

## Antocianinas y color en grano y olote de maíz morado peruano cultivado en Jalisco, México

Ángel Daniel Aguilar-Hernández<sup>1</sup>

Yolanda Salinas-Moreno<sup>2§</sup>

José Luis Ramírez-Díaz<sup>2</sup>

Ivone Alemán-De la Torre<sup>2</sup>

Edgardo Bautista-Ramírez<sup>2</sup>

Hugo Ernesto Flores-López<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ingeniería Agroindustrial-Universidad Autónoma Chapingo. Carretera México-Texcoco, km 38.5, Chapingo, Estado de México, México. CP. 56230. (andaaghe.94@hotmail.com). <sup>2</sup>Campo Experimental Centro Altos de Jalisco-INIFAP. Av. Biodiversidad núm. 2470, Col. Las Cruces, Tepatitlán, Jalisco, México. CP. 47600. (ramirez.joseluis@inifap.gob.mx; bautista.edgardo@inifap.gob.mx; flores.hugo@inifap.gob.mx).

§Autora para correspondencia: salinas.yolanda@inifap.gob.mx.

### Resumen

El grano y olote de maíz (*Zea mays* L.) de color morado son fuente de pigmentos, que pueden sustituir a los colorantes artificiales. El objetivo fue determinar el efecto del ambiente (temperatura) de producción de semilla en el contenido de antocianinas en grano (CATg) y olote (CATo) y su correlación en una población de maíz morado de Perú. Los ambientes de producción de semilla fueron Tepatitlán y La Huerta, Jalisco, México. Las semillas de los dos ambientes se sembraron en el ciclo PV 2015 en Tepatitlán, Jalisco. Se polinizaron de 100 a 130 plantas. A la cosecha, las mazorcas sanas y con el color de grano morado intenso, fueron analizadas por CATg y CATo mediante espectrofotometría. Se hizo un análisis de varianza y correlación de Person. El ambiente de producción de semilla afectó de manera significativa ( $p \leq 0.05$ ) los contenidos de antocianinas en grano y olote. La semilla obtenida en Tepatitlán (temperatura. media 19.1 °C) presentó un CATg de 496.3 mg equivalentes de cianidina 3-glucósido en 100 g de muestra seca, que fue 57.6% superior al de la semilla procedente de La Huerta (temp. media 25.4 °C). El olote presentó entre 48 y 70% más antocianinas que el grano y perfil cromatográfico similar entre grano y olote. La correlación entre las variables de color de grano y el CATg no fue significativa ( $p \geq 0.05$ ). Pero, la correlación negativa del valor de croma con CATo fue altamente significativa ( $r = -0.5484^{**}$ ) por lo que podría ser estimador del CAT en esta estructura.

**Palabras clave:** *Zea mays* L., grano, maíz morado, olote, pigmentos, temperatura.

Recibido: mayo de 2019

Aceptado: agosto de 2019

## Introducción

El interés por alimentos libres de colorantes artificiales ha incrementado, posiblemente por la crítica a la inocuidad de algunos de los colorantes sintéticos, particularmente el rojo allura (rojo 40), el rojo 3 y rojo 4, que se relacionan con la hiperactividad en niños (Arnold *et al.*, 2012). Las antocianinas son compuestos fenólicos responsables de los colores en la tonalidad rosa a morado, que presentan flores y frutos. Las antocianinas se pueden obtener del grano de algunas variedades de maíz (*Zea mays* L.) en las que se encuentran en cantidades elevadas por lo que pueden ser fuentes de pigmentos naturales para sustituir algunos colorantes sintéticos usados en los alimentos.

El contenido de antocianinas totales (CAT) en el grano de maíz varía de acuerdo al color del grano y el genotipo, los granos de color morado intenso tienen mayor CAT que los granos azules, morados o rojos (Espinosa *et al.*, 2009). En maíces mexicanos, 21 accesiones de la raza Olotillo, con grano azul-morado, mostraron una variación en CAT entre 276 y 904 mg equivalentes de cianidina 3-glucósido (ECG)  $\text{kg}^{-1}$  de muestra seca (MS) (Salinas-Moreno *et al.*, 2012a), mientras que, en seis accesiones de la raza Elotes Cónicos, con este mismo color de grano (azul morado), la variación fue de 997-1332.2 mg ECG  $\text{kg}^{-1}$  MS (Salinas-Moreno *et al.*, 2012b).

En granos de líneas  $S_2$  derivadas de la población de maíz morado de San Juan Ixtenco, Tlaxcala, se reportaron valores entre 130 y 3090 mg ECG  $\text{kg}^{-1}$  de muestra, duplicando lo obtenido en maíces de grano azul-morado (Mendoza-Mendoza *et al.*, 2017); sin embargo, el contenido fue inferior a lo cuantificado en olote de maíz morado del Perú que osciló entre 2 900 y 1 3330 ECG  $\text{kg}^{-1}$  de muestra, que se valora como posible fuente comercial de pigmentos (Yang y Zhai, 2010).

El maíz morado es una variedad común en Ecuador y Perú (Jing *et al.*, 2007) utilizado para la extracción comercial de antocianinas del grano y olote, para su uso en alimentos (Yang y Zhai, 2010). Algunas variedades de este se han desarrollado para aprovechar este fin en diferentes regiones del mundo (Zhao *et al.*, 2009; Lago *et al.*, 2014). Por ello, aunque en México existe una gran diversidad de maíces nativos con antocianinas en grano y olote, es preferible usar un material exótico como donador para acelerar el proceso de obtención de variedades con alto CAT.

