

# ANTOCIANINAS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN MAÍCES (*Zea mays* L.) DE LAS RAZAS CHALQUEÑO, ELOTES CÓNICOS Y BOLITA

## ANTHOCYANINS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY IN MAIZE GRAINS (*Zea mays* L.) OF CHALQUEÑO, ELOTES CÓNICOS AND BOLITA RACES

Yolanda Salinas-Moreno<sup>1\*</sup>, José J. Pérez-Alonso<sup>2</sup>, Gricelda Vázquez-Carrillo<sup>3</sup>,  
Flavio Aragón-Cuevas<sup>3</sup>, Gustavo A. Velázquez-Cardelas<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Maíz, <sup>3</sup>Programa de maíz, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Apartado Postal 10. 56230. Chapingo, Estado de México. (yolysamx@yahoo.com). <sup>2</sup>Unidad de Nutrición y Bromatología, Facultad de Farmacia, Universidad de Salamanca, Campus Miguel de Unamuno s/n. E-37007 Salamanca, España.

### RESUMEN

En México los maíces (*Zea mays* L.) de grano azul se destinan preferentemente a la elaboración de diversos alimentos dentro de los cuales la tortilla es el más común. La variabilidad en el contenido de antocianinas, que son los pigmentos responsables de la coloración, entre los maíces destinados para este fin, se conoce poco. Por tanto, se analizaron 18 muestras de grano de maíz azul/morado (*Zea mays* L.) de las razas Chalqueño (CHAL), Elotes Cónicos (EC) y Bolita (BOL) para determinar su contenido de antocianinas (AT), fenoles solubles totales (FST) y actividad antioxidante (AA), así como su color y tamaño de grano. También se determinó el perfil cromatográfico de sus antocianinas y agliconas. El diseño experimental fue un completamente al azar. Los resultados mostraron variabilidad reducida en AT y FST dentro de las razas y mayor entre razas. Los contenidos promedio de AT por raza fueron  $855 \pm 140$ ,  $1205 \pm 130$  y  $423 \pm 95$  mg ECG/kg MS en CHAL, EC y BOL. Hubo una correlación significativa ( $r^2=0.89$ ) entre AT y AA. Las razas presentaron las mismas antocianinas y el perfil estuvo caracterizado por predominancia de antocianinas aciladas (>60 %) derivadas de cianidina, que fue la aglicona más abundante. El peso de 100 semillas y color del grano (L y croma) mostraron correlación altamente significativa con el contenido de AT. Debido al contenido alto de AT y un perfil cromatográfico dominado por derivados de cianidina, estos maíces son una materia prima atractiva para elaborar productos alimenticios altos en antioxidantes.

**Palabras clave:** *Zea mays*, antocianinas, flavonoides, color, razas.

### ABSTRACT

In México, blue maize (*Zea mays* L.) grains are destined preferably for the elaboration of diverse foods among which tortilla is the most common. Anthocyanins are the pigments responsible for grain color, nevertheless, their variability among maize used for torilla elaboration is scarcely known. Therefore, 18 samples of blue/purple maize grains (*Zea mays* L.) of Chalqueño (CHAL), Elotes Cónicos (EC) and Bolita (BOL) races were analyzed to determine their anthocyanin content (AT), total soluble phenols (TSP), and antioxidant activity (AA), as well as the color and size of the grain. The chromatographic profile of their anthocyanins and aglycons was also determined. A completely randomized experimental design was used. Results showed a reduced variability in AT and TSP within the races but variability was higher among the races. The average AT contents per race were  $855 \pm 140$ ,  $1205 \pm 130$  and  $423 \pm 95$  mg ECG/kg MS in CHAL, EC and BOL, respectively. There was a significant correlation ( $r^2=0.89$ ) between AT and AA. The races presented a similar anthocyanin profile characterized by the predominance of acylated anthocyanins (>60 %) derived from cyanidin, which was the most abundant aglycone. The weight of 100 seeds and the color of the grain (L and chrome) showed a highly significant correlation with the AT content. Due to the high AT content and a chromatographic profile dominated by cyanidin derivatives, these maize varieties are an attractive raw material for the elaboration of food products with high antioxidant content.

**Key words:** *Zea mays*, anthocyanins, flavonoids, color, races.

### INTRODUCTION

In México, maize races (*Zea mays* L.), Elotes Cónicos, Chalqueño and Bolita, are among those used the most by traditional producers who use native

\*Autor responsable ❖ Author for correspondence.

Recibido: julio, 2012. Aprobado: septiembre, 2012.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 46: 693-706. 2012.

## INTRODUCCIÓN

En México, las razas de maíz (*Zea mays* L.) Elotes Cónicos, Chalqueño y Bolita están entre las más usadas por productores tradicionales que utilizan semillas de maíz nativas. En estas razas de maíz nativas de México hay variedades de grano pigmentado en las cuales pueden predominar los carotenoides o los flavonoides del tipo antocianinas, las cuales confieren al grano de maíz colores desde rojo tenue hasta púrpura intenso (Salinas *et al.*, 1999).

Las antocianinas del grano de maíz se han cuantificado (Harborne y Self, 1987; Salinas *et al.*, 1999) e identificado (Salinas *et al.*, 2005; Montilla *et al.*, 2011; Zilic *et al.*, 2012) y evaluado sus actividades biológicas (Zhao *et al.*, 2009; Yang y Zhai, 2011) especialmente su actividad antioxidante (AA) (Jing *et al.*, 2008; Lopez-Martínez *et al.*, 2009; Zilic *et al.*, 2012). La AA se atribuye principalmente a las antocianinas de los granos rojos y azul/morados estudiadas extensamente (de la Parra *et al.*, 2007; Lopez-Martínez *et al.*, 2009; Zilic *et al.*, 2012). Además participan los ácidos fenólicos y otros flavonoides sin color, como la quercetina, que se extraen conjuntamente con las antocianinas (Predeschi y Cisneros-Zeballos 2006). La AA tiene relevancia por su relación con efectos anti-carcinogénicos (Liu, 2007). Las antocianinas también tienen actividad antimicrobiana y antiproliferativa (Zhao *et al.*, 2009).

Varios estudios sobre antocianinas en maíz se han realizado con un número limitado de muestras para cada color de grano (de la Parra *et al.*, 2007; Montilla *et al.*, 2011; Zilic *et al.*, 2012). Pero hay pocos estudios acerca de la variabilidad de antocianinas y actividad antioxidante entre recolectas de una misma raza y color de grano. Esta información es relevante para elegir los mejores maíces de grano azul/morado y aprovechar su valor nutracéutico en la elaboración de productos alimenticios o su aprovechamiento industrial no alimenticio.

Los objetivos del presente estudio fueron determinar en poblaciones de maíz azul/morado de las razas Chalqueño, Elotes Cónicos y Bolita: 1) la variabilidad en el contenido y tipo de antocianinas, 2) la relación de características físicas de grano y contenido de antocianinas, y 3) la actividad antioxidante de los extractos de antocianinas del grano crudo.

maize seeds. In these maize races from México, there are varieties of pigmented grains in which carotenoids or flavonoids (anthocyanin type) can predominate. In those maize grains in which anthocyanins predominate, they give to maize grain colors that range from light red to intense purple (Salinas *et al.*, 1999).

Anthocyanins from maize grain have been quantified (Harborne and Self, 1987; Salinas *et al.*, 1999), identified (Salinas *et al.*, 2005; Montilla *et al.*, 2011; Zilic *et al.*, 2012), and their biological activities were evaluated (Zhao *et al.*, 2009; Yang and Zhai, 2011), especially their antioxidant activity (AA) (Jing *et al.*, 2008; Lopez-Martínez *et al.*, 2009; Zilic *et al.*, 2012). The AA is primarily attributed to anthocyanins of the red and blue/purple grains which have been extensively studied (de la Parra *et al.*, 2007; Lopez-Martínez *et al.*, 2009; Zilic *et al.*, 2012). In addition, phenolic acids and other colorless flavonoids, such as quercetin, which are extracted together with the anthocyanins (Predeschi and Cisneros-Zeballos, 2006) contribute to this activity. The AA is important because of its relation with anti-cancer effects (Liu, 2007). Anthocyanins also have anti-microbial and anti-proliferative activity (Zhao *et al.*, 2009).

