cual implica que las antocianinas se van degradando.

Con respecto al cuadro 6 se observa ligera proliferación de microorganismos a pH 3.5. El pH es el factor más importante que determina el tipo de microorganismos que pueden deteriorar los productos. La mayoría de las bacterias son inhibidas por los bajos valores de pH encontrados en algunos productos, pero los mohos, las levaduras y algunas bacterias como las ácido lácticas y ácido acéticas son organismos acidúricos y son capaces de desarrollarse y deteriorar los alimentos de alta acidez, debido a que toleran y encuentran su sustrato en ambientes ácidos (GÓMEZ, 2004). Así mismo ADAMS y MOSS (1995), mencionan que la acidez de un producto puede tener importantes implicaciones tanto en su ecología microbiana como en la rapidez y naturaleza de su alteración.

En el cuadro 7 se aprecia que el tratamiento ultrasónico no afecta el contenido de antocianinas y son ligeramente superiores a los extractos no sonicados. Los cambios observados en el contenido de antocianinas están influenciados por la energía cinética que adquieren las moléculas, a consecuencia del tratamiento con ultrasonido, ya que en investigaciones realizadas por JARUPAN (2002), donde la alta intensidad del ultrasonido en los líquidos de baja viscosidad produce violenta agitación, que pueden utilizarse para dispersar las partículas. ACEVEDO (2003), también menciona que los pigmentos antociánicos son notoriamente destruidos por el calor durante el procesamiento y almacenamiento de los alimentos.

Según el cuadros 7 podemos ver respecto a la carga microbiana que se obtuvo la menor carga a los 0 min. KULDILOKE (2002), dice que el tratamiento

ultrasónico es una de las tecnologías emergentes que puede usarse como alternativa al procesamiento térmico. Este tratamiento puede mejorar la transferencia de calor por convección y generar la explosión de burbujas, produciéndose una nube caliente espacial (fenómeno de cavitación) capaz de causar la inactivación de microorganismos y enzimas. Así mismo PASCUAL y CALDERÓN (2000), mencionan que la flora microbiana puede ser causa de cierto número de alteraciones, a pesar de los tratamientos de estabilización que se dan las bebidas refrescantes.

VI. CONCLUSIONES

- El tratamiento con ultrasonido permitió conservar los extractos acuosos de la coronta de maíz morado durante 14 días de almacenamiento, además de preservar el contenido de antocianinas.
- Durante el almacenamiento por 30 días, se conservó mejor el contenido de antocianinas en extractos acuosos de la coronta de maíz morado, a valores de pH 4.0, con tiempo de sonicado de 30 minutos, alcanzando un contenido final de 89.141 mg/mL.

VII. RECOMENDACIONES

- **Cuantificar el contenido de polifenoles totales y Actividad Antioxidante in Vitro en el extracto acuoso de maíz morado, debido a sus efectos funcionales reportados en diferentes investigaciones.**
- **Realizar estudios de conservación del extracto acuoso de maíz morado empleando otras frecuencias de ultrasonido distintas a 40 kHz.**
- **Diseñar un extractor continuo de antocianinas de maíz morado y evaluar el rendimiento de extracción.**
- **Desarrollar nuevos productos derivados del maíz morado, tales como: saborizantes naturales obtenidos por atomizado.**

