

1.  
2/



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**FACULTAD DE QUIMICA**



**ESCUELAS PROFESIONALES  
FAC. DE QUIMICA**

**DETERIORO QUIMICO DE LOS LIPIDOS Y DE LAS  
PROTEINAS DEL MAIZ DURANTE SU  
ALMACENAMIENTO**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
QUIMICA EN ALIMENTOS  
P R E S E N T A :  
DULCE MARIA ABASCAL GONZALEZ**



**MEXICO, D. F.**

**1997**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**JURADO ASIGNADO SEGÚN EL TEMA**

**PRESIDENTE:** Prof. ITURBE CHIÑAS FRANCISCA

**VOCAL:** Prof. VALDIVIA LOPEZ MARIA DE LOS ANGELES

**SECRETARIO:** Prof. LEAL LARA HERMILO

**1er. SUPLENTE:** Prof. SOUSA ROJANO HUGO

**2do. SUPLENTE:** Prof. CUERVO COSS RODOLFO


**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA**

Laboratorio 323, Conjunto E  
Departamento de Alimentos y Biotecnología  
Facultad de Química, U N A M

**ASESOR:**

  
M. de los Angeles Valdivia L.

**SUSTENTANTE:**

  
Dulce Ma. Abascal González

## **AGRADECIMIENTOS**

**Gracias a Dios, porque realmente soy una persona muy afortunada.**

**A mis papás, Hilda y Gustavo, porque este trabajo es producto de su esfuerzo y dedicación como excelentes padres. ¡Los quiero muchísimo!.**

**A Maricarmen y Gustavo, por su apoyo y cariño.**

**A Erich por su paciencia, los ánimos y todo lo demás. Mil Gracias.**

**A mis abuelas Carmen y Paula por su cariño y por ser un ejemplo a seguir.**

**A mis abuelos, Gustavo, Carmen, Javier y Nachis. Estoy segura de que me acompañan.**

**A toda la familia (que ya es muy grande).  
Cuca y Jimena, Barreda Abascal, Herrera Abascal,  
Susuki González y González Jacobo  
Todos: tíos, primos y sobrinos**

**A mis amigas Fabiola y Sara,  
por su amistad.**

**A mis amigas "Yaocas": Ana Marta, Irene,  
Melissa, Karla. Las recuerdo siempre.**

**A mis compañeros Q.A.: Liz, Laura,  
Liliana D., Liliana A., Tayde, Aris,  
Juan Carlos, Karla, Ursula. Y todos  
los demás**

**A todos los miembros del lab 323:  
Sandra, Lucy, Priscilla, Julieta, Agustín,  
Ursula, Gaby, Liliana y todos los demás.**

**A mi asesora, Angeles Valdivia  
por ser una excelente maestra y amiga.**

**A mis sinodales Fanny Iturbe y Hermilio Leal  
por los comentarios que enriquecieron este trabajo.**

**A la UNAM y a la Facultad de Química.**

## INDICE

<b>I. Introducción</b>	<b>1</b>
<b>II. Objetivos</b>	<b>2</b>
<b>III. Antecedentes</b>	<b>3</b>
3.1 Generalidades del Maíz	3
3.1.1 Estructura	3
3.1.2 Composición	7
3.1.3 Clasificación	18
3.2 Almacenamiento de Granos	23
3.2.1 Sistemas de almacenamiento	24
3.2.2 Factores de control durante el almacenamiento	26
3.2.3 Deterioro durante el almacenamiento	30
3.3 Aspectos Químicos de las Macromoléculas	31
3.3.1 Lípidos	31
3.3.2 Proteínas	37
<b>IV. Hipótesis</b>	<b>49</b>
<b>V. Metodología Experimental</b>	<b>50</b>
5.1 Establecimiento de las condiciones de almacenamiento	50
5.2 Establecimiento de las condiciones de evaluación de lípidos	53
5.3 Establecimiento de las condiciones de evaluación de proteínas	53
5.4 Establecimiento de las condiciones de evaluación del oscurecimiento no enzimático del embrión	54
5.5 Secuencia de análisis	54
<b>VI. Resultados y Análisis</b>	<b>55</b>

<b>VII. Conclusiones</b>	<b>92</b>
<b>VIII. Bibliografía</b>	<b>94</b>
<b>IX. Apéndice</b>	<b>97</b>
<b>9.1. Metodologías</b>	<b>97</b>
<b>9.2. Análisis Estadístico</b>	<b>103</b>

## I. INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays*) es el cereal de mayor consumo en los países en vías de desarrollo debido a que es ampliamente cultivado y a su elevado contenido energético (449 kcal/ 100g), aportando así, un porcentaje considerable de calorías en la dieta mexicana. En México, su consumo per cápita se calcula en 300 g/día que aportan el 56% de las calorías y el 47% de las proteínas de la alimentación del mexicano. Se estima que el maíz cubre el 51% del área total cultivada<sup>12</sup>.

Sin embargo, nuestro país carece de sistemas eficientes de conservación postcosecha, lo que conduce a que se presenten pérdidas por almacenamientos prolongados y bajo condiciones poco favorables. Aún cuando el deterioro del lote no se manifiesta físicamente, ya sea por la aparición de hongos o daño por infestación de insectos y roedores, el grano sufre cambios químicos y físicos a nivel macromolecular. Estos cambios afectan las propiedades funcionales de los cereales que son aprovechables tecnológicamente, así como el valor nutricional y comercial del grano.

El propósito de este estudio es el de conocer y evaluar los cambios químicos que ocurren en las macromoléculas del maíz durante el almacenamiento en condiciones frecuentemente encontradas en nuestro país, que son temperaturas de 20° y 40°C y contenidos de humedad de 18, 15 y 10%. Este trabajo aborda un aspecto dentro del marco de un proyecto global de investigación sobre maíz, en el que se estudian, por calorimetría diferencial de barrido, los cambios macromoleculares que se presentan en carbohidratos y fracciones proteínicas del maíz, bajo las mismas condiciones de almacenamiento.