La síntesis y acumulación de antocianinas son procesos gobernados por la información genética del material y la interacción con su ambiente (Gazula *et al.*, 2005). De los factores ambientales, los de mayor impacto en el proceso de biosíntesis de antocianinas son la temperatura y luminosidad (Jaakola, 2013). En maíz morado, la temperatura alta reduce la acumulación de antocianinas, en tanto que su síntesis se incrementa en temperaturas bajas (Jing *et al.*, 2007).

En el mejoramiento genético de maíz, dos ciclos por año son relevantes para acortar el tiempo de obtención de variedades mejoradas (Ramírez *et al.*, 2015). Sin embargo, se desconoce el efecto que pueda tener el incremento y selección de maíces de color morado en el ciclo agrícola otoño-invierno, donde se eleva la temperatura en abril y mayo, lo que puede afectar la síntesis y acumulación de antocianinas.

Los objetivos del estudio fueron: a) determinar el efecto del ambiente de producción de la semilla en el contenido de antocianinas en grano (CATg) y olote (CATo) de una población de maíz morado del Perú, bajo la hipótesis de que el efecto que tiene el ambiente de producción de la semilla sobre

las variables CATg y CATo no se heredan a su filial; y b) analizar la relación de las variables de color en grano y olote, con el contenido de antocianinas, para valorar si es posible realizar selección por color de grano para contenido de antocianinas.

## **Materiales y métodos**

### **Incremento del material vegetal**

Se partió de una muestra de 1 kg de la población de maíz morado de origen peruano 'Kculli', proporcionada por la empresa Alteca, SA de CV, ubicada en Huamantla, Tlaxcala.

Esta muestra se multiplicó, mediante cruza fraternal en el ciclo primavera-verano (PV) 2014, en condiciones de temporal en el Campo Experimental Centro-Altos de Jalisco (CECAJ) del INIFAP, ubicado en el municipio de Tepatitlán de Morelos, Jalisco a 1900 m de altitud, en las coordenadas geográficas 20° 49' 01'' latitud norte y 102° 43' 59'' longitud oeste. Una muestra de la semilla que se obtuvo en el ciclo PV 2014, se multiplicó por cruza fraternal en el ciclo otoño-invierno (OI) 2014-2015, en condiciones de riego, en el Sitio Experimental Costa de Jalisco, ubicado en el municipio de La Huerta, Jalisco a 300 m de altitud en las coordenadas geográficas 19° 29' 00'' latitud norte y 104° 39' 00'' longitud oeste. Por lo que a la cosecha se tuvo maíz morado de origen peruano procedente de dos ambientes.

Las semillas procedentes de los dos ambientes se sembraron en el ciclo agrícola PV 2015 en el CECAJ en parcelas de seis surcos de 4 x 0.8 m. La multiplicación se realizó mediante cruza fraternal con la polinización entre 100 y 130 plantas. En la cosecha, se seleccionaron 26 mazorcas por sanidad de grano y color morado característico en grano y olote de la semilla procedente de la Huerta, Jalisco (284#), mientras que, de la semilla procedente de Tepatitlán, Jalisco se obtuvieron 17 mazorcas (283#). Los análisis subsiguientes se realizaron en granos y olotes de las mazorcas seleccionadas.

Las temperaturas máximas y mínimas que se presentaron desde la siembra hasta la cosecha de Kculli se obtuvieron de las estaciones climáticas de los campos experimentales donde se realizó el incremento de semilla.

### **Color en grano y olote de mazorcas seleccionadas**

El color ( $L^*$ , luminosidad,  $a^*$  y  $b^*$ ) se determinó en tres puntos diferentes de la parte media de cada mazorca con un colorímetro Hunter Lab MiniScan XE Plus® (Modelo 45/O-L) en escala CIELab. Los parámetros  $a^*$  y  $b^*$  se usaron para calcular el ángulo de tono (Hue°) y el índice de saturación de color (croma) (Jha, 2010).

### **Preparación de la muestra para su análisis**

La sección media de cada mazorca se desgranó manualmente. los granos por mazorca (entre 100 y 150), y la porción de olote correspondiente se colocaron en sobres de papel. Dicha muestra se utilizó para los análisis físicos de grano y CAT. Esta última determinación se realizó; a partir, de la harina obtenida de una muestra de 25 granos, a los que se les removió el germen de manera

manual con ayuda de un bisturí, ya que maíces de grano morado como 'Kculli' carecen de antocianinas en su germen y al eliminarlo se evita interferencia del aceite en la variable CAT. Los granos sin germen se molieron en un molino tipo ciclónico (UDY Corporacion, Cyclone sample mill USA) con malla de 0.5 mm. La porción de olote de la parte media de la mazorca se trituroó con un marro y se molió posteriormente en un molino Retsch (ZM200, 1215030814P, Alemania), con malla de 0.75 mm.

### **Análisis físicos realizados en las muestras de grano**

Se cuantificó el peso de 100 semillas (PCS) en una balanza semi-analítica (Sartorius BL610), con dos repeticiones por mazorca. Para el espesor de pericarpio (EP), se tomaron aleatoriamente 10 granos sanos que se remojaron en agua por 20 min a temperatura ambiente. Con ayuda de un bisturí se cortó el pedicelo y la corona, haciendo cortes laterales al grano para separar el pericarpio.

Se colocaron cinco capas de pericarpio de la porción opuesta al germen y se tomó la lectura en mm en la parte central del grupo de capas, con un micrómetro digital (Digimatic Mitutoyo 293). El resultado se dividió entre cinco para obtener el EP de una capa. Las metodologías de caracterización física de grano se aplicaron según lo descrito por Salinas y Vázquez (2006).