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- ACEVEDO, C. A. R. 2003.** Efecto de la temperatura y un copigmento en la estabilidad de antocianinas de la col morada en una bebida. Universidad de las Américas Puebla. Escuela de Ingeniería. Departamento de Ingeniería Química y Alimentos. Cholula, Puebla, México. Consultado: enero del 2009 [http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/ia/acevedo_c_ar/]
- ACEVEDO, L. A. P. 2004.** Inactivación Microbiana Combinando Ultrasonido de Baja Frecuencia con Ultravioleta de Onda Corta. Universidad de las Américas Puebla. Escuela de Ingeniería. Departamento de Ingeniería Química y Alimentos. Cholula, Puebla, México. Consultado: marzo del 2009 [http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/ia/martinez_r_mj/]
- ADAMS, M.R. y MOSS M. O. 1995.** Microbiología de los alimentos. Editorial Acribia S.A. Zaragoza – España. 28 – 30 pag.
- AGAMA, A. E.; OTTENHOF M.; FARHAT I. A.; PAREDES L. O.; ORTÍZ C. J. y. BELLO P. L. A. 2005.** Aislamiento y caracterización del almidón de maíces pigmentados México. Consultado enero del 2009: [http://www.colpos.mx/agrocien/Bimestral/2005/jul-ago/art-6.pdf]

- AZUOLA R y VARGAS P. 2007.** Extracción de sustancias asistida por ultrasonido (eua). Tecnología en Marcha. Vol. 20-4 - Octubre – Diciembre P. 30-40. Consultado julio del 2008:
[http://www.tec.cr/sitios/Vicerrectoria/vie/editorial_tecnologica/Revista_Tecnologia_Marcha/pdf/tecnologia_marcha_24-4/20-4%2030-40.pdf]
- COLLAZOS, C. 1993.** Composición de los alimentos de mayor consumo en el Perú. 6ta Edición. Instituto Nacional de Nutrición. Lima – Perú. 193.
- DAO, L.; TAKEOKA, G.; EDWARDS, R.; BERRIOS, J. 1998.** Improved Method for the Stabilization of Anthocyanidins. J. Agric. Food Chem. 46: 3564 - 3569.
- EINBOND, L. S.; REYNERTSONA, K. A.; DONG LUO, X.; BASILE, M. J. Y KENNELVA, E. J. 2003.** Anthocyanin antioxidants from edible fruits Food Chemistry 84: 23–28
- FAO. 1981.** Alimentación y nutrición. Manual para el control de calidad de los alimentos. Análisis microbiológico. Roma.
- FICHA DE REQUISITOS TÉCNICOS DE ACCESO AL MERCADO DE E.UU (2009).** Proyecto BID-ADEX – RTA / Chicha morada. Demás bebidas no alcohólicas, excepto los jugos de frutas u otros frutos o de hortalizas de la partida 2009.
- GOMEZ, P. O. 2004.** Dependencia en la temperatura de los cambios en atributos sensoriales, degradación de ácido ascórbico e inactivación enzimática durante el tratamiento de pasteurización en puré y néctar de tamarindo. Universidad de las Américas Puebla. Escuela de Ingeniería. Departamento

de Ingeniería Química y Alimentos. Cholula, Puebla, México. Consultado julio del 2010:

[http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lia/gomez_p_o/]

HERNÁNDEZ, M. A. 2003. Estabilización de antocianinas extraídas de rosas rojas por medio de la copigmentación para su uso como colorantes naturales en la industria alimenticia y farmacéutica. Universidad de las Américas Puebla. Escuela de Ciencias. Departamento de Química y Biología. Cholula, Puebla, México. Consultado diciembre del 2008:

[http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lqf/hernandez_m_a/]

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN AGRARIA (INIA). 1997. Maíz morado peruano. UNALM. Lima – Perú. 5 – 10.

JARUPAN, K. 2002. Effect of Ultrasound, Temperature and Pressure Treatments on Enzyme Activity and Quality Indicators of Fruit and Vegetable Juices. J. Jpn. Soc. Food Sci. Technol. Consultado diciembre del 2008:

[http://edocs.tu-berlin.de/diss/2002/kuldiloke_jarupan.pdf]

KULDILOKE, J. 2002. Effect of Ultrasound, Temperature and Pressure Treatments on Enzyme Activity and Quality Indicators of Fruit and Vegetable Juices. Berlin. Germany. 119 p.