Several studies concerning anthocyanins in maize have been performed with a limited number of samples for each grain color (de la Parra *et al.*, 2007; Montilla *et al.*, 2011; Zilic *et al.*, 2012). However, there are few studies about the variability of anthocyanins and antioxidant activity between collections of the same race and grain color. This information is important in order to select the best maize of blue/purple grains and to take advantage of their nutraceutical value in the elaboration of food products or their non-dietary industrial use.

The objectives of this study were to determine: 1) the variability in the content and type of anthocyanin, 2) the relationship between physical grain characteristics and anthocyanin content, and 3) the antioxidant activity of anthocyanin extracts of the raw grain, in blue/purple maize populations of the Chalqueño, Elotes Cónicos and Bolita races.

## MATERIALS AND METHODS

### Study material

The study was performed on 18 samples of blue/purple grain of Elotes Cónicos (EC), Chalqueño (CHAL) and Bolita

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material de estudio

Se estudiaron 18 muestras de grano azul/morado de las razas de maíz Elotes Cónicos (EC), Chalqueño (CHAL) y Bolita (BOL). Las muestras de la raza EC se recolectaron con productores en los municipios de Acambay, Almoloya de Juárez, Mexicaltzingo, Tenango del Valle, Tenango del Aire, y Villa del Carbón, del Estado de México; las de la raza CHAL son del proyecto No. BEI-MAI-1034, financiado por SINAREFI y se recolectaron en las Delegaciones Tlalpan y Milpa Alta en el Distrito Federal; y las de la raza BOL se recolectaron en los municipios de San Pablo Huitzo, San Pedro Ixtlahuaca, San Martín Tilcajete, Trinidad Zaachila, Zimatlán y Ejutla, estado de Oaxaca.

### Características físicas del grano

Las variables fueron: 1) color de grano medido con un colorímetro Hunter-Lab (Mini Scan XE Plus 45/0-L, USA) en una muestra de 30 granos sanos montados sobre una base de plastilina gris simulando la forma en que se encuentran en la mazorca, y se obtuvieron los valores de L, a\* y b\* y se calculó el ángulo de tono o hue y croma de acuerdo con lo descrito por McGuire (1982); 2) peso de 100 semillas, se contaron manualmente de manera aleatoria 100 granos sanos de cada muestra por duplicado y se pesaron en una balanza semi-analítica (Sartorius BL610, GER, sensibilidad de 0.01g). La humedad en las muestras de grano fue 11 a 12 %.

### Preparación de las muestras para su análisis

En 40 granos de cada muestra, tomados al azar, se removió el germen manualmente con un bisturí. El germen carece de antocianinas pero tiene una cantidad alta de fenoles extractables (Salinas *et al.*, 2007). El germen se eliminó antes de la molienda para no realizar extracciones líquido-líquido con hexano del extracto de antocianinas, pues la grasa interfiere en su cuantificación. El grano sin germen se trituró en un molino IKA (MF 10 Basic, IKA Laboratory equipment, USA) con malla 0.5 mm, y la harina se deshidrató en una estufa (Blue M, Electronic Company, USA) a 40 °C por 18 h. Las muestras deshidratadas se colocaron en un desecador de vidrio.

### Extracción de fenoles solubles totales

En un matraz Erlenmeyer de 50 mL se depositó 1.0 g de muestra y se mezcló con 20 mL de metanol acidificado al 1 % con ácido trifluoracético. La mezcla se sonó 15 min en un baño

(BOL) maize races. The EC race samples were collected with producers in the municipalities of Acambay, Almoloya de Juárez, Mexicaltzingo, Tenango del Valle, Tenango del Aire, and Villa del Carbón, Estado de México; those from the CHAL race were from project BEI-MAI-1034, financed by SINAREFI, and they were collected in the Tlalpan and Milpa Alta Delegations in Distrito Federal; and those from the BOL race were collected in the municipalities of San Pablo Huitzo, San Pedro Ixtlahuaca, San Martín Tilcajete, Trinidad Zaachila, Zimatlán and Ejutla, state of Oaxaca.

### Physical characteristics of the grain

The variables were: 1) grain color, measured with a Hunter-Lab colorimeter (Mini Scan XE Plus 45/0-L, USA) in a sample of 30 healthy grains set up on a grey clay base simulating the way they are found on the cob, values for L, a\* and b\* were obtained, and the tone angle or hue and chrome were calculated based on the description by McGuire (1982); 2) weight of 100 seeds: 100 healthy grains were randomly counted by hand from each sample, in duplicate, and they were weighed in a semi-analytical scale (Sartorius BL610, GER, sensitivity of 0.01g). Humidity in the grain samples was set up 11 to 12 %.

### Sample preparation for their analysis

In 40 grains from each sample, randomly selected, the germ was manually removed with a scalpel. The germ does not have anthocyanins but contains a high amount of extractable phenols (Salinas *et al.*, 2007). The germ was eliminated before milling to avoid the need of liquid-liquid extractions with hexane to remove grease, since it interferes in the quantification of anthocyanins in the extract. The grain without germ was ground in an IKA mill (MF 10 Basic, IKA Laboratory Equipment, USA), with a 0.5 mm mesh, and the flour was dehydrated in a stove (Blue M, Electronic Company, USA) at 40 °C for 18 h. The dehydrated samples were placed in a glass desiccator.

### Total soluble phenols extraction

In a 50 mL Erlenmeyer flask, 1.0 g of the sample was placed and mixed with 20 mL of 1 % acidified methanol with trifluoroacetic acid. The mixture was sonicated for 15 min in a sonicator bath (Branson Equipment, model 2510, USA) and refrigerated (4 °C±1°) for 105 min. The mixture was centrifuged (Universal 32, Hettich Zentrifugen, Germany) for 10 min at 2200 g and the supernatant was filtered on Whatman No. 4 paper. Determinations were carried out with this extract.

sonicador (Branson equipment, model 2510, USA) y se refrigeró ( $4\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}$ ) por 105 min. La mezcla se centrifugó (Universal 32, Hettich Zentrifugen, Germany) 10 min a 2200 g y el sobrenadante se filtró en papel Whatman No. 4. Con este extracto se realizaron las determinaciones.

#### Fenoles solubles totales (Folin-Ciocalteu)

Se usó el método de Folin-Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965). El extracto metanólico ( $100\text{ }\mu\text{L}$ ) se mezcló con el reactivo Folin-Ciocalteu, se dejó reposar 6 min y se agregó  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . El volumen se ajustó a 3 mL con agua destilada, se agitó en vórtex y reposó 90 min a temperatura ambiente ( $22\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}$ ) en la oscuridad. Las muestras se centrifugaron y se midió su absorbancia en un espectrofotómetro (Perkin-Elmer Lambda 25 UV/Vis) a 760 nm. El contenido de fenoles solubles totales (FST) se calculó con base en una curva patrón de ácido gálico y se expresó en mg equivalentes de ácido gálico (EAG)  $\text{kg}^{-1}$  de muestra seca (de la Parra *et al.*, 2007).

#### Antocianinas totales

Se usó el método de Abdel-Aal *et al.* (1999) y modificado por Salinas *et al.* (2005). La absorbancia del extracto metanólico de la muestra se midió en un espectrofotómetro (Perkin-Elmer Lambda 25) a 520 nm. Se elaboró una curva patrón de cianidina 3-glucósido (Extrashintasa, FR) para expresar el contenido de antocianinas totales en mg equivalentes de cianidina 3-glucósido (ECG)  $\text{kg}^{-1}$  de muestra seca.