## **II. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo General**

**Estudiar el efecto causado por la temperatura y la humedad en las fracciones lipídica y proteínica del maíz durante el almacenamiento.**

### **2.2. Objetivos Particulares**

- **Evaluar el deterioro químico que ocurre en la fracción lipídica del maíz durante el almacenamiento.**
- **Monitorear los cambios de coloración que ocurren en el embrión del maíz durante su almacenamiento**
- **Evaluar las posibles interacciones entre las macromoléculas del maíz a través del rendimiento en su extracción.**

### **III. ANTECEDENTES**

#### **3.1. Generalidades del Maíz**

Los granos de maíz se producen en la inflorescencia femenina conocida como mazorca. Alrededor de 800 granos son producidos en una mazorca propiamente desarrollada<sup>2</sup>.

Un grano de maíz tiene un peso promedio de 250 a 300 mg con una variación de 100 a 600 mg, las medidas de un grano del centro de la mazorca son de aproximadamente 4mm de grosor, 8mm de ancho y 12 mm de largo, siendo así el cereal de mayor tamaño<sup>1</sup>.

Los granos de maíz se distinguen por tener colores que van del blanco a amarillo, naranja, púrpura y café. Esta variedad de color es debida a diferencias genéticas en el pericarpio, la aleurona, el germen y el endospermo. El pericarpio puede ser incoloro, anaranjado, rojo cereza, rojo, rojo oscuro, café o variado, la capa aleurona puede ser incolora, rojo, rojo-púrpura, púrpura o café, el germen se puede presentar amarillo, anaranjado, anaranjado rojizo o púrpura y el endospermo puede ser tanto incoloro, como amarillo, anaranjado o anaranjado-rojizo. Obviamente el pericarpio y la aleurona deben ser incoloros de tal forma que el verdadero color del endospermo pueda ser observado. Sólo el maíz blanco y el amarillo son cultivados comercialmente<sup>13</sup>.

##### **3.1.1. Estructura**

Estructuralmente, el grano de maíz puede separarse fácilmente en cuatro partes: germen, endospermo, pericarpio y la punta.

## A. Germen

El germen se origina por la fusión de un núcleo del grano de polen y un núcleo del saco embrionario, representa en promedio el 11.5% del peso seco del grano y está compuesto por las siguientes partes:

a) El axis embrionario. Es el 10% del germen y es una estructura que desarrollará la planta durante la germinación.

b) El escutelo. Comprende el 90% restante y almacena los nutrientes que se movilizarán rápidamente durante la germinación. La superficie del escutelo, en contacto con el endospermo, está cubierta de un epitelio secretor. El epitelio secretor es una capa profunda surcada por canales o glándulas lineales con células secretoras elongadas cuya función es secretar enzimas amilolíticas que se difunden dentro del endospermo, donde digieren al almidón y otros constituyentes, para proveer de nutrientes al embrión. El escutelo está formado por células parenquimales que contienen un núcleo, citoplasma denso y unos objetos claros que contienen aceite líquido. Estos objetos claros son organelos específicos conocidos como cuerpos oleosos o esferosomas y son encontrados en todas las oleaginosas. Estos esferosomas contienen enzimas hidrolíticas, así como las enzimas necesarias para la síntesis de lípidos. La pared celular, compuesta básicamente por hemicelulosa, del escutelo es gruesa, porosa y con espacios intercelulares para facilitar el movimiento de materiales entre las células. La capa exterior del escutelo está formada por células secretoras que forman el contacto principal entre el embrión y el endospermo. Las paredes celulares están compuestas de casi completamente de hemicelulosa y muy poca hemicelulosa<sup>13</sup>.

## **B. Endospermo**

El endospermo constituye del 82 al 84% del grano en base seca y está compuesto en un 86-89% por almidón. Está formado por células elongadas empacadas por gránulos de almidón embebidos en una continua matriz proteínica<sup>8,12</sup>.

El endospermo está compuesto por dos regiones bien definidas:

- **Endospermo harinoso** Es de consistencia suave y de apariencia opaca. Se caracteriza por tener células longitudinales, gránulos de almidón largos y redondos, arreglados holgadamente con una delgada matriz proteica, que se rompe durante el secado y forma espacios vacíos, representa el 34% del peso del endospermo.
- **Endospermo córneo** Es de consistencia dura y apariencia traslúcida. Se caracteriza porque sus granos de almidón están incrustados de forma compacta en una gruesa, matriz proteica, lo que origina que estos granos formen superficies angulares características de este arreglo. La matriz proteica no sufre ruptura durante el secado, representa el 66% del peso del endospermo y su contenido de proteínas es de 1.5 a 2% más que el endospermo harinoso.

La matriz proteica está compuesta de material proteico amorfo en el que están embebidas los cuerpos proteicos, compuestos básicamente de zeína, una proteína con bajo contenido de lisina.

La capa más externa del endospermo es la aleurona, una capa formada por una capa sencilla de células de diferente forma. Esta capa cubre el endospermo y el germen. Las células de la aleurona son de apariencia granular, contienen gránulos de proteína y no tienen almidón, son ricas en minerales y proteína de

alta calidad pero probablemente no disponible nutricionalmente para las enzimas digestivas<sup>1</sup>.

### C. Pericarpio

El pericarpio es la estructura más externa del grano de maíz. Es una cubierta compuesta por una capa externa de células muertas, huecas, elongadas y empaquetadas dentro de un tejido muy denso. Se adhiere fuertemente a la superficie exterior de la aleurona y se cree que imparte propiedades semipermeables al grano de maíz. Debajo de esta capa se encuentra un tejido esponjoso de células cruzadas y tubulares, unidas o conectadas con la punta y cuya función es de absorber agua. La capa más interna está formada por una hilera de células tubulares comprimidas fuertemente hacia la aleurona, seguida a ésta existe una área con gran espacio intercelular y está cubierta por una capa gruesa y compacta conocida como el mesocarpio. Esta capa está compuesta de células elongadas empaquetadas con numerosos hoyos que permiten mantener interconexiones capilares para las células y facilitan la absorción de agua. El pericarpio está formado por aproximadamente 40% de celulosa y 40% de pentoglucán<sup>13</sup>.