LÓPEZ, R. R.; QUIÑONES, W. y ECHEVERRI F. 2007. Perfil cromatográfico de las antocianinas presentes en algunos frutos colombianos Scientia et Technica Año XIII, UTP. ISSN 0122-1701. Consultado en agosto del 2008:

[<http://www.utp.edu.co/php/revistas/ScientiaEtTechnica/docsFTP/225442275-276.pdf>]

MARTÍNEZ, R. M. J. 2008. Estabilidad de néctar de mango tratado con ultrasonido de baja frecuencia y/o radiación ultravioleta de onda corta. Universidad de las Américas Puebla. Escuela de Ingeniería. Departamento de Ingeniería Química y Alimentos. Cholula, Puebla, México. Consultado agosto del 2010: [http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lia/martinez_r_mj/]

MUÑOZ, M. I. M. y SOTO, R. V. E. 2005. Determinación de la capacidad protectora de antocianinas de un extracto de *vitis vinifera* en aortas de rata sometidas a estrés oxidativo. Universidad de Chile. Facultad de Medicina. Escuela de Kinesiología. Consultado enero del 2009: [http://www.cybertesis.cl/tesis/uchile/2005/munoz_i/sources/munoz_i.pdf]

PASCUAL, A. M. y CALDERÓN, P. V. (2000). Microbiología alimentaria. Metodología analítica para alimentos y bebidas. 2º edición. Madrid - España. Editorial Diaz de Santos S.A. 421 – 424. pag.

PINEDA, A. 2 005. Determinación de las propiedades antioxidantes de variedades de injerto (*Pouteria viridis*) que se cultivan en tres regiones de Guatemala. Tesis, Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. Pág. 79.

POO, B. S. M. 2005. Concentración de Antocianinas en Jugo de Cranberries (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) mediante Nanofiltración Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Escuela de Ingeniería en alimentos. Valdivia – Chile. Consultado julio del 2008: [<http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2005/fap821c/doc/fap821c.pdf>]

- QUINTERO, H. C. M. 2004.** Efecto de la copigmentación sobre el color y estabilidad del pigmento en un sistema modelo (bebida), usando antocianina de rábano. Universidad de las Américas Puebla. Escuela de Ciencias. Departamento de Química y Biología. Cholula, Puebla, México. Consultado enero del 2009 :
[http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lqf/quintero_h_cm/resumen.html]
- SALINAS, M. Y.; ROJAS, H. L.; SOSA, M. E. y PÉREZ, H. P. 2005.** Composición de antocianinas en variedades de frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivadas en México. Agrociencia. Consultado marzo del 2008:
[<http://www.colpos.mx/agrocien/Bimestral/2005/jul-ago/art-3.pdf>]
- SANCHEZ, H. 1987.** El maíz composición química y utilización. Editorial Aedos. Barcelona – España. 170 – 172.
- SERRANO, D. C. A.; D. JURADO, C.; SÁNCHEZ, C. M. y LÓPEZ, F. M. 1991.** Antioxidantes. Escuela de nutrición, Universidad de Granada.
- SIES, H. 1 997.** Antioxidants in disease mechanisms and therapy. Vol 38 USA Academic Press. Inc. 293 p.
- ROSALES, L M. C., 2003.** Optimización del proceso de bioseparación de compuestos fenólicos a partir de dos variedades de frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L.), maíz azul (*Zea mays* L.) y jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey (ITESM). Laboratorio de Biotecnología. Monterrey, México.

UGARTONDO, C. 2 009. Caracterización de derivados polifenólicos obtenidos de fuentes naturales. Citotoxicidad y capacidad antioxidante frente a estrés oxidativo en modelos celulares. Facultad de Farmacia. Universidad de Barcelona. España. 48 pág.

IX. ANEXO

A – Ia. Análisis de varianza según el modelo estadístico elegido, para antocianinas de acuerdo a los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0,10, 20 y 30 min) con tiempo de almacenamiento (0 y 7 días).