#### Análisis de antocianinas por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

Una fracción del extracto de fenoles se purificó en una columna de resina Amberlite XAD-7 según lo descrito por Salinas *et al.* (2005). El extracto purificado se filtró con un filtro (acrodisco) de nylon (Millipore,  $0.45\text{ }\mu\text{m}$ ) y se analizó por HPLC en un equipo Perkin-Elmer Series 200 con un detector de UV-DAD con arreglo de diodos, controlados por una computadora personal con el programa TotalChrom™. Se usó el método descrito por Fossen *et al.* (2001) con dos disolventes bajo un sistema de gradientes; los disolventes fueron A (ácido fórmico-agua, 1:9 v/v) y B (ácido fórmico-agua-metanol, 1:4:5 v/v/v). Se empleó un gradiente lineal de 10 % de B hasta 100 % por 17 min, una elución isocrática por 4 min (100 % B) y un gradiente lineal de 100 % de B hasta 10 % de B por 1 min. La velocidad de flujo fue  $1.2\text{ mL min}^{-1}$ , un volumen de inyección de  $20\text{ }\mu\text{L}$  y tiempo de corrida de 21 min. La temperatura de la columna se mantuvo en  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Las antocianinas se identificaron comparando sus tiempos

#### Total soluble phenols (Folin-Ciocalteu)

The Folin-Ciocalteu method was used (Singleton and Rossi, 1965). The acidified methanol extract ( $100\text{ }\mu\text{L}$ ) was mixed with the Folin-Ciocalteu reagent, allowed to rest for 6 min and  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  was added. The volume was adjusted to 3 mL with distilled water, samples were agitated in a vortex and stored for 90 min at room temperature ( $22\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}$ ) in darkness. The samples were centrifuged and their absorbance was measured in a spectrophotometer (Perkin-Elmer Lambda 25 UV/Vis) at 760 nm. The total soluble phenols (TSP) content was calculated based on a gallic acid standard curve and expressed in gallic acid equivalents (GAE)  $\text{kg}^{-1}$  of dry sample (de la Parra *et al.*, 2007).

#### Total anthocyanins

The Abdel-Aal *et al.* (1999) method, modified by Salinas *et al.* (2005), was used. The absorbance of the acidified methanol extract from the sample was measured in a spectrophotometer (Perkin-Elmer Lambda 25) at 520 nm. A standard curve of cyanidin 3-glucoside (Extrashintasa, FR) was prepared and the content of total anthocyanins was expressed in mg equivalent of cyanidin 3-glucoside (ECG)  $\text{kg}^{-1}$  of dry sample.

#### Anthocyanin analysis by high performance liquid chromatography (HPLC)

A fraction of the phenols extract was purified in an Amberlite XAD-7 resin column, according to the description by Salinas *et al.* (2005). The purified extract was filtered with an acrodisc filter (Millipore,  $0.45\text{ }\mu\text{m}$ ) and analyzed by HPLC in a Perkin-Elmer Series 200 equipment with an UV-DAD detector, controlled with the TotalChrom™ software. The chromatographic conditions described by Fossen *et al.* (2001) were used, with mobile phase A (formic acid-water, 1:9 v/v) and B, (formic acid-water-methanol, 1:4:5 v/v/v) under a binary gradient system. A linear gradient of 10 % to 100 % of B was used for 17 min, an isocratic elution for 4 min (100 % B) and a linear gradient of 100 % to 10 % of B for 1 min. The flow rate was  $1.2\text{ mL min}^{-1}$ , an injection volume of  $20\text{ }\mu\text{L}$  and a running time of 21 min. The column temperature was maintained at  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . The anthocyanins were identified by comparing their retention times with that of commercial standards, and comparing the spectra obtained with the UV-DAD detector. Results reported by Pascual-Teresa *et al.* (2002) and Gonzalez-Manzano *et al.* (2008) were also used.

For the aglycons or anthocyanidins, the purified sample was hydrolyzed with HCl 6 M at  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$  for 40 min. The solution was concentrated until dryness and the residue re-dissolved in HCl 0.01M. Samples were analyzed in the HPLC under the same

de retención con los de estándares comerciales, y comparando los espectros obtenidos con el arreglo de diodos y con los resultados reportados por de Pascual-Teresa *et al.* (2002) y Gonzalez-Manzano *et al.* (2008).

Para las agliconas o antocianidinas, la muestra purificada se hidrolizó con HCl 6 M a 100 °C por 40 min. La solución fue concentrada a sequedad y el residuo re-disuelto en HCl 0.01M. Se analizó en el HPLC bajo las mismas condiciones descritas para antocianinas (de Pascual-Teresa *et al.*, 2002).

#### Actividad antioxidante

Se usó el método del DPPH (Cai *et al.*, 2003) basado en la medición de la habilidad de compuestos antioxidantes para reducir el DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), observada como un decremento de la absorbancia de la reacción en función del tiempo. Un volumen de 2.8 mL de una solución 60  $\mu$ M de DPPH disuelto en metanol al 80 % se puso en contacto con 200  $\mu$ L del extracto. Se monitoreó la absorbancia cada 5 min durante 30 min a una longitud de onda de 515 nm. La actividad antioxidante se expresó en función del porcentaje de reducción del DPPH, calculado así:  $[\%DPPH = (A_0 - A_n)100 / A_0]$ , donde  $A_0$  es la absorbancia obtenida al emplear en la prueba metanol al 80 % en lugar de muestra, y  $A_n$  es la absorbancia de la muestra.

#### Análisis estadístico

El diseño experimental fue completamente al azar, los tratamientos fueron las muestras de maíz de cada raza y con dos repeticiones para cada variable. Se realizó un análisis de varianza y las medias de las variables por raza se compararon con la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) con los resultados de las variables por raza. Se efectuó análisis de correlación con las variables de todas las muestras analizadas. En todos los casos los análisis se realizaron con SAS (SAS Institute Inc. 2002).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Características físicas del grano, fenoles y actividad antioxidante

Las características físicas del grano que afectan la concentración de antocianinas son tamaño y color principalmente. El tamaño influye por un efecto de dilución de las antocianinas en la harina del grano usada para la cuantificación, dado que las antocianinas se localizan en el pericarpio y en la capa de aleurona (Salinas *et al.*, 1999). Un grano grande tendrá mayor efecto de dilución que uno pequeño; el grano

conditions described for anthocyanins (de Pascual-Teresa *et al.*, 2002).

#### Antioxidant activity

The DPPH method was used (Cai *et al.*, 2003), based on measuring the ability of antioxidant compounds to reduce the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), observed as a decrease in the absorbance of the reaction as a function of time. A volume of 2.8 mL of a 60  $\mu$ L solution of DPPH dissolved in methanol at 80 % was added to 200  $\mu$ L of the extract. The absorbance was monitored every 5 min during 30 min at 515 nm. The antioxidant activity was expressed in function of the percentage of DPPH reduction, calculated by:  $[\%DPPH = (A_0 - A_n)100 / A_0]$ , where  $A_0$  is the absorbance obtained when using the methanol test at 80 % instead of the sample, and  $A_n$  is the sample's absorbance.

#### Statistical analysis

A completely randomized experimental design was used; the treatments were maize samples from each race and with two replicates for each variable. A variance analysis was carried out and the means were compared with Tukey test ( $p \leq 0.05$ ) with the results of variables per race. A correlation analysis was performed with variables of all samples analyzed. In every case analyses were performed with SAS (SAS Institute Inc. 2002).

## RESULTS AND DISCUSSION

### Physical characteristics of the grain, phenols and antioxidant activity

The physical characteristics of the grain that affect anthocyanin concentration are mainly size and color. The size influences through a dilution effect of anthocyanins in the grain flour used for quantification, since the anthocyanins are located in the pericarp and the aleurone layer (Salinas *et al.*, 1999). A large grain will have a greater dilution effect than a small one; the maize grain of the CHAL race is considered large and the variation observed was 25 to 51 g 100<sup>-1</sup> seeds (Table 1). In the blue/purple grain samples of the CHAL race, anthocyanins were located solely in the aleurone layer (Salinas *et al.*, 1999) and the endosperm texture is floury (Wellhausen *et al.*, 1951).

The color is related with the anthocyanin content and red grains have a lower content than purple or



de maíz de la raza Chalqueño se considera grande y la variación observada fue 25 a 51 g 100<sup>-1</sup> semillas (Cuadro 1) En las muestras de grano azul/morado de la raza Chalqueño las antocianinas se localizan únicamente en la capa de aleurona (Salinas *et al.*, 1999) y la textura de su endospermo es harinosa (Wellhausen *et al.*, 1951).