El tipo de endospermo se evaluó en los mismos 10 granos a los que se les removió el pericarpio, los cuales se cortaron en el plano longitudinal, para obtener dos mitades, que se clasificaron visualmente con base en la proporción del endospermo harinoso, de acuerdo con lo propuesto por Bedolla y Rooney (1982), donde: 1= 100% harinoso; 2= 75%; 3= 50%; 4= 25%; y 5= 100% cristalino.

### **Cuantificación del contenido de antocianinas totales en grano (CATg) y olote (CATo)**

En ambos casos (CATg y CATo) se utilizó la metodología descrita por Moreno *et al.* (2005). Se preparó una curva patrón de cianidina 3-glucósido (Extrasynthase, France) para expresar los resultados en mg equivalentes de cianidina 3-glucósido (ECG) en 100 g de muestra seca (MS).

### **Perfil de antocianinas en grano y olote de maíz morado por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)**

El análisis se realizó con la metodología de Fossen *et al.* (2001) y las modificaciones de Moreno *et al.* (2005). Se seleccionaron extractos de muestras de grano y olote con contenidos contrastantes de antocianinas de cada ambiente. Un par de muestras para cada procedencia de semilla. La identidad de los picos se realizó por comparación de los tiempos de retención y espectro del UV-visible de estándares comerciales de cianidina 3-glucósido (Cy 3-glu), pelargonidina 3-glucósido (Pg 3-glu) y peonidina 3-glucosido (Pn 3-glu) (Polyphenols, Nw) y considerando trabajos previos en el análisis del contenido de antocianinas en maíz morado (Moreno *et al.*, (2005; Cuevas-Montilla *et al.*, 2011).

La identificación de antocianinas de tipo acilado se logró al analizar la muestra después de una hidrólisis alcalina (de Pascual-Teresa *et al.*, 2002). Con esta hidrólisis las antocianinas aciladas se eliminan y no aparecen en el cromatograma.

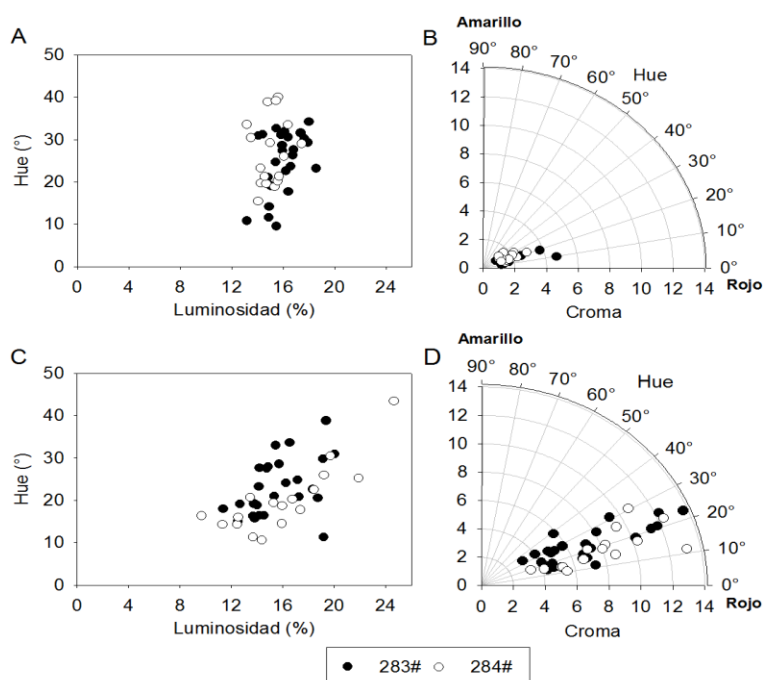
## Análisis estadístico de los datos

Los datos se analizaron bajo un diseño completamente al azar, en el que las poblaciones obtenidas de semillas procedentes de La Huerta y Tepatitlán, Jalisco se consideraron como tratamientos. Como repeticiones se consideró el número de mazorcas seleccionadas dentro de cada población, que fueron 26 y 17 mazorcas. Todas las variables se analizaron por duplicado. Con los datos de EP, PCS, CATg, CATo y las variables de color de grano y olote, se realizó un análisis de varianza por medio del procedimiento GLM del paquete SAS, versión 9.0. (SAS Institute, 2002). También se obtuvieron las pruebas de comparación múltiple de medias (Tukey,  $p \leq 0.05$ ). Con las variables de color en grano y olote, CATg y CATo se realizó un análisis de correlación de Pearson mediante el procedimiento CORR del paquete SAS, versión 9.0 (SAS Institute, 2002).

## Resultados y discusión

### Color de grano y olote

El Hue° del grano varió entre 9.53 a 34.15° (283#) y 15.38 a 39.97° en la 284#, los valores de L\* se ubicaron entre 13.2 a 18.56 % (283#) y 13.19 a 15.47 (284#), el croma varió desde 0.94 a 4.7 (283#) y 1.19 a 2.95 (284#). No se apreció una separación en la distribución de la variable Hue° para grano, por procedencia de semilla (Figuras 1A y 1B), aunque los granos con los valores más altos (cerca de 40°) se presentaron dentro de 284# y corresponde a un tono rojo naranja; los de valores más bajos (cerca de 10°) fueron los granos de 283# y corresponden a un tono rojo morado. La proporción de granos con tonalidades contrastantes fue baja y de manera general el grano presentó un color rojo-morado oscuro.



**Figura 1. Distribución en el plano hue-luminosidad para grano (A) y olote (C), en el plano hue-croma para grano (B) y olote (D) de las muestras provenientes de dos ambientes, evaluadas en Tepatitlán, Jalisco México.**

En olote, los valores Hue° variaron entre 11.34 y 38.77° (283#) y 10.64 a 43.47° (284#). Para L\* la variación fue entre 11.38 a 20.06 % (283#) y 9.71 a 24.66 % (284#), en tanto que croma varió de 3.13 a 13.7 (283#) y 3.3 a 14.98 (284#) (Figuras 1A y 1C). Las principales diferencias de color entre grano y olote se presentaron en L\* y croma, con valores más elevados en olote que en grano. Tanto grano y olote tienen el mismo tono de color, pero el olote es más oscuro e intenso.