Fuente	S.C.	gl	C.M.	Fc	Valor P
Modelo	10143.70	12	845.31	13.98	0.0000
Residuos	3568.58	59	60.49		
Total (Corregido)	13712.28	71			

CV = 0.0703

A – Ib. Análisis de varianza para antocianinas de acuerdo a los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0,10, 20 y 30 min) con tiempo de almacenamiento (0 y 7 días).

Fuente	S.C.	gl	C.M.	Fc	Valor P
Tiempo almacenamiento	5275.16	1	5275.16	87.22	0.0000
pH	545.54	2	272.77	4.51	0.0150
Tiempo sonicado	676.26	3	225.42	3.73	0.0160
pH* Tiempo sonicado	3646.70	6	607.79	10.05	0.0000
Residuos	3568.58	59	60.49		
Total (Corregido)	8775.84	71			

CV= 0703

A – Ic. Múltiple comparación para antocianinas de acuerdo a los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0,10, 20 y 30 min) con tiempo de almacenamiento (0 y 7 días).

Fuente	S.C.	gl	C.M.	Fc	Valor P
Tratamientos	13646.4	23	593.32	427.85	0.0000
Bloques	2.09	2	1.04	0.75	0.4764
Residuos	63.79	46	1.37		
Total (Corregido)	13712.28	71			

CV= 0.0105

A – IIa. Análisis de varianza según el modelo estadístico elegido, para el recuento de mohos y levaduras de acuerdo a los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0,10, 20 y 30 min) con tiempo de almacenamiento (0 y 7 días).

Fuente	S.C.	gl	C.M.	Fc	Valor P
Modelo	302032.0	12	25169.3	9.25	0.0000
Residuos	160503.0	59	2720.4		
Total (Corregido)	462535.0	71			

CV= 1.1153

A – IIb. Análisis de varianza para el recuento de mohos y levaduras de acuerdo a los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0,10, 20 y 30 min) con tiempo de almacenamiento (0 y 7 días).

Fuente	S.C.	gl	C.M.	Fc	Valor P
Tiempo almacenamiento	139304.0	1	139304.0	51.21	0.0000
pH	1697.0	2	848.7	0.31	0.7332
Tiempo sonicado	155649.0	3	51883.0	19.07	0.0000
pH* Tiempo sonicado	5381.0	6	896.8	0.33	0.9187
Residuos	160503.0	59	2720.4		
Total (Corregido)	462535.0	71			

CV= 1.1153

A – IIc. Múltiple comparación para el recuento de mohos y levaduras de acuerdo a los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0,10, 20 y 30 min) con tiempo de almacenamiento (0 y 7 días).

Fuente	S.C.	gl	C.M.	Fc	Valor P
Tratamientos	449312.0	23	19535.3	70.07	0.0000
Bloques	398.0	2	199.2	0.71	0.4948
Residuos	12825.0	46	278.8		
Total (Corregido)	462535.0	71			

CV= 0.3571

A – IIIa. Análisis de varianza según el modelo estadístico elegido, para el recuento total de acuerdo a los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0,10, 20 y 30 min) con tiempo de almacenamiento (0 y 7 días).

Fuente	S.C.	gl	C.M.	Fc	Valor P
Modelo	724777.0	12	60398.1	9.88	0.0000
Residuos	360509.2	59	6110.32		
Total (Corregido)	1085286.2	71			

CV= 1.0779

A – IIIb. Análisis de varianza para el recuento total de acuerdo a los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0,10, 20 y 30 min) con tiempo de almacenamiento (0 y 7 días).

Fuente	S.C.	gl	C.M.	Fc	Valor P
Tiempo almacenamiento	350145.0	1	350145.0	57.30	0.0000
pH	1359.0	2	679.5	0.11	0.8949
Tiempo sonicado	371276.0	3	123759.0	20.25	0.0000
pH* Tiempo sonicado	1997.2	2	332.9	0.05	0.9993
Residuos	360509.0	63	6110.3		
Total (Corregido)	1085286.2	71			

CV= 1.0779

A – IIIc. Múltiple comparación para el recuento total de acuerdo a los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0,10, 20 y 30 min) con tiempo de almacenamiento (0 y 7 días).