El color se relaciona con el contenido de antocianinas y los granos rojos presentan menor contenido que los granos púrpura o magenta (Salinas *et al.*, 1999; Montilla *et al.*, 2011; Zilic *et al.*, 2012). En las muestras analizadas, el tono o tinte (h°) varió desde 299 hasta 335.9°, los valores de luminosidad (L) apenas alcanzaron 20 %, en tanto que el índice de saturación de color (Croma) más elevado fue 2.3. De acuerdo con estos valores, el color del grano en las muestras de CHAL analizadas es azul/morado oscuro y poco brillante, pero no es azul, tono que se asocia con un valor de h° de 270° aunque las muestras 10 y 20 se acercan a dicho tono. Al respecto, hay fotografías digitales de las muestras de antocianinas del grano de maíz (Yang y Zhai, 2011; Montilla *et al.*, 2011; Zilic *et al.*, 2012), lo que ayuda a comparar más objetivamente color de grano y contenido de antocianinas. Sin embargo, es más útil contar con información sobre los valores de las variables de color para cada color de grano.

El contenido de AT en las muestras varió de 579.4 a 1042.1 mg equivalentes de cianidina 3-glucosido (ECG) kg<sup>-1</sup> de muestra seca (MS). Para maíces de grano azul en 20 poblaciones de la raza Olotillo los valores van desde 276.8 hasta 904.0 mg ECG kg<sup>-1</sup>

magenta grains (Salinas *et al.*, 1999; Montilla *et al.*, 2011; Zilic *et al.*, 2012). In the samples analyzed, the tone or hue (h°) varied from 299 to 335.9°, the luminosity values (L) barely reached 20 %, while the highest color saturation index (Chrome) was 2.3. According to these values, the color of the grain in CHAL samples analyzed is dark blue/purple and slightly shiny, but is not the blue associated with a h° value of 270°, although samples 10 and 20 are close to this tone. In this regard, there are digital photographs of anthocyanin samples of the maize grain (Yang and Zhai, 2011; Montilla *et al.*, 2011; Zilic *et al.*, 2012), which helps to compare more objectively the grain color and the anthocyanin content. However, it is more useful to have information about color variables for each grain color.

The AT content in the samples varied from 579.4 to 1042.1 mg equivalent of cyanidin 3-glucoside (ECG) kg<sup>-1</sup> of dry sample (MS). For blue grain in 20 populations of the Olotillo maize race, values range from 276.8 to 904.0 mg ECG kg<sup>-1</sup> MS (Salinas *et al.*, 2012), which are similar to those of the CHAL race, while Lopez-Martínez *et al.* (2009) reported 995.0 mg ECG kg<sup>-1</sup> MS in a blue grain maize sample. The TSP varied from 918.9 to 1479.2 mg gallic acid equivalents (GAE) kg MS; the lowest values were present in samples 19 and 20, which also showed a lower content of AT.

The solvent used for the extraction of anthocyanins allows a higher extraction of these compounds (Abdel-Aal and Hucl, 1999), but phenolic acids and other flavonoids are extracted at the same time, and

**Cuadro 1. Características físicas del grano, fenoles solubles y actividad antioxidante en maíces de grano azul/morado de la raza Chalqueño cultivados en el Distrito Federal, México.**

**Table 1. Physical characteristics of the grain, soluble phenols and antioxidant activity in blue/purple maize grains of the Chalqueño race, cultivated in Distrito Federal, México.**

Población	PCS (g)	L (%)	Tono (h) (°)	Croma	AT (mg/kg)	FST (mg/kg)	AA (%)
7	42.0 c	17.4 c	326.5 abc	0.9 c	948.1 ab	1165.5 bc	42.9 bcd
10	39.1 d	15.9 d	300.8 cd	2.0 ab	815.2 bc	1142.5 c	44.5 bc
11	42.7 c	15.3 d	308.2 bcd	1.3 bc	868.7 b	1419.0 ab	47.0 b
16	25.1 e	18.8 b	328.2 ab	0.8 c	1046.1 a	1479.2 a	60.3 a
19	46.8 b	20.2 a	335.9 a	0.5 c	579.4 d	918.9 c	34.0 d
20	51.0 a	16.4 cd	299.0 d	2.3 a	720.9 c	941.4 c	35.0 cd
DMS	0.7	1.3	25.8	0.9	141.4	254.5	10.4

PCS: peso de 100 semillas; L: luminosidad; AT: antocianinas totales (mg ECG kg<sup>-1</sup> MS); FST: fenoles solubles totales (mg EAG kg<sup>-1</sup> MS); AA: actividad antioxidante (% DPPH reducido); DMS: diferencia mínima significativa ❖ PCS: weight of 100 seeds; L: luminosity; AT: total anthocyanins (mg ECG kg<sup>-1</sup> MS); FST: total soluble phenols (mg EAG kg<sup>-1</sup> MS); AA: antioxidant activity (% reduced DPPH); DMS: least significant difference.

MS (Salinas *et al.*, 2012), que son similares a los de las muestras de la raza Chalqueño, mientras que Lopez-Martínez *et al.* (2009) reportan 995.0 mg ECG kg<sup>-1</sup> MS en una muestra de grano azul. Los FST variaron de 918.9 a 1479.2 mg equivalentes de ácido gálico (EAG) kg MS; los valores más bajos se presentaron en las muestras 19 y 20, que también mostraron menor contenido de AT.

El disolvente usado para la extracción de antocianinas permite la mayor extracción de estos compuestos (Abdel-Aal y Hucl, 1999), pero se extraen conjuntamente ácidos fenólicos y otros flavonoides que son cuantificados en el ensayo de Folin-Ciocalteu. En las muestras de maíz Chalqueño las antocianinas representaron en promedio 76.2 % de los FST. Por tanto, el valor de FST es invariablemente mayor que el de AT. Las antocianinas son los fenoles predominantes en el extracto, por lo cual son las principales responsables de la actividad antioxidante (Yang y Zhai, 2011), la cual varió de 34.0 a 60.3 %. Las muestras con menor AA mostraron contenidos menores de AT y FST.

El tamaño de grano en los maíces EC mostró una variación de 24.8 a 46.8 g 100<sup>-1</sup> semillas (Cuadro 2), lo cual es parecido al de los maíces Chalqueños. Las antocianinas se ubican sólo en la capa de aleurona (por su color de grano) y la textura del endospermo es harinosa (Wellhausen *et al.* 1951). Los valores de las variables de color fueron similares a los de los maíces Chalqueños por lo que se puede afirmar que ambos grupos de maíces tienen un color parecido. Los valores de AT variaron de 997.8 a 1332.2 mg ECG kg<sup>-1</sup>

they are also quantified in the Folin-Ciocalteu assay. In CHAL samples, anthocyanins represented 76.2 % of the TSP in average. Therefore, the TSP value is invariably larger than the AT. Anthocyanins are the predominant phenols in the extract; consequently they are the primary compounds responsible for the antioxidant activity (Yang and Zhai, 2011), which varied from 34.0 to 60.3 % of reduced DPPH. The samples with lower AA showed lower contents of AT and TSP.