Menores valores de croma indican tonos más oscuros y se asocian con mayor contenido de antocianinas (Salinas-Moreno *et al.*, 2012a). Los valores de croma observados en el grano de 283# y 284# fueron menores que los informados por Mendoza-Mendoza *et al.* (2017) para grano de líneas S<sub>2</sub> de la población de maíz morado de San Juan Ixtenco, Tlaxcala, probablemente debido a las diferencias genéticas que existen entre ambas poblaciones o por efectos de la formación de líneas y su selección.

### **Variables físicas del grano y contenido de antocianinas en grano y olote**

Los granos de las mazorcas de 283# y 284 # tuvieron un TE completamente harinoso, característica común en maíces con elevado contenido de antocianinas en el grano (Salinas-Moreno *et al.*, 2012a).

En maíces destinados a la extracción de pigmentos se desean granos con un endospermo vítreo  $\geq 50\%$  para facilitar la remoción mecánica de las capas periféricas ricas en pigmentos (Salinas-Moreno *et al.*, 2005). Por lo que, en un programa de mejoramiento de maíces pigmentados, se deben hacer cruzamientos con materiales de grano vítreo, que disminuyan la porción harinosa del endospermo.

El valor promedio de PCS fue de 38.2 g (283#) y 39.6 g (284#) (Cuadro 1), pesos superiores a los valores promedio reportados para los grupos raciales de México que se ubican entre 18.7 y 33 g (Figueroa-Cárdenas *et al.*, 2013). Lo deseable en maíces destinados a la extracción de pigmentos es PCS bajo, que se asocia con tamaño pequeño y mediano del grano, que permite mayor superficie de contacto por unidad de peso y mayor contenido de pigmento (Salinas-Moreno *et al.*, 2005).

El EP varió entre 84.2 y 255.7  $\mu\text{m}$  en la población 283#, y de 96.9 a 186.3  $\mu\text{m}$  en la 284#. Los valores promedio para cada origen de semilla se ubicaron por debajo de lo reportado por Cassani *et al.* (2017) en el pericarpio del grano de la variedad de maíz morado 'Nero Spinoso' cultivada en Italia que fue de  $173 \pm 12 \mu\text{m}$ , pero son superiores a los de Espinosa *et al.* (2009) de 109 y 107  $\mu\text{m}$  en muestras de maíz rojo con pigmento en pericarpio.

Los valores de CATg y CATo fueron estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ). El grano de la población 283# mostró un CATg 57.6% superior a la población 284# (Cuadro 1). En olote, esta diferencia fue 30% a favor de 283#. El contenido de antocianinas en olote fue mayor que en grano, tendencia similar reportado por Yang y Zhai (2010). En promedio, el olote de 283# presentó 48.7% más antocianinas que el grano, en tanto que en 284#, esta diferencia a favor del olote fue 70%.

Los valores obtenidos son mayores a los de Yang y Zhai (2010), para un híbrido de maíz morado cultivado en China, que fueron de  $55.8 \pm 1.5$  y  $92.3 \pm 2.1 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1} \text{ BS}$ , para grano y olote, respectivamente.

**Cuadro 1. Comparación de medias para peso de cien semillas (PCS), espesor de pericarpio (EP) y contenido de antocianinas totales en grano (CATg) y olote (CATo) de maíz morado peruano procedente de dos ambientes y evaluadas en Tepatitlán, Jalisco México.**

Parcela	Variable	PCS (g)	EP ( $\mu\text{m}$ )	CAT <sup>†</sup> g	CATo
283# (n=26)	Media	38.2 a	125.3 b	496.3 a	967.9 a
	Valor mínimo	19.4	84.2	185.8	97.5
	Valor máximo	57.5	255.7	1047.8	2147.2
284# (n=17)	Media	39.6 a	134.7 a	201.3 b	670 b
	Valor mínimo	26.7	96.9	36.9	21.9
	Valor máximo	55.2	186.3	816.8	2187.4
	DMS	1.36	5.65	7.08	2.58