### D. Punta

Es lo que sobra del órgano de adhesión del grano de maíz con el olote. Está compuesto de células en forma de estrellas, arregladas en una estructura esponjosa bien adaptada para una rápida absorción de humedad. Entre la punta y la base del germen hay un tejido negro conocido como capa hilar, que aparentemente funciona como un mecanismo de sellado cuando el grano llega a su madurez fisiológica.

### 3.1.2. Composición

En la tabla 3.1 se muestra la composición química del grano de maíz en sus diferentes estructuras y en la tabla 3.2, se muestra su análisis proximal.

Tabla 3.1 Composición del Grano de Maíz<sup>1</sup>  
(g/ 100 g en base seca)

Parte	del grano	Almidón	Grasa	Proteína	Cenizas	Azúcar
Germen	10.5-13.1	5.1-10	31.1-38.9	17.3-20	9.38-11.3	10.1-12.5
Endospermo	80.3-83.5	83.9-88.9	0.7-1.1	6.7-11.1	0.22-0.46	0.47-0.82
Pericarpio	4.4-6.2	3.5-10.4	0.7-1.2	2.9-3.9	0.29-1.0	0.19-0.52
Grano Entero	100	67.8-74	3.9-5.8	8.1-11.5	1.27-1.52	1.61-2.22

Tabla 3.2 Análisis Proximal del Grano de Maíz<sup>1</sup>

Característica	Rango	Promedio
% Humedad	7-23	16.0
% Almidón	61-78	71.7
% Proteína	6-12	9.5
% Grasa	3.1-5.7	4.3
% Cenizas(óxido)	1.1-3.9	1.4
% Pentosanas (xilosa)	5.8-6.6	6.2
% Fibra	8.3-11.9	9.5
% Celulosa+Lignina	3.3-4.3	3.3
% Azúcares totales	1.0-3.0	2.6
Carotenoides totales (mg/kg)	4-40	30.0

Porcentajes en base seca (excepto humedad)

## CARBOHIDRATOS

Los carbohidratos del grano de maíz se encuentran distribuidos entre diversos tejidos del grano. El carbohidrato mayoritario es el almidón (72% del grano en base seca) En la tabla 3.3 se muestra la proporción de carbohidratos en los componentes del grano de maíz.

Los carbohidratos juegan un papel esencial en el metabolismo intermediario de todos los tejidos. Los polímeros estructurales y de almacenamiento y una amplia variedad de carbohidratos simples (azúcares) son sintetizados en el grano en desarrollo. En la madurez, cuando la síntesis se ha completado, los azúcares representan únicamente el 2% del grano (base seca), y aunque están en niveles muy bajos, son muy importantes en síntesis y transferencia de energía<sup>14, 32</sup>

Tabla 3.3. Composición de Carbohidratos en los Componentes del Grano<sup>32</sup>  
(g/ 100 g)

Fracción del Grano	Grano	Almidón	Carbohidratos
Grano Entero	100	72	2
Endospermo	82	86	1
Embrión	12	8	11
Pericarpio	5	7	1

Los principales monosacáridos del endospermo son la D-fructosa y D-glucosa, presentes en cantidades iguales<sup>32</sup>

La sacarosa es el disacárido más abundante en los granos de maíz. La maltosa se encuentra en bajas cantidades en los granos en desarrollo. Los trisacáridos y los oligosacáridos son constituyentes menores y pueden estar presentes la rafinosa, la maltotriosa y los malto-oligosacáridos.

Diferentes polisacáridos desempeñan un papel importante en la estructura del grano. Se clasifican en sustancias pécticas, hemicelulosa y celulosa, formando parte básicamente de la pared celular<sup>1</sup>

Las fibras de celulosa son la unidad básica de la pared celular en todas las plantas superiores. Numerosos polisacáridos se encuentran asociados a la pared celular y contienen diversos azúcares que incluyen la glucosa, xilosa, arabinosa, galactosa, ramnosa y manosa. La pared celular puede ser clasificada como primaria o secundaria. La pared celular primaria se forma durante el crecimiento celular. Las células del endospermo tienen una pared celular gruesa primaria mientras que en las células del embrión es delgada. En contraste, las células del pericarpio tienen una pared celular secundaria cuyo grosor aumenta cuando la expansión celular termina.

Las pentosanas son polímeros de carbohidratos de cinco carbonos, arabinosa y xilosa, son constituyentes importantes de los xilanos de la pared celular. En general, los xilanos tienen una estructura de enlaces  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4) de D-xilosa.

El almidón es el carbohidrato de almacenamiento más abundante en el mundo. Está formado sólo por glucosa. El gránulo de almidón está compuesto por dos polímeros: amilosa y amilopectina. La amilosa constituye 25-30% del almidón, es una molécula lineal de glucosa unida por enlaces  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4). La amilopectina constituye 70-75% del almidón, es una molécula ramificada con enlaces  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 6) en los puntos de ramificación y enlaces  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4) en las regiones lineales. En el endospermo, la amilosa y la amilopectina se encuentran estructuralmente acomodadas en un gránulo insoluble. El gránulo de almidón se forma dentro de un organelo celular llamado amiloplasto. Este gránulo tiene una estructura cristalina atribuida a la amilopectina<sup>1,13</sup>.



Los gránulos de almidón contienen otros constituyentes químicos, además de los polímeros de almidón. Los lípidos están frecuentemente asociados con el almidón del endospermo. Se han asociado al almidón dos tipos de lípidos: lípidos en la superficie del almidón y lípidos dentro los gránulos. Los primeros se adsorben a la superficie del gránulo de almidón e incluye a los galactosildiglicéridos y a los diacilfosfolípidos. Los gránulos de almidón contienen ácidos grasos libres y los tres lipofosfolípidos: lipofosfatidilcolina, lipofosfatidiletanolamina y lipofosfatidilglicerol.

Las proteínas también se encuentran asociadas con el gránulo de almidón: unas se adsorben en la superficie y otras están presentes dentro del gránulo. Se han encontrado cuatro polipéptidos presentes en el gránulo de almidón.

## PROTEÍNAS

El maíz es considerado únicamente como una fuente de calorías, derivada de su elevado contenido de almidón. Debido a que es altamente consumido, se ha considerado al maíz como una fuente de proteínas también, que combinado con las leguminosas proporciona una mezcla de aminoácidos de buena calidad nutricional.