The weight of the grain in EC maize showed a variation of 24.8 to 46.8 g 100<sup>-1</sup> seeds (Table 2), which is similar to CHAL maize. The anthocyanins are located only in the aleurone layer (because of their grain color) and the endosperm texture is floury (Wellhausen *et al.*, 1951). The values for color variables were similar to those of CHAL maize, hence it can be stated that both groups of maize have a similar color. The AT values varied from 997.8 to 1332.2 mg ECG kg<sup>-1</sup> MS, with values higher than 1000 mg ECG kg<sup>-1</sup> MS in five of the six samples analyzed. For this reason, the average value in EC was higher than that of the CHAL samples. Within the EC samples, those of smaller and larger weight of the grains had a higher and lower AT content, respectively, which agrees with what was shown by Betran *et al.* (2000) and Zilic *et al.* (2012) with regards to the effect of grain size on the AT content. The TSP showed an interval of 1425.8 to 1626.7 mg GAE kg<sup>-1</sup> MS, values that are higher than those observed in CHAL maize. In EC maize samples, the average proportion of anthocyanins within the TSP was 82.4 %, a greater

**Cuadro 2. Características físicas del grano, fenoles solubles y actividad antioxidante en maíces de grano azul/morado de la raza Elotes Cónicos cultivados en el Estado de México.**

**Table 2. Physical characteristics of the grain, soluble phenols and antioxidant activity in blue/purple maize grains of the Elotes Cónicos race, cultivated in Estado de México.**

Población	PCS (g)	L (%)	Tono (h) (°)	Croma	AT (mg/kg)	FST (mg/kg)	AA (%)
4	33.6 c	17.2 a	295.6 bc	0.8 bc	1321.5 a	1626.7 a	55.1 ab
16	34.2 c	16.3 ab	344.3 a	0.5 c	1275.2 ab	1559.6 a	52.3 bc
27	36.9 b	13.1 c	350.5 a	1.3 a	1083.7 c	1328.6 a	46.6 c
45	31.1 d	16.0 ab	329.4 ab	1.0 abc	1216.8 b	1592.8 a	60.4 a
54	24.8 e	15.0 b	313.5 abc	0.9 abc	1332.2 a	1425.8 a	49.5 bc
84	46.8 a	17.5 a	286.4 c	1.3 ab	997.8 d	1452.4 a	52.8 abc
DMS	0.6	1.7	37.4	0.5	82.0	298.3	8.0

PCS: peso de 100 semillas; L: luminosidad; AT: antocianinas totales (mg ECG kg<sup>-1</sup> MS); FST: fenoles solubles totales (mg EAG kg<sup>-1</sup> MS); AA: actividad antioxidante (% DPPH reducido); DMS: diferencia mínima significativa ❖ PCS: weight of 100 seeds; L: luminosity; AT: total anthocyanins (mg ECG kg<sup>-1</sup> MS); FST: total soluble phenols (mg EAG kg<sup>-1</sup> MS); AA: antioxidant activity (% reduced DPPH); DMS: least significant difference.

MS, y con más de 1000 mg ECG kg<sup>-1</sup> MS en cinco de las seis muestras analizadas, por lo que su valor promedio fue superior al de las muestras de Chalqueño. Dentro de las muestras de EC, las de menor y mayor tamaño de grano tuvieron un contenido mayor y menor de AT, lo cual concuerda con lo señalado por Betran *et al.* (2000) y Zilic *et al.* (2012) respecto al efecto del tamaño de grano en el contenido de AT. Los FST mostraron un intervalo de 1425.8 a 1626.7 mg EAG kg<sup>-1</sup> MS, valores mayores a los observados en los maíces CHAL. En los maíces EC la proporción promedio de antocianinas dentro de los FST fue 82.4 %, proporción mayor que la observada en los maíces CHAL. La proporción alta de antocianinas en los FST de estos maíces posiblemente contribuyó al mayor poder antioxidante que presentaron sus extractos, con valores de reducción de DPPH de 46.6 a 60.4 %.

Los granos de la raza BOL presentaron valores de peso de 100 semillas entre 39.2 y 46.8 g (Cuadro 3), que corresponden a la categoría de maíces de grano grande; sin embargo, sus dimensiones son menores que el grano del maíz CHAL, pero al ser más cristalino, pesa más. Con respecto al color del grano, los valores de luminosidad y croma fueron mayores a los observados en los granos de las razas CHAL y EC, particularmente en las muestras VC-016, VC-089 y VC-151, lo que indica granos de coloración menos intensa y más brillante. El tinte o tono de color en dichas muestras varió de 25.6 a 33.1°, indicando color morado/rojizo, en tanto que en las muestras VC-082, VC-107 y VC-120 los

proporción que se observó en CHAL. Es probable que la alta proporción de antocianinas en TSP de estas muestras de maíz contribuyó a la mayor capacidad antioxidante que sus extractos presentaron, con valores de reducción de DPPH de 46.6 a 60.4 %.

Los granos de la raza BOL presentaron valores de peso de 100 semillas entre 39.2 y 46.8 g (Tabla 3), que corresponden a la categoría de maíz de grano grande; sin embargo, sus dimensiones son menores que las del maíz CHAL, pero al ser más cristalino, pesa más. Con respecto al color del grano, los valores de luminosidad y croma fueron mayores a los observados en los granos de las razas CHAL y EC, particularmente en las muestras VC-016, VC-089 y VC-151, lo que indica granos de coloración menos intensa y más brillante. El tinte o tono de color en dichas muestras varió de 25.6 a 33.1°, indicando color morado/rojizo, en tanto que en las muestras VC-082, VC-107 y VC-120 los

valores de luminosidad y croma fueron mayores a los observados en los granos de las razas CHAL y EC, particularmente en las muestras VC-016, VC-089 y VC-151, lo que indica granos de coloración menos intensa y más brillante. El tinte o tono de color en dichas muestras varió de 25.6 a 33.1°, indicando color morado/rojizo, en tanto que en las muestras VC-082, VC-107 y VC-120 los valores de luminosidad y croma fueron mayores a los observados en los granos de las razas CHAL y EC, particularmente en las muestras VC-016, VC-089 y VC-151, lo que indica granos de coloración menos intensa y más brillante. El tinte o tono de color en dichas muestras varió de 25.6 a 33.1°, indicando color morado/rojizo, en tanto que en las muestras VC-082, VC-107 y VC-120 los

**Cuadro 3. Características físicas del grano, fenoles solubles y actividad antioxidante en maíces de grano azul/morado de la raza Bolita cultivados en Oaxaca.**

**Table 3. Physical characteristics of the grain, soluble phenols and antioxidant activity in blue/purple maize grains of the Bolita race, cultivated in Oaxaca.**

Población	PCS (g)	L (%)	Tono (h) (°)	Croma	AT (mg/kg)	FST (mg/kg)	AA (%)
VC-016	41.4 d	30.0 a	28.9 b	4.7 ab	338.1 bc	875.0 c	29.6 bc
VC-082	44.1 c	25.3 b	353.9 a	2.4 bc	528.0 a	1276.2 a	31.7 ab
VC-089	46.8 a	30.5 a	33.1 b	5.0 ab	304.1 c	878.0 c	21.0 c
VC-107	44.1 c	25.3 b	348.6 a	2.6 bc	489.2 a	1099.6 ab	39.5 a
VC-120	45.2 b	22.3 c	337.2 a	1.0 c	516.0 a	988.2 bc	30.8 ab
VC-151	39.2 e	28.9 a	25.6 b	5.5 a	363.6 b	992.8 bc	27.7 bc
DMS	1.1	2.9	25.6	2.9	44.6	187.2	9.6

PCS: peso de 100 semillas; L: luminosidad; AT: antocianinas totales (mg ECG kg<sup>-1</sup> MS); FST: fenoles solubles totales (mg EAG kg<sup>-1</sup> MS); AA: actividad antioxidante (% DPPH reducido); DMS: diferencia mínima significativa. \* PCS: weight of 100 seeds; L: luminosity; AT: total anthocyanins (mg ECG kg<sup>-1</sup> MS); FST: total soluble phenols (mg EAG kg<sup>-1</sup> MS); AA: antioxidant activity (% reduced DPPH); DMS: least significant difference.



valores fueron mayores de 300° y corresponden a un tinte de color azul/morado.

El contenido de AT en los maíces BOL fue de 304.1 a 528.0 mg ECG kg<sup>-1</sup> MS y considerablemente menor que el observado en los CHAL y EC. Los contenidos menores se presentaron en las muestras de color rojizo (VC-016, VC-089 y VC-151) y los más altos en las azul/morado (VC-082, VC-107 y VC-120). Los valores de FST variaron de 875.0 a 1276.2 mg EAG kg<sup>-1</sup> MS, con los más altos en las muestras con mayor contenido de AT, excepto en VC-151. En las muestras de la raza Bolita la proporción promedio de antocianinas en los FST fue 41.6 %, que es considerablemente menor a la observada en los maíces Chalqueño y Elotes Cónicos; además, los valores de AA de la raza Bolita también fueron bajos comparados con los de las razas mencionadas.