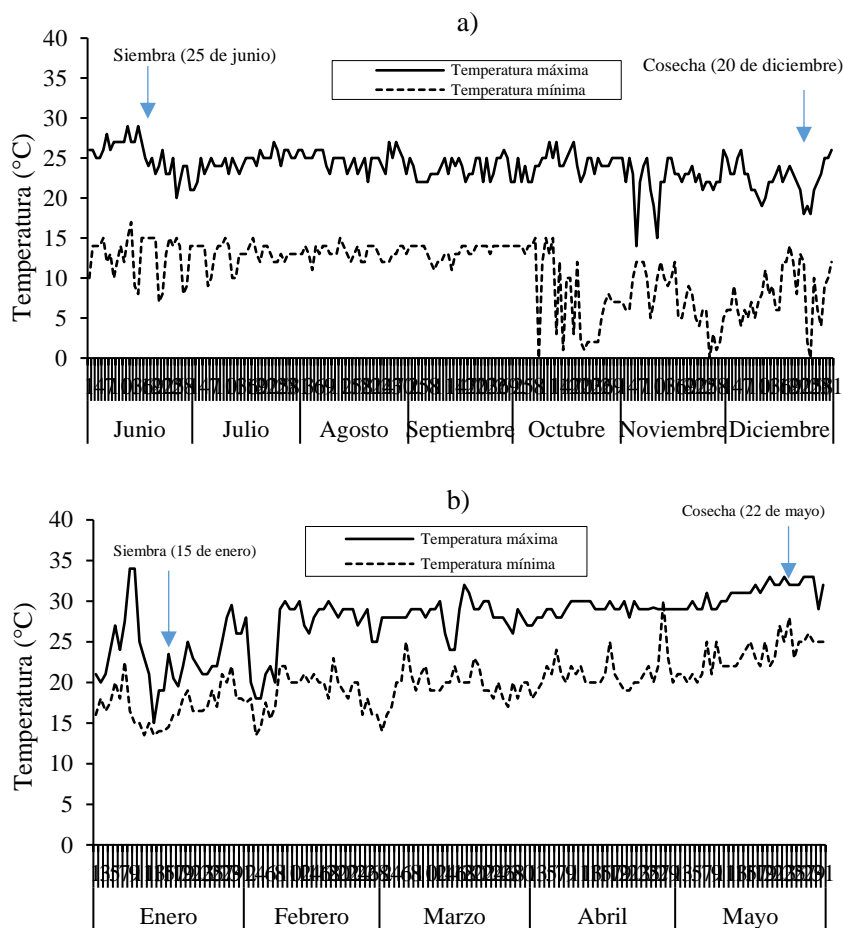
<sup>†</sup>= Los valores de CAT están expresados en mg ECG 100 g<sup>-1</sup> muestra seca; n= número de mazorcas seleccionadas; DMS= diferencia mínima significativa. Valores en la misma columna seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes (Tukey,  $p \leq 0.05$ ).

De las cuatro variables del Cuadro 1, CATg y CATo tuvieron una distribución más amplia respecto de su media, lo que revela una alta variabilidad entre las mazorcas analizadas. Lo anterior, se debe a que la población inicial es un segregante obtenida de polinización libre. Se observó mayor variabilidad en CAT que en características físicas del grano lo que se atribuye al número de genes que regulan cada característica y su interacción con el ambiente de evaluación y obtención de semilla.

Se esperaba que las filiales obtenidas en Tepatitlán, Jalisco de semillas procedentes de dos ambientes (La Huerta y Tepatitlán, Jalisco) tuvieran contenidos similares de antocianinas en grano y olote, pues se trata de la misma población y de una característica de efecto materno (Ron-Parra *et al.*, 2016), con diferente localidad de incremento, sin embargo, esto no ocurrió. Una posible explicación es el efecto de la temperatura diurna (~30 °C) y nocturna (~20 °C) prevalecientes en la Huerta, Jalisco (Figura 2), durante la formación y desarrollo del grano que modificaron la batería enzimática responsable de la síntesis y acumulación de antocianinas, cuya actividad no se recuperó al cultivar la semilla en Tepatitlán, que tiene condiciones de temperatura más favorables que en La Huerta. La duración del ciclo del cultivo en La Huerta fue de alrededor de cuatro meses, en tanto que en Tepatitlán fue de casi seis meses (Figura 2), lo cual está asociado con las temperaturas predominantes en cada sitio, afectando en forma significativa la síntesis de las antocianinas.

En la síntesis de antocianinas participan alrededor de 10 enzimas, de las cuales la inicial es la fenilalanina amonio liasa. De acuerdo a Chon *et al.* (2012) cuya actividad es mayor en condiciones de bajas temperaturas tanto diurnas como nocturnas (20/13°C).

La temperatura y luz (intensidad, calidad y duración) son relevantes para la síntesis y acumulación de antocianinas, ya que afectan los factores de transcripción relacionados con estos procesos (Jaakola, 2013). Los genes asociados con la regulación de síntesis de antocianinas como respuesta a temperatura son independientes de los que regulan la expresión ante luminosidad (Azuma *et al.*, 2012). En el cultivo de uva, se ha observado mayor acumulación de antocianinas bajo condiciones de alta luminosidad y baja temperatura, que con alta luminosidad y temperatura elevada.



**Figura 2. Temperaturas máximas y mínimas desde la siembra a la cosecha de Kculli en Tepatitlán, Jalisco durante PV 2014 (a) y en la Huerta, Jalisco, durante el OI 2014-2015 (b).**

Los resultados obtenidos para CATg y CATo en la población de maíz morado peruano en los dos ambientes de multiplicación de la semilla indican que hay un efecto ‘residual’ de las altas temperaturas que se traduce en una baja síntesis y acumulación de antocianinas en el grano y olote; sin embargo, es necesario realizar mayor investigación para determinar la conveniencia de utilizar el ciclo OI, dentro de un programa de mejoramiento genético de maíz pigmentado.

Si bien, la multiplicación de la semilla de maíz en los dos sitios considerados se realizó en diferentes regímenes de humedad: riego en La Huerta y temporal en Tepatitlán, reportes en cultivo de hortalizas indican que el impacto de la humedad en la acumulación de antocianinas es menor al obtenido por diferencias en temperatura y luminosidad (Biesiada y Tomczak, 2012).