Las proteínas del maíz son una mezcla de varios tipos de proteínas solubles e insolubles. La proteína más abundante en los granos de maíz es la zeína, sin embargo la baja cantidad de aminoácidos esenciales limita su consumo como fuente de proteínas de elevada calidad<sup>1,9,13</sup>. El contenido de aminoácidos en las diferentes fracciones de maíz se muestra en la tabla 3.4.

**Tabla 3.4. Contenido de aminoácidos esenciales (% mol) comparado con los requerimientos nutricionales de la FAO<sup>a</sup>**

<b>Aminoácido</b>	<b>Patrón FAO<sup>a</sup></b>	<b>Otras proteínas<sup>b</sup></b>	<b>Zelma</b>	<b>Proteínas del Germen</b>
Lisina	4.3	4.7	0.1	4.6
Treonina	3.9	4.9	3.0	4.4
Valina	4.2	7.1	3.6	6.6
Cisteína+Metionina	3.0	4.5	1.9	3.2
Isoleucina	3.5	4.0	3.8	3.2
Leucina	6.2	9.0	18.7	7.7
Fenilalanina+Tirosina	4.0	6.2	8.7	5.6
Triptofano	0.5	0.5	0	1.0
<b>Total</b>	<b>29.6</b>	<b>41.0</b>	<b>39.8</b>	<b>36.3</b>

a. 1973

b. albúminas, globulinas y glutelinas

La separación clásica de las proteínas en sus diferentes fracciones, está basada en su solubilidad<sup>27,28,29</sup>. En la tabla 3.5 se muestra el contenido de cada una de estas fracciones en las diferentes estructuras del grano de maíz. Estas fracciones están constituidas por las albúminas (solubles en agua), globulinas (solubles en sal), prolaminas (solubles en alcohol) y glutelinas (insolubles en agua, soluciones salinas o alcohol).

Tabla 3.5. Distribución de Nitrógeno en las Fracciones Proteicas (%N)<sup>1</sup>

Fracción Proteica	Grano Entero	Endospermo	Germen
N no proteico	6	3	20
Albúminas	7	3	35
Globulinas	5	3	18
N soluble total <sup>a</sup>	19	9	73
Zeína I <sup>b</sup>	42	48	4
Zeína II <sup>c</sup>	10	12	1
Prolamina (zeína total)	52	60	5
Glutelina-2 <sup>d</sup>	8	9	3
Glutelina-3 <sup>e</sup>	17	17	15
Glutelina Total	25	26	18
Residuo	5	5	4
Proteína Total	100	78	18

a. 0.5 M NaCl

b. Isopropanol al 55%

c. isopropanol al 55%+mercaptoetanol al 0.6%

d. buffer pH 10+ mercaptoetanol al 0.6%

e. buffer pH 10+dodecil sulfato de sodio al 0.5%

La fracción de globulinas tiene varios componentes, muchos de los cuales son enzimas.

Se ha demostrado que la fracción de glutelinas en el trigo varía con diversos tratamientos como: calor, desengrasado, temperaturas de extracción, buffers, solventes, etc. y se ha concluido que la división de glutelinas y prolaminas no era tan válida<sup>1</sup>. Se ha sugerido una clasificación de las proteínas en tres grupos:

metabólicas, de almacenamiento y estructurales. Las proteínas de almacenamiento se definen como proteínas que:

- no tienen otra función metabólica que la de proveer nitrógeno para la germinación,
- son formadas en las etapas tardías de desarrollo,
- se incrementan conforme aumenta el suplemento de nitrógeno, pueden ser almacenadas en un compartimento separado, conocido como cuerpo proteico,
- están compuestas por un número limitado de polipéptidos similares.

Las proteínas de almacenamiento del endospermo, que son las proteínas más abundantes, están localizadas dentro de los cuerpos subcelulares conocidos simplemente como cuerpos proteicos, en donde se deposita la zeína<sup>1 9 13</sup>

## LÍPIDOS

Químicamente, los lípidos son un grupo heterogéneo de sustancias que tienen en común, su solubilidad en disolventes orgánicos. Los lípidos se dividen en dos grandes grupos: acil lípidos (o acilglicéridos) y los lípidos insaponificables. Los acil lípidos contienen ésteres de ácidos grasos y son hidrolizados en álcali. Los lípidos insaponificables son aquellos extraídos con disolventes orgánicos después de la saponificación e incluyen hidrocarburos, esteroides, carotenoides y tocoles<sup>1</sup>. Los triglicéridos constituyen la mayor fracción (98.8%) del aceite de maíz refinado comercial y son los lípidos de reserva predominantes en el grano de maíz. Los lípidos encontrados en el grano de maíz son fosfolípidos, glucolípidos, esteroides, ácidos grasos libres, carotenoides, tocoles y ceras<sup>13</sup>.

- **Triglicéridos**

Son ésteres de ácidos grasos y glicerina. Los triglicéridos forman una mezcla compleja debido a la variedad de combinaciones posibles de ácidos grasos. Por medio de HPLC (cromatografía líquida de alta resolución) se ha encontrado que los triglicéridos más abundantes, en orden decreciente, son: trilinoleína, oleoilidilinoleína y palmitoilidilinoleína. La posición que ocupa cada ácido graso dentro de la molécula del triglicérido es muy importante pues afecta las propiedades físicas, el valor nutritivo y la estabilidad del aceite.

- **Fosfolípidos**

Los fosfolípidos son constituyentes universales de las plantas. En el aceite de maíz los fosfolípidos presentes en mayor cantidad son la fosfatidilcolina, el fosfatidilinositol y la fosfatidiletanolamina. En menor cantidad están presentes el fosfatidilglicerol, la fosfatidiserina, el ácido fosfatídico y el N-acil fosfatidiletanolamina. Cada clase de fosfolípido tiene una composición de ácidos grasos diferente.

El aceite crudo de maíz contiene aproximadamente 1.5% de fosfolípidos, de los que el 75% puede precipitarse por el tratamiento del aceite crudo con agua o con vapor. Este material precipitado y posteriormente deshidratado, es conocido como lecitina de maíz que tiene diversos usos industriales<sup>13</sup>.