Los fenoles en el grano de maíz están compuestos por ácidos fenólicos y flavonoides y pueden estar en forma libre o soluble, o ligados a biomoléculas como proteínas y carbohidratos estructurales (Adom y Liu, 2002). Alrededor de 90 % de los ácidos fenólicos en el grano de maíz se encuentra en forma ligada, principalmente a componentes de pared celular (de la Parra *et al.*, 2007; Montilla *et al.*, 2011), mientras que los flavonoides están predominantemente en forma extraíble o soluble. En el caso de las antocianinas (flavonoides) la proporción ligada es baja (Montilla *et al.*, 2011). En el extracto de FST de los maíces BOL una proporción importante puede corresponder a flavonoides diferentes a antocianinas, que no poseen una capacidad alta para reducir el radical estable DPPH.

### Correlaciones entre las variables analizadas

El PCS del grano de los maíces mostró correlaciones negativas y altamente significativas con las variables fenólicas (AT, FST) y la AA, y esto significa que los granos de menor peso tendrán un contenido mayor de antocianinas, fenoles solubles y actividad antioxidante (Cuadro 4), lo cual se explica por la ubicación del pigmento en los granos en las capas periféricas (capa de aleurona). Así, un grano pequeño tiene proporcionalmente más área pigmentada que un grano grande, por unidad de peso.

La luminosidad (L) y el croma (Cr) mostraron una correlación mayor con las variables fenólicas y la

EC maize; in addition, the AA values in the BOL race were also low, compared to those from the other races mentioned.

Phenols in the maize grain are composed of phenolic acids and flavonoids, and can be found in free or soluble form, or linked to biomolecules like proteins and structural carbohydrates (Adom and Liu, 2002). Around 90 % of the phenolic acids in the maize grain are found linked, primarily to components in the cell wall (de la Parra *et al.*, 2007; Montilla *et al.*, 2011), while flavonoids are predominantly found in extractable or soluble form. In the case of anthocyanins (flavonoids) the proportion of bound anthocyanins is low (Montilla *et al.*, 2011). In the TSP extract of BOL maize, an important proportion can correspond to flavonoids that are not anthocyanins, which do not have a high capacity to reduce the DPPH stable radical.

### Correlations between variables analyzed

The PCS of maize grains showed negative highly significant correlations with phenolic variables (AT, TSP) and the AA, and this means that grains of lower weight will have a higher content of anthocyanins, soluble phenols and antioxidant activity (Table 4), which is explained by the location of the pigment in the grains on the peripheral layers (aleurone layer). Thus, a small grain has proportionately more pigmented area than a large one, per weight unit.

**Cuadro 4. Análisis de correlación entre características físicas de grano, fenoles solubles y actividad antioxidante en maíces de grano azul/morado de tres razas<sup>†</sup>.**

**Table 4. Correlation analysis between physical characteristics of the grain, soluble phenols and antioxidant activity in blue/purple maize grains of three races<sup>†</sup>.**

	AT	FST	AA
PCS	-0.6785	-0.6577	-0.674
Luminosidad	-0.8457	-0.6366	-0.7521
Tono (h°)	0.5791	0.5148	0.5756
Croma (Cr)	-0.7421	-0.6128	-0.7055
AT		0.871	0.8942
FST			0.8917

PCS: peso de 100 semillas; AT: antocianinas totales; FST: fenoles solubles totales; AA: actividad antioxidante. <sup>†</sup> Los valores son diferentes ( $p \leq 0.01$ ) ❖ PCS: weight of 100 seeds; AT: total anthocyanins; FST: total soluble phenols; AA: antioxidant activity. <sup>†</sup> Values are different ( $p \leq 0.01$ ).

AA; la variable  $h^\circ$ , relacionada con el tono de color, mostró correlaciones menores. Esto significa que en muestras de grano azul/morado, aquellas con los valores más bajos en L y Cr tendrán contenidos de AT y FST mayores. Los valores de correlación entre las variables peso de 100 semillas y color (variables no destructivas) son para maíces con un color azul/morado, lo cual agrega validez para usarse como criterios de selección en un programa de mejoramiento genético de maíces azules en el que interese el contenido de AT.

Las variables AT y FST mostraron una correlación positiva y altamente significativa con la AA evaluada mediante el porcentaje de DPPH reducido. Estos resultados coinciden con los reportados por Adom y Liu (2002) y de la Parra *et al.* (2007) de que los fenoles son los responsables de la AA del grano de maíz, y en los maíces con pigmentos antocianos las antocianinas contribuyen más (Zilic *et al.*, 2012).

### Perfil de antocianinas y antocianidinas en el grano de maíces azul/morado

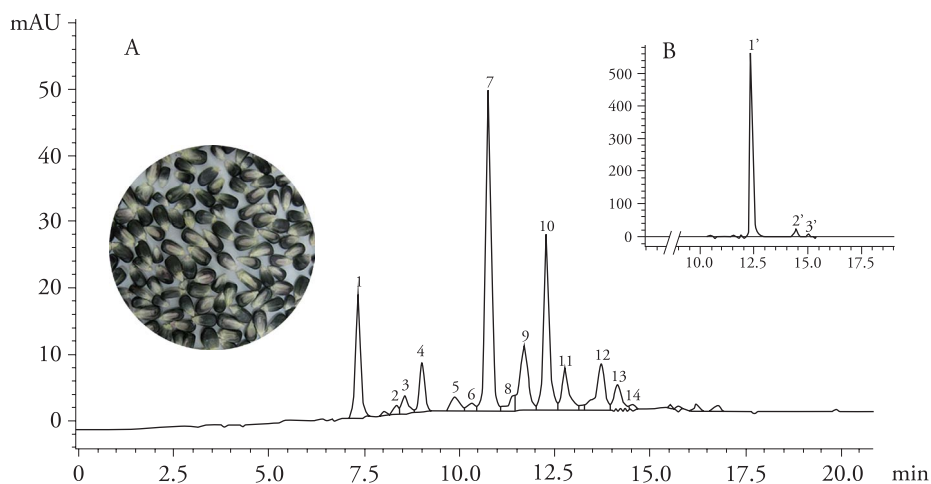
El perfil de antocianinas observado en el grano azul/morado de las razas de maíz CHAL, EC y BOL fue parecido, con la presencia de hasta 14 picos (Figuras 1-3). Los picos predominantes fueron 7 y 10 que corresponden a las antocianinas cianidina 3- malonil

Luminosity (L) and chrome (Cr) showed a higher correlation with phenolic variables and the AA; the  $h^\circ$  variable, related with the tone of color, showed lower correlations. This means that in samples of blue/purple grains, those with the lowest values of L and Cr will have higher contents of AT and TSP. The correlation values between the non-destructive variables (weight of 100 seeds and color) for blue/purple maize grains and the AT content could be used as selection criteria in breeding programs for blue corns where the AT content is of interest.

The AT and TSP variables showed a positive and highly significant correlation with the AA evaluated through the percentage of DPPH reduced. These results agree with those reported by Adom and Liu (2002) and de la Parra *et al.* (2007) in that phenols are responsible for the maize grain AA, and in maize grains with anthocyanin pigments, anthocyanins contribute the most (Zilic *et al.*, 2012).