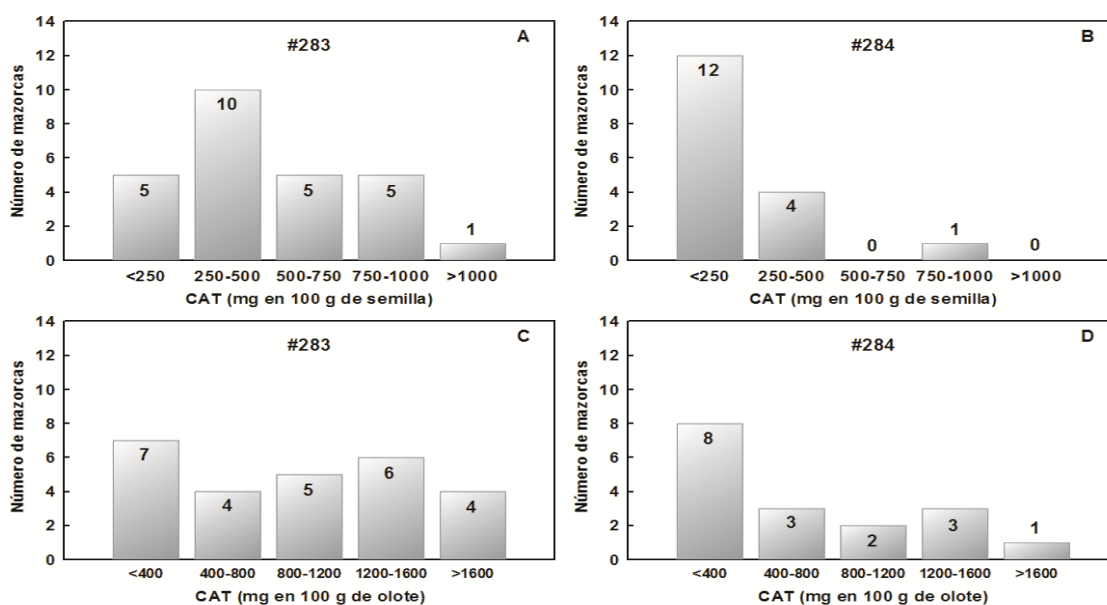
### **Distribución del contenido de antocianinas en grano y olote de las mazorcas analizadas**

Un 19.2% de los granos de las mazorcas de la parcela 283# se ubicó en el intervalo más bajo (0-250 mg ECG en 100 g MS), en tanto que 38.5% presentó valores en el intervalo inmediato superior (250-500 mg ECG en 100 g MS), en los intervalos 501-750 y 751-1000 mg ECG en 100 g MS se ubicó la misma proporción de muestras (19.2%) y una proporción muy baja (3.8%) se ubicó en el intervalo más elevado de contenido de antocianinas (>1000 mg ECG en 100 g MS) (Figura 3A).



Respecto a la población 284#, 70.5% de las mazorcas se colocó en el intervalo bajo (0-250) y 23.5% en el intervalo inmediato superior y solo una mazorca estuvo en el rango de 750 a 1 000 mg ECG en 100 g MS (Figura 3C). Lo anterior, se atribuye a que, en La Huerta, Jalisco la media en la temperatura mínima y máxima fue de 15 y 30 °C respectivamente, por lo que la semilla no acumuló antocianinas en sus vacuolas, condición que heredo a su filial cosechado en Tepatitlán, Jalisco en PV-2015.

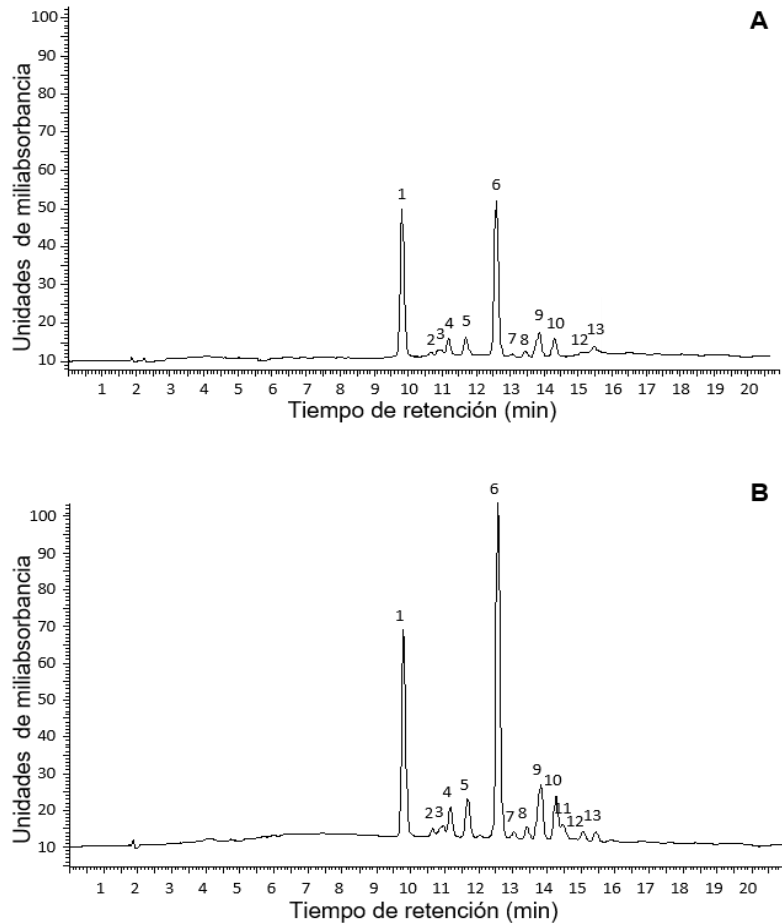
En el olote, 283# mostró una distribución uniforme de las muestras entre los diferentes intervalos de contenido de antocianinas (Figura 3C). Sin embargo, el olote de la parcela 284# se observó mayor proporción de muestras en el intervalo más bajo del contenido de antocianinas (Figura 3 D). Lo que probablemente se deba a las temperaturas de los ambientes de incremento de semilla.