- **Glucosilglicéridos**

Los glucosilglicéridos, un tipo de glucolípido, del grano de maíz incluyen los monogalactosildiglicérido, digalactosildiglicérido, 6-O-acilmonogalactosildiglicérido y sulfoquinovosildiglicérido. Los glucosilglicéridos se caracterizan por tener elevadas cantidades de ácido linolénico en comparación con el resto de lípidos del maíz<sup>1</sup>.

- **Glucosilesfingolpidos**

Los esfingolpidos contienen una cadena base larga de esfingosina (*trans-D-eritro-1,3-dihidroxi-2-amino-4-octadeceno*) o un amino alcohol relacionado. El grupo de esfingolpidos incluye ceramidas, glucosilceramidas (o cerebrósidos) y fitoglicolpidos. Los cerebrósidos son los esfingolpidos más abundantes del grano de maíz, con glucosa como azúcar predominante, los ácidos grasos que lo componen son de cadena larga, saturados y el 88% de los ácidos grasos son 2-hidroxiácidos<sup>1</sup>.

- **Esteroles**

Los esteroles del grano de maíz se han separado, por cromatografía de capa fina, de acuerdo a su estructura en 4,4-dimetilesteroles (54mg/100g de aceite), 4-monometilesteroles (62 mg/100 g de aceite) y 4-dimetilesteroles (1,441 mg/ 100g de aceite). Los esteroles son sintetizados a partir del escualeno, a través de los intermediarios 4,4-dimetilesterol y 4 monometilesterol, al más abundante 4-demetilesterol<sup>1</sup>.

- **Hidrocarburos**

El escualeno es el hidrocarburo más abundante y el resto de hidrocarburos consiste de una mezcla compleja de compuestos<sup>1</sup>.

- **Alcoholes poliisoprenicos**

Se creen que tienen un papel importante en las plantas como acarreadores de azúcares para la biosíntesis y la glucosilación proteica<sup>1</sup>.

- **Ceras**

La cera del grano de maíz está compuesta principalmente de ésteres (76%). La longitud dominante de las cadenas de los ésteres son C46 (21%), C48 (22%), C50 (9%), C52 (10%) y C54 (17%). Los componentes mayoritarios de estos ésteres son alcoholes y ácidos<sup>1</sup>.

- **Cutina**

La cutina fue aislada como el residuo polimérico insoluble remanente después de la extracción del pericarpio con cloroformo-metanol y la remoción enzimática de los carbohidratos<sup>1</sup>.

- **Carotenoides**

Representan un grupo de isoprenoides (sustancias químicas que tienen algunas de las propiedades de los lípidos). Dos clases de pigmentos carotenoides, carotenos y xantofilas, son los responsables del color amarillo del grano de maíz. Los carotenoides son importantes constituyentes del maíz, pues los carotenos son precursores de la vitamina A y las xantofilas proporcionan color a la yema de huevo y a la piel del pollo crudo cuando se utilizan en la alimentación animal. Los carotenoides también tienen una función antioxidante. Los carotenos son hidrocarburos y se cree que son precursores biosintéticos de sus derivados oxigenados, las xantofilas. La distribución de los carotenos en el grano es de 74-86% en el endospermo harinosos, 9-23% en el endospermo vitreo, 2-4% en el germen, y 1% en el pericarpio. Las xantofilas predominantes son luteína y zeaxantina, mientras que el caroteno principal es el  $\beta$ -caroteno<sup>13</sup>.

Debido a su estructura isoprenoide (sistema de dobles ligaduras alternantes), los carotenos son muy sensibles al oxígeno, la luz, el calor y a los ácidos. Debido a las condiciones ambientales adversas, ocurren pérdidas significativas de carotenoides en el grano de maíz.

- **Tocoles**

Los cuatro tocoferoles presentes son designados como  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - y  $\delta$ - tocoferol. Se cree que su función es la de proteger a los lípidos insaturados de la oxidación.

Comúnmente el contenido de aceite se mide como la cantidad de lípidos extraídos del grano molido (harina) con hexano, éter de petróleo o éter etílico. Estos disolventes no polares extraen principalmente triglicéridos.

Los lípidos del maíz se encuentran casi exclusivamente en las células de la porción del escutelo del germen. Específicamente, el aceite se deposita en unas gotas microscópicas conocidas como cuerpos oleosos. Estas estructuras se encuentran rodeadas por una capa delgada compuesta de una membrana "triple" de proteína-lípido-proteína, cuyo lado lipofílico se orienta hacia el interior.

Los ácidos grasos tienen una conformación en zig-zag de cadenas de hidrocarburos y una configuración cis en los dobles enlaces. En la tabla 6, se muestra el contenido de ácidos grasos en el aceite de maíz refinado. El aceite de maíz tiene un elevado contenido de ácido linoléico, un ácido graso poliinsaturado, esencial. Aunque el aceite de maíz es altamente poliinsaturado, es estable por que contiene elevadas cantidades de antioxidantes naturales. El aceite de maíz tiene bajo contenido de ácido palmítico (16:0) con 11% y ácido esteárico (18:0) del cual sólo contiene 2%, comparado con el aceite de algodón (25.2%) y el de palma (44%). Se han encontrado trazas (<1%) de ácido laúrico (12:0), ácido palmítico (16:1), araquidónico (20:0), erúico (22:1) y ácido lignocérico (24:0).



Tabla 3.6. Ácidos grasos componentes del aceite de maíz refinado<sup>1</sup>

Nombre	Ac. Grasos (N° átomos de carbono)	N° de dobles enlaces	g ácidos grasos
			100 g
Linoleico	18	2	61.9
Oleico	18	1	24.1
Palmitico	16	0	11.1
Esteárico	18	0	2.0
Linolénico	18	3	0.7
Araquidónico	20	0	0.2
Mirístico	14	0	0.2
Laúrico	12	0	0.1

### 3.1.3. Clasificación

La clasificación del maíz puede ser botánica o taxonómica, comercial, estructural, especial y en función de su calidad.