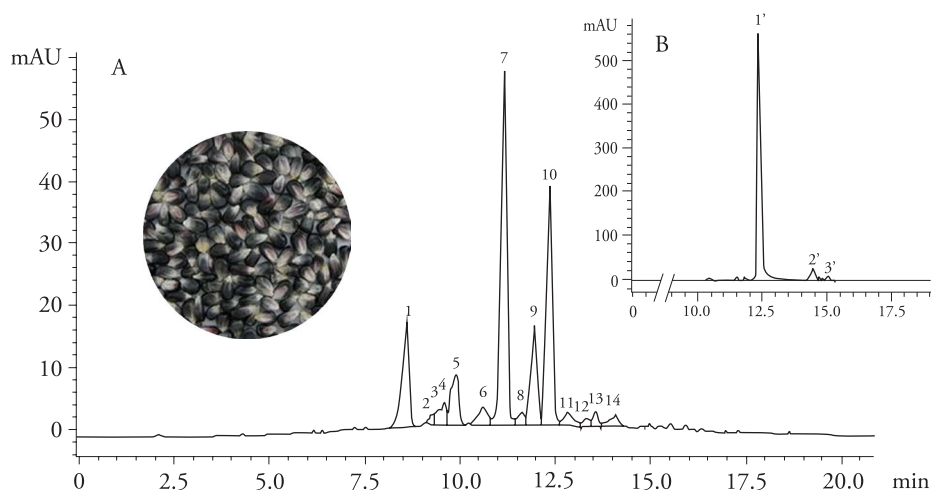
### Anthocyanin and anthocyanidin profile in blue/purple maize grains

The anthocyanin profile observed in the blue/purple grain of CHAL, EC and BOL maize races was similar, with the presence of up to 14 peaks (Figures 1-3). The predominant peaks were 7 and 10, which correspond to the anthocyanins cyanidin 3-malonil



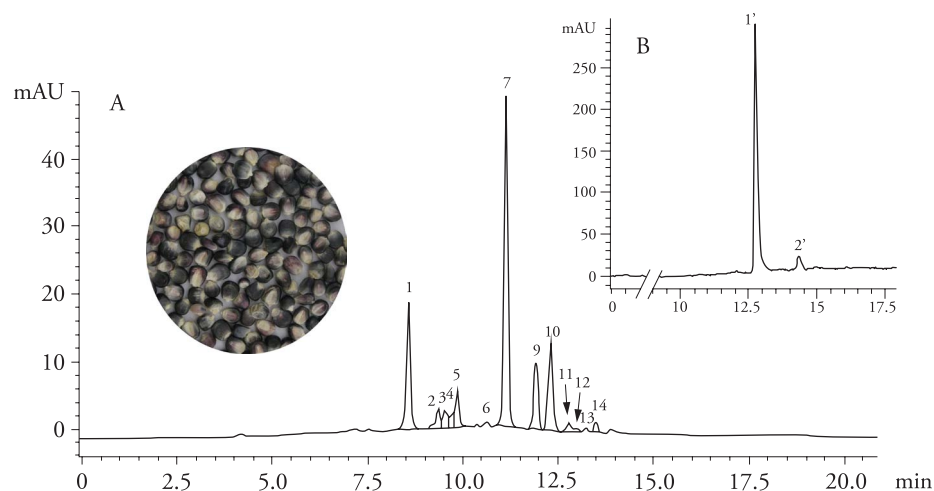
**Figura 1. Cromatogramas de antocianinas (A) y antocianidinas (B) del grano de maíz azul/morado de la raza Chalqueño. La identidad de cada uno de los picos se presenta en el Cuadro 5.**

**Figura 1. HPLC chromatograms for anthocyanins (A) and anthocyanidins (B) of blue/purple maize grain of Chalqueño race. The identity for each of the peaks is presented in Table 5.**



**Figura 2.** Cromatogramas de antocianinas (A) y antocianidinas (B) del grano de maíz azul/morado de la raza Elotes Cónicos.

**Figure 2.** HPLC chromatograms for anthocyanins (A) and anthocyanidins (B) of the blue/purple maize grain of Elotes Cónicos race.



**Figura 3.** Cromatogramas de antocianinas (A) y antocianidinas (B) del grano de maíz azul/morado de la raza Bolita.

**Figure 3.** HPLC chromatograms for anthocyanins (A) and anthocyanidins (B) of the blue/purple maize grain of Bolita race.

glucósido y cianidina 3-dimalonil-glucósido (Cuadro 5). La suma de los porcentajes relativos de área promedio de las antocianinas aciladas, en las razas de maíz fue 63.4 %, el cual es más alto que el informado para maíces de grano color magenta, con pigmento en pericarpio y en capa de aleurona, y es el tipo de grano con pigmentos antocianos más estudiado (Yang y Zhai, 2011; Montilla *et al.*, 2011; Zilic *et al.*, 2012). Se ha descrito el perfil completo de antocianinas para

glucoside and cyanidin 3-dimalonil glucoside (Table 5). The sum of the relative percentages of the average area of acylated anthocyanins, in the maize races, was 63.4 %. This value is higher than the one reported for magenta colored maize grains, with pigment in the pericarp and the aleurone layer, and that is the type of grain with anthocyanin pigments that has been most widely studied (Yang and Zhai, 2011; Montilla *et al.*, 2011; Zilic *et al.*, 2012). The complete

**Cuadro 5. Datos cromatográficos e identidad de las antocianinas y antocianidinas presentes en el grano azul/morado de tres razas de maíz.****Table 5. Chromatographic data and identity of anthocyanins and anthocyanidins present in the blue/purple grain of three maize races.**

Pico	Tiempo de retención (min)	Identidad del compuesto	EC <sup>†</sup>	CHAL	BOL
1	8.8	Cianidina 3-glucósido	•	•	•
2	9.3	Pelargonidina 3-glucósido	•	•	•
3	9.5	Cianidina 3-malonilglucósido <sup>‡</sup>	•	•	•
4	9.9	No identificado			
5	10.5	Peonidina 3-glucósido	•	•	
6	10.8	Cianidina 3-malonilglucósido <sup>‡</sup>	•	•	•
7	11.3	Cianidina 3-malonilglucósido (pico mayoritario)	•	•	•
8	11.7	Cianidina 3-metilmalonil glucósido <sup>§</sup>	•	•	
9	12	Pelargonidina 3-malonil glucósido	•	•	•
10	12.4	Cianidina 3-dimalonil glucósido	•	•	•
11	12.8	Cianidina 3-succinil-glucósido	•	•	
12	13.4	Cianidina 3-cafeil-glucósido	•	•	•
13	13.7	Cianidina 3 metilmalonil-malonil glucósido <sup>§</sup>	•	•	
14	14.2	No identificado			
1'	12.7	Cianidina	•	•	•
2'	15.6	Pelargonidina	•	•	•
3'	16.3	Peonidina	•	•	

<sup>†</sup>EC = Elotes Cónicos; CHAL = Chalqueño; BOL = Bolita. <sup>‡</sup>Se consideran isómeros del pico mayoritario de tiempo de retención 11.3 min. <sup>§</sup>Se consideran como artefactos, esto es compuestos que se forman durante el proceso de extracción y análisis. <sup>¶</sup>EC = Elotes Cónicos; CHAL = Chalqueño; BOL = Bolita. <sup>¶</sup>They are considered isomers of the majority peak of retention time 11.3 min. <sup>§</sup>They are considered artifacts, that is, compounds formed during the extraction and analysis process.

este color de grano, con la identificación de entre 7 y 11 antocianinas diferentes, con predominio de cianidina 3-glucósido, que es una antocianina no acilada.

Las antocianinas no aciladas se consideran más inestables a pH y temperatura que las aciladas (de Pascual-Teresa *et al.*, (2003), por lo que los maíces azul/morado analizados en el presente estudio podrían presentar ventajas durante los procesos de transformación hacia productos de consumo alimenticio con relación a los granos rojo magenta.

La hidrólisis ácida del extracto de antocianinas permite obtener las agliconas o antocianidinas (de Pascual-Teresa *et al.*, 2003). En los maíces analizados el cromatograma de agliconas mostró que la mayor proporción de antocianinas deriva de cianidina (87 %), dato respaldado con la información del Cuadro 5 en el cual se aprecia que 9 de las 14 antocianinas presentes en maíz azul/morado corresponden a derivados de cianidina. Destaca también que en el maíz azul/morado de la raza Bolita no se presenta la antocianina peonidina 3-glucósido, que si está presente en el de las razas Chalqueño y Elotes

anthocyanin profile has been described for this color of grain, with the identification of between 7 and 11 different anthocyanins, with a predominance of cyanidin 3-glucoside, which is a non-acylated anthocyanin.

The non-acylated anthocyanins are considered more unstable to pH and temperature than the acylated ones (de Pascual-Teresa *et al.*, 2003). The predominance of acylated anthocyanins in the blue/purple maize samples analyzed in this study could present advantages during processes of transformation for food consumption products with regards to the magenta grains.