Fuente	S.C.	gl	C.M.	Fc	Valor P
Tratamientos	10772.2	23	46835.5	295.02	0.0000
Bloques	766.7	2	383.4	2.41	0.1006
Residuos	7302.3	46	158.8		
Total (Corregido)	1085286.2	71			

CV= 0.1738

A – IVa. Análisis de varianza según el modelo estadístico elegido, para antocianinas de acuerdo a los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0 y 30 min) con tiempo de almacenamiento (0, 7, 14 y 30 días).

Fuente	S.C.	gl	C.M.	Fc	Valor P
Modelo	27110.9	8	3388.87	54.62	0.0000
Residuos	3908.51	63	62.04		
Total (Corregido)	31019.41	71			

CV= 0.0819

A – IVb. Análisis de varianza para antocianinas de acuerdo a los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0 y 30 min) con tiempo de almacenamiento (0, 7, 14 y 30 días).

Fuente	S.C.	gl	C.M.	Fc	Valor P
Tiempo almacenamiento	20650.45	3	6883.46	110.95	0.0000
pH	1238.05	2	619.07	9.98	0.0002
Tiempo sonicado	3143.85	1	3143.85	50.67	0.0000
pH * Tiempo sonicado	2078.55	6	1039.27	16.75	0.0000
Residuos	3908.51	59	62.04		
Total (Corregido)	31019.41	71			

CV= 0.0819

A – IVc. Múltiple comparación para antocianinas de acuerdo a los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0,10, 20 y 30 min) con tiempo de almacenamiento (0, 7, 14 y 30 días).

Fuente	S.C.	gl	C.M.	Fc	Valor P
Tratamientos	30969.5	23	1346.5	1250.86	0.0000
Bloques	0.41	2	0.20	0.19	0.8290
Residuos	49.50	46	1.08		
Total (Corregido)	31019.41	71			

CV= 0.0108

A – Va. Análisis de varianza según el modelo estadístico elegido, para el recuento de mohos y levaduras de acuerdo a los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0 y 30 min) con tiempo de almacenamiento (0, 7, 14 y 30 días).

Fuente	S.C.	gl	C.M.	Fc	Valor P
Modelo	430.00	8	53.75	3.80	0.0011
Residuos	890.88	63	14.1409		
Total (corregido)	1320.88	71			

CV= 2.2012

A – Vb. Análisis de varianza para el recuento de mohos y levaduras de acuerdo a los factores: tiempo de almacenamiento (0, 7, 14 y 30 días), pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0, y 30 min).

Fuente	S.C.	gl	C.M.	Fc	Valor P
Tiempo almacenamiento	188.39	3	62.792	4.44	0.0068
pH	81.26	2	40.625	2.87	0.0640
Tiempo sonicado	58.68	1	58.681	4.15	0.0458
pH* Tiempo sonicado	101.69	6	50.847	3.60	0.0332
Residuos	890.86	59	14.141		
Total (Corregido)	1320.88	71			

CV= 2.2012

A – Vc. Múltiple comparación para el recuento de mohos y levaduras de acuerdo a los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0,10, 20 y 30 min) con tiempo de almacenamiento (0, 7, 14 y 30 días).

Fuente	S.C.	gl	C.M.	Fc	Valor P
Tratamientos	1140.88	23	49.6033	12.96	0.0000
Bloques	4.0	2	2.0000	0.52	0.5964
Residuos	176.0	46	3.8261		
Total (Corregido)	1320.88	71			

CV= 1.1450

A – VIa. Análisis de varianza según el modelo estadístico elegido, para el recuento total de acuerdo a los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0 y 30 min) con tiempo de almacenamiento (0, 7, 14 y 30 días).