### 3.1.3.1. Botánica.

El maíz está clasificado botánicamente de la siguiente manera<sup>2</sup>:

<b>Reino</b>	Vegetal
<b>División</b>	Tracheophyta
<b>Subdivisión</b>	Pteropsidae
<b>Clase</b>	Angiospermae
<b>Subclase</b>	Monocotiledoneae
<b>Grupo</b>	Gumiflora
<b>Orden</b>	Graminales
<b>Familia</b>	Gramineae
<b>Tribu</b>	Maydeae
<b>Género</b>	<i>Zea</i>
<b>Especie</b>	<i>mays</i>

### 3.1.3.2. Comercial.

Desde el punto de vista compra-venta, el maíz se clasifica de la siguiente manera.

- **Maíz blanco.**

La Norma Oficial Mexicana<sup>23</sup> lo define como el maíz que corresponde a este color, que presenta un valor menor o igual a 5% de maíces amarillos y que contenga como máximo 5% de maíces oscuros (rojo, azul y morado). las industrias harineras y almidoneras prefieren este maíz debido al color blanco que le imparte al producto terminado.

- **Maíz amarillo**

La Norma Oficial Mexicana<sup>23</sup> lo define como aquel maíz de granos amarillos o amarillos con un tono rojizo, y que tengan un valor menor o igual a 6% de maíces de otro color. Debido a su elevado contenido en carotenos, este maíz es muy preciado para ser empleado como forraje.

- **Maíz mezclado**

La Norma Oficial Mexicana<sup>23</sup> estipula dos tipos diferentes de mezclado:

a) Mezclado 1. Lo define como todo aquel maíz blanco que contenga entre 5.1 y el 10% de maíces amarillos, así como el maíz amarillo que presenta un valor entre el 5.1 y el 10% de maíces blancos. Ambos sin sobrepasar el 5% de maíces oscuros.

b) Mezclado 2. Son aquellos maíces blancos que presentan más de 10% de maíces amarillos, así como los maíces amarillos que contengan más del 10% de granos blancos. Ambos sin sobrepasar el 5% de maíces oscuros.

- **Maíz pinto**

La Norma Oficial Mexicana<sup>23</sup> lo define como todo aquel maíz blanco, amarillo y mezclado que contenga más del 5% de maíces oscuros (rojo, azul y morado).

### 3.1.3.3. Estructural

El maíz puede dividirse en varios tipos (o razas), en función de calidad, cantidad y patrón de composición del endospermo. Estos son: el maíz dentado, cristalino, amiláceo, dulce y palomero.

- **Maíz dentado (*Zea mays indentata*)**

Tiene una cantidad variable de endospermo córneo (duro) y harinoso (suave). La parte córnea está a los lados y detrás del grano, mientras que la porción harinosa se localiza en la zona central y en la corona del grano. Se caracteriza por una

depresión o "diente" en la corona del grano, que se origina por la contracción del endospermo harinoso a medida que el grano va secándose. Se usa principalmente como alimento animal, materia prima industrial y consumo humano<sup>13</sup>.

- **Maíz cristalino (*Zea mays indurata*)**

Contiene una gruesa capa de endospermo cristalino, que cubre un pequeño centro harinoso. Generalmente el grano es liso y redondo. Este tipo de maíz es de cualquier clase (blanco, amarillo o mezclado) y consiste en un 95% o más de maíz cristalino<sup>13</sup>.

- **Maíz harinoso (*Zea mays amilaceo*)**

Se caracteriza por un endospermo harinoso, sin endospermo cristalino. En México este maíz se utiliza para hacer pozole. Es de producción limitada en Estados Unidos y muy común en la región andina del sur de América<sup>13</sup>.

- **Maíz dulce (*Zea mays saccharata*)**

En este tipo de maíz, la conversión del azúcar en almidón es retardada durante el desarrollo del endospermo. Es muy consumido en Estados Unidos.

- **Maíz palomero (*Zea mays everta*)**

Es una de las razas más primitivas y es una forma extrema de maíz cristalino. Se caracteriza por un endospermo cristalino muy duro, que solamente tiene una pequeña porción de endospermo harinoso. Sus granos son redondos (como perlas) o puntiagudos (como el arroz). Aproximadamente el 0.1% de la superficie maicera total de Estados Unidos, se siembra con este cultivar, que se emplea principalmente para consumo humano en la forma de rosetas (palomitas), dada su característica de expansión al someterse al calor<sup>13</sup>.

La capacidad de reventar parece estar condicionada por la porción relativa del endospermo córneo, en el que los gránulos de almidón están incrustados en un material coloidal tenaz y elástico que resiste la presión de vapor generada dentro del grano al calentarse, hasta que alcanza una fuerza explosiva, que lo hace aumentar de volumen original unas 30 veces

- **Maíz tunicado (*Zea mays tunicata*)**

Se caracteriza porque cada grano está encerrado en una vaina o túnica. La mazorca está cubierta con "espaldas" como los otros tipos de maíz. Se usa como ornamento y en programas de fitomejoramiento

#### 3.1.3.4. Especial

El maíz puede ser alterado por medios genéticos para producir modificaciones en el almidón, proteína, aceite y otras propiedades

- **Maíz céreo (*Zea mays cerea*)**

Fue introducido en estados Unidos en 1908. El almidón del maíz céreo está compuesto de 100% amilopectina y se tiñe de color café rojizo con una solución al 2% de yoduro de potasio, mientras que el almidón del maíz común contiene 73% de amilopectinas y 27% de amilosa, además se tiñe de color azul con la solución anterior. Este maíz se usa como materia prima para la producción de almidón céreo. Los tipos de almidón céreo (nativo y modificado) son comercializados a nivel mundial debido a su estabilidad y a otras propiedades de sus soluciones<sup>13</sup>.

- **Maíz de alta amilosa**

Contiene 50% de amilosa. Este grano se produce exclusivamente para la industria húmeda del maíz. Hay dos tipos desarrollados comercialmente: el que tiene un contenido de amilosa entre 50 y 60% y otro que contiene entre 70 y 80%. El

almidón de maíz de alto contenido de amilosa es usado en la industria textil y como adhesivo en la manufactura de cartón corrugado.

- **Maíz de alta lisina**

Esta es el nombre genérico par el maíz que tiene un mejor balance de aminoácidos y por consiguiente, una mejor calidad de proteína para alimento humano o animal, en comparación con el tipo dentado ordinario, que es deficiente en lisina.