**Figura 3. Distribución por intervalos del contenido de antocianinas (CAT, mg en 100 g de muestra seca) en grano (A y B) y olote (C y D) en los orígenes de semilla de Tepatitlán (283#) y la Huerta (284#).**

### Perfil cromatográfico de antocianinas en grano y olote

Tanto en grano, como en olote se separaron 13 tipos de antocianinas (Figura 4 A y B), de las cuales los picos 1, 4, y 5 corresponden a antocianinas simples glicosiladas, los demás picos pertenecen a antocianinas de tipo acilado. La diferencia en el perfil de antocianinas entre grano y olote fue en el porcentaje relativo de las dos principales antocianinas (picos 1 y 6) que corresponden a cianidina 3-glucósido y cianidina-3-(6'' malonil glucósido). En grano, las proporciones relativas de área de estas dos antocianinas fueron similares, mientras que en olote predominó cianidina-3-(6'' malonil glucósido). Los resultados obtenidos en los perfiles de antocianinas para grano coinciden con los informados por Cuevas-Montilla *et al.* (2011) para grano de maíz morado de origen Andino variedad Kculli, pero difieren con lo informado por Yang y Zhai (2010) quienes reportaron tres y siete antocianinas en los extractos de grano y olote respectivamente, en un híbrido de maíz morado cultivado en China. Las diferencias se pueden atribuir a la estructura genética del cultivar, sitio de producción y protocolo de análisis aplicado.



**Figura 4. Perfiles cromatográficos de grano (A) y olote (B) de las poblaciones de maíz morado.** Identidad de los picos: 1) cianidina 3-glucósido; 2) cianidina 3-malonilglucósido\*; 3) cianidina 3-malonilglucósido\*; 4) pelargonidina 3-glucósido; 5) peonidina 3-glucósido; 6) cianidina-3-(6''malonilglucósido); 7 y 8) antocianinas aciladas; 9) coeluyen pelargonidina-3-(6''-malonilglucósido y peonidina-3-(6''-malonilglucósido); 10) cianidina-3-dimalonilglucosido; 11) antocianina acilada; 12) pelargonidina 3-dimalonilglucósido; y 13) peonidina 3-dimalonilglucósido. \* = se consideran isómeros.

### Correlación del color con el contenido de antocianinas

De las variables de color en grano, ninguna presentó correlación significativa con el CAT en esta estructura. La luminosidad del olote (Lo) presentó una correlación negativa con el CATo en esta estructura ( $r = -0.3389^{**}$ ); también la variable croma mostró correlación negativa, y altamente significativa, con el CATo ( $r = -0.5484^{**}$ ) (datos no mostrados). Estos resultados indican que al ser más bajos los valores de luminosidad y croma en el olote, mayor será su CAT.

La correlación entre CAT de grano y olote, aunque significativa, fue baja ( $r = 0.2211^*$ ), por lo que la selección de genotipos con elevado CAT en grano no asegura que el olote también tenga un CAT elevado y viceversa.

## Conclusiones

El ambiente donde se incrementó la semilla tuvo efecto significativo en el contenido de antocianinas en grano y olote de la población de maíz morado analizada, con un mayor contenido en el grano incrementado en Tepatitlán, Jalisco. El olote de la población de maíz morado Kculli posee mayor contenido de antocianinas que el grano, con un perfil cromatográfico similar entre ambas estructuras, pero con diferencias en la proporción de las dos antocianinas predominantes. No es posible utilizar alguna de las variables de color en grano como criterio para seleccionar muestras de maíz morado por contenido de antocianinas al no existir correlación significativa entre las variables. Para olote, las correlaciones negativas significativas de la luminosidad y el croma con su contenido de antocianinas, hace posible la selección para contenido de antocianinas a través de cualquiera de estas variables.

## Literatura citada

- Arnold, L. E.; Lofthouse N. and E. Hurt. 2012. Artificial food colors and attention-deficit/hyperactivity symptoms: Conclusions to die for. *Neurotherapeutics*. 9(3):599-609. doi: 10.1007/s13311-012-0133-x.
- Azuma, A.; Yakushiji H.; Koshita Y. and Kobayashi. S. 2012. Flavonoid biosynthesis-related genes in grape skin are differentially regulated by temperature and light conditions. *Planta* 236(4):1067-1080. doi: s00425-012-1650-x.
- Bedolla, S. and Rooney, L. W. 1982. Cooking maize for masa production. *Cereals Food World* 27(5):219-221.
- Biesiada, A. and Tomczak, A. 2012. Biotic and abiotic factors affecting the content of the chosen antioxidant compounds in vegetables. *Vegetable and Crops Research Bulletin*. 76(1):55-78. doi: 10.2478/v10032-012-0004-3.
- Cassani, E.; Puglisi, D.; Cantaluppi, E.; Landoni, M.; Giupponi, L.; Giorgi, A. and Puli, A. 2017. Genetic studies regarding the control of seed pigmentation of an ancient European pointed maize (*Zea mays* L.) rich in phlobaphenes: the 'Nero Spinoso' from the Camonica valley. *Genetic Res. Crop Evol.* 64(4):761-773. doi: 10.1007/s10722-016-0399-7.
- Chon, S. U.; Boo, H. O.; Heo, B. G. and Gorinstein, S. 2012. Anthocyanin content and the activities of polyphenol oxidase, peroxidase and phenylalanine ammonia-lyase in lettuce cultivars. *Inter. J. Food Sci. Nutr.* 63(1):45-48. doi: 10.3109/09637486.2011.595704.
- Cuevas, M. E.; Hillebrand, S.; Antezana, A. and Winterhalter, P. 2011. Soluble and bound phenolic compounds in different bolivian purple corn (*Zea mays* L.) cultivars. *J. Agric. Food Chem.* 59(13):7068-7074. doi: 10.1021/jf201061x.
- Pascual-Teresa, S.; Santos-Buelga, C. and Rivas-Gonzalo, J. C. 2002. LC-MS analysis of anthocyanins from purple corn cob. *J. Sci. Food Agric.* 82(9):1003-1006. doi: 10.1002/jsfa.1143.
- Espinosa, T. E.; Mendoza, C. M. del C.; Castillo, G. F.; Ortiz, C. J.; Delgado, A. A. y Carrillo, S. A. 2009. Acumulación de antocianinas en pericarpio y aleurona del grano y sus efectos genéticos en poblaciones criollas de maíz pigmentado. *Rev. Fitotec. Mex.* 32(4):303-309.
- Figuroa-Cárdenas, J. D.; Narváez-González, D. E.; Mauricio-Sánchez, A.; Suketoshi, T.; Gaytán-Martínez, M.; Véles-Medina, J. J.; Rincón-Sánchez, F. y Aragón-Cuevas, F. 2013. Propiedades físicas del grano y calidad de los grupos raciales de maíces nativos (criollos) de México. *Rev. Fitotec. Mex.* 36 (3-A):305-314.