Fuente	S.C.	gl	C.M.	Fc	Valor P
Modelo	1851.72	12	231.46	9.65	0.0000
Residuos	1511.39	59	23.99		
Total (Corregido)	3363.11	71			

CV= 1.2595

A – VIb. Análisis de varianza para el recuento total de acuerdo a los factores: tiempo de almacenamiento (0, 7, 14 y 30 días), pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0, y 30 min).

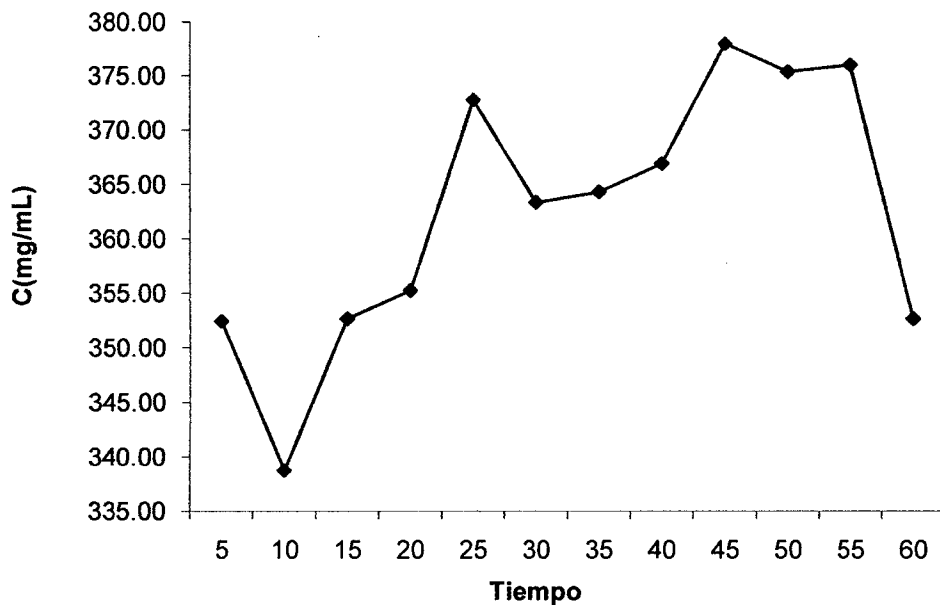
Fuente	S.C.	gl	C.M.	Fc	Valor P
Tiempo almacenamiento	1422.78	3	474.26	19.77	0.0000
pH	155.44	2	77.72	3.24	0.0458
Tiempo sonicado	144.50	1	144.50	6.02	0.0169
pH*Tiempo sonicado	129.00	6	64.50	2.69	0.0758
Residuos	1511.39	59	23.99		
Total (Corregido)	3363.11	71			

CV= 1.2595

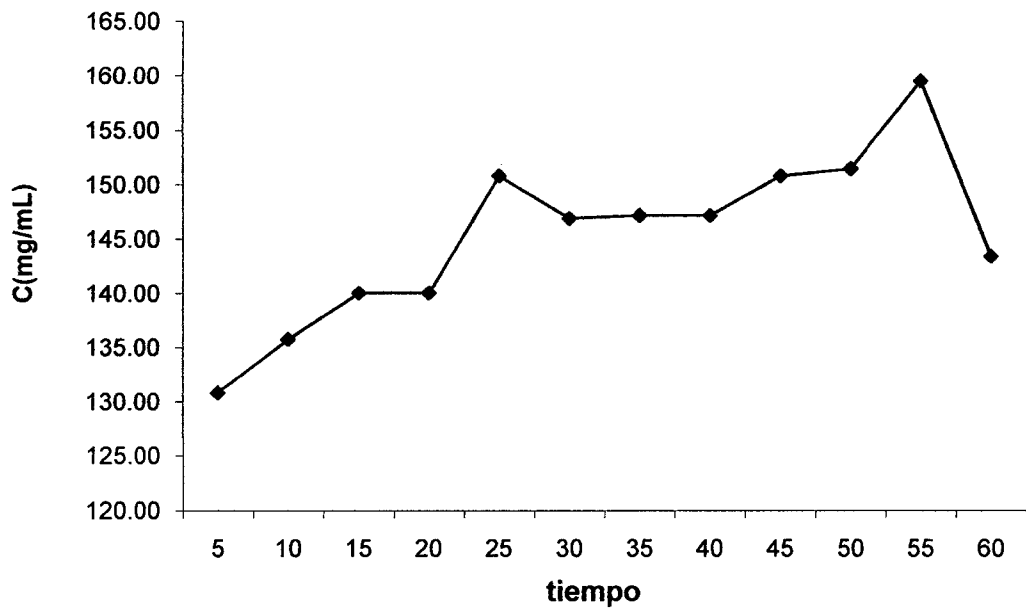
A – VIc. Múltiple comparación para el recuento total de acuerdo a los factores: pH (3.5, 4.0 y 4.5) y tiempo de sonicado (0,10, 20 y 30 min) con tiempo de almacenamiento (0, 7, 14 y 30 días).