En 1964 se descubrió que el nivel de lisina es controlado genéticamente por un gene recesivo (opaco-2), que reduce el contenido de zeína en el endospermo e incrementa el porcentaje de lisina. La investigación agronómica con este maíz, indica que es ligeramente bajo en productividad y alto en humedad, comparado con el maíz normal. Además el grano es suave y más sensible al daño. La investigación indica que estas características pueden mejorarse<sup>1,9,13,33</sup>.

- **Maíz con alto contenido de aceite**

En 1986 se inició un programa de fitomejoramiento en maíz. El porcentaje de aceite del material que ha estado bajo selección continua, se ha incrementado desde 4 o 5% (normal en maíz dentado) hasta 17.5%. Aunque las variedades con altos contenidos de aceite tienen un bajo rendimiento, investigaciones recientes con la incorporación de nuevos genes, indican que las variedades que contienen entre 7 y 8% de aceite, pueden ser productivas en cuanto a rendimiento<sup>13</sup>.

### **3.2. Almacenamiento de Granos**

Normalmente los granos se someten a periodos de almacenamiento relativamente largos. Cuando son almacenados con bajos contenidos de humedad y protegidos de las inclemencias meteorológicas y evitando insectos y roedores, se pueden conservar fácilmente durante varios años.

### **3.2.1. Sistemas de almacenamiento.**

El almacenamiento de los granos es muy variado y depende de los recursos disponibles en la región.

El más sencillo es apilar el grano sobre el suelo entre el tiempo de cosecha y su transporte al lugar final de destino. Esta forma de almacenamiento no deteriora la calidad del grano a corto plazo, sin embargo, en periodos de almacenamiento muy prolongados se producen cuantiosas pérdidas ya que el grano absorbe humedad del terreno y la lluvia, y está sujeto al ataque de roedores, pájaros y al viento.

El sistema de almacenamiento más antiguo consiste en almacenar el grano bajo tierra. Las ventajas que ofrece este sistema de almacenamiento es la protección del grano de las fluctuaciones de temperatura durante el día y la estación, disminuye la proliferación de insectos y hongos por la poca disponibilidad de oxígeno y elevado contenido de bióxido de carbono.

Menos rudimentario y muy recurrido es el almacenamiento en sacos. El grano ensacado se puede conservar en casi cualquier albergue que proteja los sacos de las inclemencias del tiempo y de los predadores. Los sacos se pueden manejar sin equipo, sin embargo, son relativamente caros y el manejo es costoso, a no ser que la mano de obra sea muy barata<sup>32</sup>.

El almacenamiento a granel en depósitos o almacenes es el sistema más generalizado actualmente. Los almacenes comprenden una variedad de bodegas y silos, entre los cuales se pueden citar<sup>33</sup>:

- **Bodega a granel a la intemperie:** es un almacén rectangular. Los muros de contención están hechos con costales, el piso se hace con tarimas de madera que posteriormente se cubren con costales abiertos o tela y las paredes se forman con costales del mismo grano que se maneja. Una vez llena, la bodega se cubre con una lona.
- **Bodega de costales a la intemperie:** se forma con costales que se llenan directamente de los camiones, y que se colocan sobre un piso de tarimas de madera hasta formar un rectángulo, después de cierta altura se le da forma triangular. A esta bodega se le acondiciona un sistema de aireación y se cubre con lonas para evitar la rehidratación del grano.
- **Bodega a granel semiacondicionada a la intemperie:** es de forma rectangular y fija, cuenta con piso de concreto, paredes de bloques reforzadas, sistema de aireación fijo, fosa de descarga, elevador y transportador horizontal para acarrear el grano a lo largo de la bodega y lonas para cubrir el grano.
- **Bodega techada sin paredes:** está integrada por piso de concreto, techo de lámina, sistema de aireación de conchas metálicas, fosa de descarga, elevador y transportador horizontal.
- **Bodega techada con paredes de piedra:** puede almacenar grano encostalado o a granel y puede acondicionar un sistema de aireación.
- **Bodega cónica:** tiene paredes de piedra y puede almacenar grano a granel o encostalado.
- **Bodega tipo domo:** es una bodega de lona prefabricada, que se asienta sobre un piso circular de concreto en donde sobresalen aditamentos para acoplar la lona.
- **Bodega tipo media luna:** se hace con lámina semicircular, con piso de concreto.
- **Bodegas con paredes de concreto y bloques reforzados:** están completamente mecanizadas, tienen un sistema de aireación fijo y son de gran capacidad.
- **Bodegas con paredes metálicas:** semejantes a la anterior.



- Bodegas con paredes de malla de alambre este tipo de silo se usa para almacenar mazorcas de maíz deshojadas que no están completamente secas y durante el almacenamiento se secan
- Silos metálicos. son de capacidad variable y de distintas formas. Generalmente son completamente mecanizados.
- Silos de concreto. tienen el techo plano y su capacidad fluctúa entre 1000 a 5000 ton. Están completamente mecanizados
- Silos de concreto y metálicos

### 3.2.2. Factores de control durante el almacenamiento

Para lograr mantener la calidad de los granos durante su almacenamiento deben vigilarse ciertos aspectos que los deterioran. Se pueden citar dos factores físicos y biológicos. Dentro de los factores físicos se encuentran la humedad, temperatura y aireación. Los factores biológicos se refieren a insectos, aves, roedores y microorganismos.

#### HUMEDAD

Es el factor más importante. Si el grano es almacenado a niveles de humedad suficientemente bajos, éste puede ser almacenado por varios años sufriendo un deterioro muy pequeño. Sin embargo, la práctica común es que el grano sea recibido con niveles de humedad cerca o muy por encima de los niveles críticos. El deterioro del grano puede presentarse independientemente que éste haya sido almacenado a límites de humedad considerados seguros. Este fenómeno se puede presentar cuando existen marcadas diferencias de humedad en el espacio de almacenamiento. Siendo un material higroscópico, el grano de maíz pierde o gana humedad dependiendo si la presión de vapor es mayor o menor que la que le rodea. La humedad relativa del aire intersticial en el grano almacenado tiende a mantenerse en equilibrio con la humedad del grano. A cualquier nivel de humedad relativa, la cantidad de vapor de agua por unidad de volumen de aire se

incrementa con la elevación de temperatura. El aire se encuentra en constante movimiento como resultado del proceso de difusión o convección. Cuando el aire de una región caliente del grano alcanza una zona más fría del mismo grano, tiende a ceder humedad a éste para mantener el equilibrio. De esta forma la humedad es transportada de las regiones más calientes a las más frías y debido a esto se presentarán problemas de contaminación como consecuencia de humedad excesiva en ciertas partes del área de almacenamiento y esto se presentará independientemente de que el grano haya sido recibido con niveles aceptables de humedad.