The acid hydrolysis of the anthocyanin extract allows obtaining aglycones or anthocyanidins (de Pascual-Teresa *et al.*, 2003). In the maize samples analyzed, the aglycone chromatogram showed that the greatest proportion of anthocyanins is derived from cyanidin (87 %), this piece of data is supported with information from Table 5 which shows that 9 out of the 14 anthocyanins present in blue/purple maize correspond to cyanidin derivatives. It is also

Cónicos. Salinas *et al.* (1999) reportan que muestras de grano azul provenientes de diferentes razas comparten un mismo perfil de agliconas. Sin embargo, en el presente estudio, con un número mayor de muestras de maíz azul/morado analizadas, se observó que la raza BOL no tiene peonidina (Figura 3B), la cual está presente en el perfil de agliconas de las razas CHAL y EC (Figuras 1B y 2B).

De acuerdo con los resultados sobre la composición de las antocianinas en las muestras de grano azul/morado de las tres razas de maíz, la menor AA observada en los extractos de las muestras de la raza BOL puede explicarse por su menor contenido de AT más que por diferencias de las antocianinas en el extracto.

## CONCLUSIONES

En el grano de maíz azul/morado existe variabilidad para antocianinas totales y actividad antioxidante entre razas de maíz, sin embargo, la raza influye en el perfil de antocianinas o agliconas. La selección de maíces de grano azul/morado para elaborar productos alimenticios con elevado contenido de antioxidantes puede apoyarse en el peso de 100 semillas y color del grano que guardan una elevada correlación con el contenido de antocianinas totales.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo del Instituto de Ciencia y Tecnología del Distrito Federal para la realización parcial de este estudio a través del proyecto con clave PICSO10-53.

## LITERATURA CITADA

- Abdel-Aal, E.-S. M., and P. A. Hucl. 1999. A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. *Cereal Chem.* 76: 350-354.
- Aoki, H., N. Kuze, and Y. Kato. 2002. Anthocyanins isolated from purple corn (*Zea mays* L.). *Foods & Food Ingredients J. Japan* 199: 41-45.
- Betran, J., A. J. Bocholt, and L. W. Rooney. 2000. Blue corn. *In: Hallauer, A. R. (ed). Speciality Corns.* CRC Press: Boca Raton, FL. pp: 393-301.
- Cai, Y. Z., M. Sun, and H. Corke. 2003. Antioxidant activity of betalains from plants of the Amaranthaceae. *J. Agric. Food Chem.* 51: 2288-2294.
- de la Parra, C., S. O. Serna-Saldivar, and R. H. Liu. 2008. Effect of processing on the phytochemical profiles and antioxidant activity of corn for production of masa, tortillas, and tortilla chips. *J. Agric. Food Chem.* 55: 4177-4183.

noteworthy that in blue/purple maize of the BOL race, the anthocyanin peonidin 3-glucoside is not present, which is present in the CHAL and EC races. Salinas *et al.* (1999) reported that blue maize samples from different races share the same aglycone profile; however, in the present study, with a high number of blue/purple maize samples analyzed, it was observed that the BOL race does not have peonidin (Figure 3B), which is present in the aglycone profiles of CHAL and EC races (figures 1B and 2B).

According to the results about the anthocyanin composition in the blue/purple grain samples from the three maize races, the lower AA observed in the extracts of the samples of the BOL race can be explained by the lower AT content, rather than by differences in anthocyanins in the extract.

## CONCLUSIONS

In the blue/purple maize grain there is variability for total anthocyanins and antioxidant activity among maize races; however, the race does influence the anthocyanin profile. The selection of maize with blue/purple grains for the elaboration of food products with high antioxidant content can be supported by the weight of 100 seeds and the grain color, which have a high correlation with the total anthocyanin content.

—End of the English version—



- de Pascual-Teresa, S., C. Santos-Buelga, and J. C. Rivas-Gonzalo. 2002. LC-MS analysis of anthocyanins from purple corn cob. *J. Agric. Food Chem.* 82: 1003-1006.
- Fossen, T., R. Slimestad, and Ø. M. Andersen. 2001. Anthocyanins from maize (*Zea mays*) and reed canarygrass (*Phalaris arundinacea*). *J. Agric. Food Chem.* 49: 2318-2321.
- Gonzalez-Manzano, S., J. J. Perez-Alonso, Y. Salinas-Moreno, N. Mateus, A. M. S. Silva, V. de Freitas, and C. Santos-Buelga. 2008. Flavanol – anthocyanin pigments in corn: NMR characterization and presence in different purple corn varieties. *J. Food Composition and Analysis* 21: 521-526.
- Harborne, J. B., and R. Self. 1987. Malonated cyanidin 3 glucosides in *Zea mays* and other grasses. *Phytochemistry* 26, 2417-2418.
- Jing, P., J. A. Bomser, S. J. Schwartz, J. He, B. A. Magnuson, and M. M. Giusti. 2008. Structure–function relationships of anthocyanins from various anthocyanin-rich extracts on the inhibition of colon cancer cell growth. *J. Agric. Food Chem.* 56: 9391-9398.



- Liu, R. H. 2007. Whole grain phytochemicals and health. *J. Cereal Sci.* 46: 207-219.
- Lopez-Martinez, L. X., R. M., Oliart-Ros, G. Valerio-Alfaro, C. H. Lee, K. L. Parkin, and S. H. Garcia. 2009. Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *LWT-Food Sci. Technol.* 42: 1187-1192.
- McGuire, G. R. 1992. Reporting of objective color measurements. *HortScience* 27: 1254-1255.
- Montilla, C. E., S. Hillebrand, A. Antezana, and P. Winterhalter. 2011. Soluble and bound phenolic compounds in different Bolivian purple corn (*Zea mays* L.) cultivars. *J. Agric. Food Chem.* 59: 7068-7074.
- Pedreschi, R., and L. Cisneros-Zevallos. 2007. Phenolic profiles of Andean purple corn (*Zea mays* L.). *Food Chem.* 100: 956-963.
- Salinas, M. Y., F. J. Cruz Ch., S. A. Díaz O., y F. Castillo G. 2012. Granos de maíces pigmentados de Chiapas, características físicas, contenido de antocianinas y valor nutracéutico. *Rev. Fitotec. Mex.* 35: 33-41.
- Salinas-Moreno, Y., G. Salas-Sánchez, D. Rubio-Hernández, and N. Ramos-Lobato. 2005. Characterization of anthocyanin extracts from maize kernels. *J. Chromat. Sci.* 43: 483-487.
- Salinas, M. Y., J. J. López-Reynoso, G. B. González-Flores, y G. Vázquez-Carrillo. 2007. Compuestos fenólicos del grano de maíz y su relación con el oscurecimiento de masa y tortilla. *Agrociencia* 41: 295-305.
- Salinas M. Y., M. Soto H., F. Martínez B., V. González H., y R. Ortega P. 1999. Análisis de antocianinas en maíces de grano azul y rojo provenientes de cuatro razas. *Rev. Fitotec. Mex.* 22: 161-174.
- SAS Institute Inc. (2002). SAS/STAT® user's guide. Version 9.0. Cary, NC. USA.
- Singleton, V. L., and J. J. A. Rossi. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16: 144-158.
- Wellhausen, E. J., L. M. Roberts, E. Hernández X., and P. C. Mangelsdorf. 1951. Razas de maíz en México. Su origen, características y distribución. *In: Xolocotzia, Obras de Efraim Hernández Xolocotzi.* *Rev. Geografía Agríc.* Tomo II, 1987. Universidad Autónoma Chapingo. pp: 609-732.
- Yang, S., and W. Shai. 2011. Identification and antioxidant activity of anthocyanins extracted from the seed and cob of purple corn (*Zea mays* L.). *Innovative Food Sci. Emerging Technol.* 11: 169-176.
- Zhao, X., C. Zhang, C. Guigas, Yue Ma, M. Corrales, B. Tauscher, and X. Hu. 2009. Composition, antimicrobial activity, and antiproliferative capacity of anthocyanin extracts of purple corn (*Zea mays* L.) from China. *Eur. Food Res. Technol.* 228: 759-765.
- Zilic, S., A. Serpen, G. Akillioglu, V. Gökmen, and J. Vancetovic. 2012. Phenolic compounds, carotenoids, anthocyanins, and antioxidant capacity of colored maize (*Zea mays* L.) kernels. *J. Agric. Food Chem.* 60: 1224-1231.