Fuente	S.C.	gl	C.M.	Fc	Valor P
Tratamientos	2974.44	23	129.324	16.08	0.0000
Bloques	18.78	2	9.389	1.17	0.3202
Residuos	369.89	46	8.041		
Total (Corregido)	3363.11	71			

CV= 0.7292



A – VIIa. Contenido de antocianinas en la coronta rallada del maíz morado.



A – VIIb. Contenido de antocianinas en la coronta entera del maíz morado.

A – VIIIa. Efecto de la interacción pH (3.5, 4.0 y 4.5), tiempo de sonicado (0, 10, 20 y 30 min.) y tiempo de almacenamiento (0 y 7días) en extractos de la coronta de maíz morado.

Interacción	Especificación	Antocianinas(mg/mL)		Recuento total (ufc/mL)		Mohos y levaduras(ufc/mL)	
T1	pH3.5/ 0 min/ 0días	111.183 ± 1.012	ij	<10	a	<1	a
T2	pH3.5/ 0 min/ 7días	92.6256 ± 0.729	b	<10	a	<1	a
T3	pH3.5/ 10 min/ 0días	110.535± 1.708	hi	<10	a	<10	a
T4	pH3.5/ 10 min/ 7días	101.945± 1.582	c	281	c	198	c
T5	pH3.5/ 20 min/ 0días	119.449 ± 0.743	n	<10	a	<10	a
T6	pH3.5/ 20 min/ 7días	108.752± 0.983	gh	242	b	111	b
T7	pH3.5/ 30 min/ 0días	121.718 ± 1.382	ñ	<1	a	<10	a
T8	pH3.5/ 30 min/ 7días	107.374± 0.983	fg	<1	a	<10	a
T9	pH4.0/ 0 min/ 0días	142.788 ± 3.237	o	<1	a	<10	a
T10	pH4.0/ 0 min/ 7días	104.538± 0.421	de	<10	a	<1	a
T11	pH4.0/ 10 min/ 0días	150.648 ± 1.582	p	<10	a	<10	a
T12	pH4.0/ 10 min/ 7días	101.945± 0.743	c	299	c	198	c
T13	pH4.0/ 20 min/ 0días	105.673± 0.983	ef	<10	a	<10	a
T14	pH4.0/ 20 min/ 7días	93.3549± 0.972	b	280	c	196	c
T15	pH4.0/ 30 min/ 0días	112.804 ± 1.114	jk	<10	a	<10	a
T16	pH4.0/ 30 min/ 7días	103.809± 0.421	cde	<10	a	<1	a
T17	pH4.5/ 0 min/ 0días	117.261± 0.506	m	<1	a	<1	a
T18	pH4.5/ 0 min/ 7días	87.2771± 0.421	a	<1	a	<1	a
T19	pH4.5/ 10 min/ 0días	114.506 ± 0.643	kl	<10	a	<10	a
T20	pH4.5/ 10 min/ 7días	102.075 ± 1.060	cd	300	c	193	c
T21	pH4.5/ 20 min/ 0días	105.592± 0.506	ef	<10	a	<10	a
T22	pH4.5/ 20 min/ 7días	104.376± 0.743	de.	300	c	188	c
T23	pH4.5/ 30 min/ 0días	117.747± 1.096	mn	<1	a	<1	a
T24	pH4.5/ 30 min/ 7días	115.883 ± 0.743	lm	<10	a	<1	a