- Fossen, T.; Slimestad R. and Andersen O. M. 2001. Anthocyanins from maize (*Zea mays* L.) and reed canarygrass (*Phalaris arundinacea*). J. Agric. Food Chem. 49(5):2318-2321. doi: 10.1021/jf001399d.
- Gazula, A.; Kleinhenz, M. D.; Streeter, J. G. M. D. and Miller, A. R. 2005. Temperature and cultivar effects on anthocyanin and chlorophyll b concentrations in three related Lollo Rosso lettuce cultivars. HortSci. 40(6):1731-1733. doi:10.21273/HOTSCI40.6.1731.
- Jaakola, L. 2013. New insights into the regulation of anthocyanin biosynthesis in fruits. Trends Plant Science 18(9):477-483. doi: 10.1016/j.tplants.2013.06.003.
- Jha, S. N. 2010. Colour measurements and modeling. In: Nondestructive evaluation of food quality. Theory and practice. Jha, S. N. (Ed.). Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Berlin Alemania 17-40 pp. doi: 10.1007/978-3-642-15796-7\_2, 288p.
- Jing, P.; Noriega, V.; Schwartz, S. J. and Giusti, M. M. 2007. Effects of growing conditions on purple corn cob (*Zea mays* L.) anthocyanins. J. Agric. Food Chem. 55(21):8625-8629. Doi:10.1021/jf070755q.
- Lago, C.; Cassani, E.; Zanzi, C.; Landoni, M.; Trovato, R. and Pilu, R. 2014. Development and study of a maize cultivar rich in anthocyanins: coloured polenta, a new functional food. Plant Breed. 133:201-217. doi: 10.1111/pbr.12153.
- Mendoza-Mendoza, C. G.; Mendoza-Castillo, M. C.; Delgado-Alvarado, A.; Castillo-González, F.; Kato-Yamakake, A. y Cruz-Izquierdo, S. 2017. Antocianinas totales y parámetros de color en líneas de maíz morado. Rev. Fitotec. Mex. 40(4):471-479
- Moreno, Y. S.; G. Salas, S. G.; Rubio, H. D. and Ramos, L. N. 2005. Characterization of anthocyanin extracts from maize kernels. J. Chromatographic Sci. 43:483-487. doi: 10.1093/chromsci/43.9.483.
- Ramírez-Díaz, J. L.; Ledesma-Miramontes, A.; Vidal-Martínez, V. A.; Gómez-Montiel, N. O.; Ruiz-Corral, J. A.; Velázquez-Cardelas, G. A.; Ron-Parra, J.; Salinas-Moreno, Y. y Nájera-Calvo, L. A. 2015. Selección de maíces nativos como donadores de características agronómicas útiles en híbridos comerciales. Rev. Fitotec. Mex. 38(2):119-131.
- Ron-Parra, J.; Rivera, M. M. M.; López, J. J.; Cordero, A. A. J. M.; Larios, L. D. L. C. and González, J. J. S. 2016. Maternal genetic inheritance of red pericarp in the grain of maize. Maydica 61(2016): M21.
- Salinas, M. Y. y Vázquez, C. G. 2006. Metodologías de análisis de la calidad nixtamalera-tortillera en maíz. CIRCE-CEVAMEX-INIFAP. Folleto técnico núm. 23. 91 p.
- Salinas-Moreno, Y.; Rubio-Hernández, D. y Díaz-Velázquez, A. 2005. Extracción y uso de pigmentos del grano de maíz (*Zea mays* L.). Arch. Latinoam. Nutr. 55(3):293-298.
- Salinas-Moreno, Y.; Cruz-Chávez, F. J.; Díaz-Ortíz, S. A. y Castillo-González, F. 2012a. Granos de maíces pigmentados de Chiapas, características físicas, contenido de antocianinas y valor nutracéutico. Rev. Fitotec. Mex. 35(1):33-41.
- Salinas-Moreno, Y.; Pérez-Alonso, J. J.; Vázquez-Carrillo, G.; Aragón-Cuevas, F. y Velázquez-Cardelas, G. A. 2012b. Antocianinas y actividad antioxidante en maíces (*Zea mays* L.) de las razas Chalqueño, Elotes cónicos y Bolita. Agrociencia. 46(7):693-706.
- SAS. 2002. SAS/STAT User's Guide: Statistics. SAS Institute, Inc. Cary, NC, USA. 5136 p.
- Yang, Z. and Zhai, W. 2010. 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. doi: 10.1016/j.ifset.2009.08.012.
- Zhao X.; Zhang, C.; Guigas, C.; Corrales, Ma. Y.; Tauscher, B. and Hu, X. 2009. Composition, antimicrobial activity, and antiproliferative capacity of anthocyanin extracts of purple maize from China. Eur. Food Res. Technol. 228(5):759-765. doi: 10.1007/s00217-008-0987-7.