Estos datos reportan la media ± la desviación estándar para n = 3. Valores de una misma columna con superíndices diferentes son significativos (p<0,05) según la prueba de comparación múltiple de Duncan.

A – VIIIb. Efecto de la interacción pH (3.5, 4.0 y 4.5), tiempo de sonicatedo (0 y 30 min.) y tiempo de almacenamiento (0, 7, 14 y 30 días) en extractos de la coronta de maíz morado.

Interacción	Especificación	Antocianinas(mg/mL)		Recuento total (ufc/mL)		Mohos y levaduras(ufc/mL)	
T1	pH3.5/ 0 min/ 0días	111.183 ± 1.012	m	<10	ab	<1	a
T2	pH3.5/ 0 min/ 7días	92.6256 ± 0.729	i	<10	ab	<1	a
T3	pH3.5/ 0 min/ 14días	82.4149± 0.421	e	<10	ab	<1	a
T4	pH3.5/ 0 min/ 30días	66.0454 ± 1.425	c	<1	a	<1	a
T5	pH3.5/ 30 min/ 0días	121.718 ± 1.382	o	<1	a	<10	a
T6	pH3.5/ 30 min/ 7días	107.374 ± 0.983	l	<1	a	<10	a
T7	pH3.5/ 30 min/ 14días	96.9206 ± 0.854	j	<1	a	<1	a
T8	pH3.5/ 30 min/ 30días	89.5462 ± 0.281	h	<30	f	<30	b
T9	pH4.0/ 0 min/ 0días	142.788 ± 3.237	p	<1	a	<10	a
T10	pH4.0/ 0 min/ 7días	104.538 ± 0.421	k	<10	ab	<1	a
T11	pH4.0/ 0 min/ 14días	85.0891 ± 0.421	f	<10	abc	<10	a
T12	pH4.0/ 0 min/ 30días	75.2836 ± 0.781	d	<30	d	<10	a
T13	pH4.0/ 30 min/ 0días	112.804 ± 1.114	m	<10	ab	<10	a
T14	pH4.0/ 30 min/ 7días	103.809 ± 0.421	k	<10	ab	<1	a
T15	pH4.0/ 30 min/ 14días	97.7309 ± 0.243	j	<10	c	<10	a
T16	pH4.0/ 30 min/ 30días	89.141 ± 1.012	h	<30	e	<10	a
T17	pH4.5/ 0 min/ 0días	117.261 ± 0.506	nñ	<1	a	<1	a
T18	pH4.5/ 0 min/ 7días	87.2771 ± 0.421	g	<1	a	<1	a
T19	pH4.5/ 0 min/ 14días	63.8574± 0.140	b	<10	ab	<1	a
T20	pH4.5/ 0 min/ 30días	46.8395± 0.506	a	<10	bc	<1	a
T21	pH4.5/ 30 min/ 0días	117.747± 1.096	ñ	<1	a	<1	a
T22	pH4.5/ 30 min/ 7días	115.883± 0.743	n	<10	a	<1	a
T23	pH4.5/ 30 min/ 14días	95.9481± 0.920	j	<10	abc	<1	a
T24	pH4.5/ 30 min/ 30días	85.1702 ± 0.506	f	<10	abc	<1	a

Estos datos reportan la media ± la desviación estándar para n = 3. Valores de una misma columna con superíndices diferentes son significativos (p<0,05) según la prueba de comparación múltiple de Duncan.