Cada grano tiene su propio límite crítico de humedad. Sin embargo es importante recalcar que la humedad relativa a la cual el grano se mantiene en equilibrio es un factor aún más importante. Si se desea almacenar granos por un período de 2 a 3 años será necesario mantener humedades relativas de 65% o menores. Generalmente se acepta que el nivel máximo de humedad del grano para un almacenamiento fiable del maíz es 13%. En la fig. 1 se muestran las isotermas de equilibrio de humedad del maíz, que está basada en la ecuación de Chung<sup>1</sup>.

Para conservar los granos éstos se desecan. Actualmente se emplean dos procedimientos básicos de baja, o de alta temperatura. La desecación a baja temperatura, utiliza aire que no se ha calentado por encima de las condiciones ambientales; se hace pasar a través de la masa de grano, el aire con el calor que contiene. El sistema es eficiente en cuanto a energía se refiere, ya que solamente requiere la necesaria para vencer la resistencia de la masa de grano. El grano no se perjudica por elevación de temperatura, sin embargo se requiere de un tiempo relativamente largo para reducir significativamente la humedad y si el aire tiene humedad relativa alta, podría hacer que aumentase el contenido de humedad del grano<sup>1</sup>.

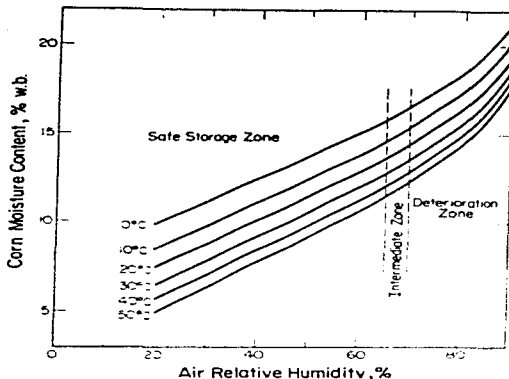


Figura 3.1. Isotermas de equilibrio de humedad para el maíz<sup>1</sup>

El proceso de desecación se puede acelerar calentando el aire a temperaturas superiores, se aumenta así la capacidad del aire para retener agua y acelera la eliminación de agua del grano. La ventaja principal es el ahorro de tiempo, sin embargo se incrementan los costos, además se causa un daño al grano, que puede consistir en agrietamientos por tensiones, se acentúa el estado quebradizo y susceptibilidad a la fractura, cambia la densidad del conjunto y pérdida del poder germinativo.

#### TEMPERATURA

Existen dos temperaturas a considerar, la del grano y la del aire. El aire caliente retiene más humedad que el aire frío. Si se incrementa la temperatura, la respiración del grano se acelera hasta niveles en que ésta se ve afectada por factores tales como inactivación térmica de las enzimas, falta de sustrato, limitaciones de oxígeno o por acumulación de bióxido de carbono que funciona

como inhibidor. Asimismo este efecto depende del contenido de humedad del grano.

#### **AERACION**

Hasta ahora, la aireación es el único método práctico de controlar la migración de humedad durante almacenamientos prolongados. La aireación equilibra la temperatura lentamente entre el centro y el exterior del silo o depósito. La acumulación de humedad puede ser eliminada por medio de un sistema de vacío que saca el aire caliente sin pasar a través de capas de grano frío. Los sistemas de aireación deben ser operados intermitentemente debido a que puede eliminarse de 0.25-0.5% de contenido de humedad del silo<sup>32</sup>

#### **INSECTOS**

Los insectos constituyen un problema importante para el almacenamiento de granos y semillas. Los insectos que pueden vivir en los cereales se pueden dividir entre los que se desarrollan dentro de los granos y los que viven fuera de ellos. La mayor parte de los insectos que atacan los granos son de origen subtropical y no invernan, por lo tanto se pueden limitar los daños con bajas temperaturas, así como con bajos contenidos de humedad.

#### **ROEDORES**

Son las plagas más dañinas destruyendo miles de toneladas de granos al año mundialmente. La respuesta al control de roedores es dotar los almacenes y silos con dispositivos anti-roedores y buenas medidas sanitarias.

#### **MICROORGANISMOS**

Los microorganismos más importantes en cuanto a conservación del grano se refiere, son los hongos, los cuales se multiplican con humedades relativas del aire inferiores a las necesarias para otros microorganismos. Solo las especies de *Aspergillus* y ciertas especies de *Penicillium* atacan al grano. Algunos hongos son

capaces de producir toxinas como la aflatoxina producida por *A. flavus*. La presencia de aflatoxinas en el grano, presenta problemas para su consumo, principalmente por el establecimiento de los límites permisibles<sup>32</sup>

### 3.2.3. Deterioro durante el almacenamiento.

Se cuenta con suficiente información acerca de los cambios que se producen físicamente en los granos y del deterioro ocasionado principalmente por factores biológicos: Se han realizado estudios acerca de los cambios químicos ocurridos en cereales como el trigo. En estos estudios se reportan cambios en la acidez titulable, digestibilidad de proteínas, propiedades funcionales<sup>7,20,26,31</sup>. No sólo se han estudiado cereales sino leguminosas<sup>14,18,26</sup>. Estos estudios confirman la hipótesis de que ocurren cambios en el almacenamiento, lo que se desconoce es la magnitud de ellos.

Aunque son pocos los reportes que se tienen acerca de los cambios que ocurren en las macromoléculas del maíz durante el almacenamiento, se tienen antecedentes por los estudios realizados por Onigbinde<sup>24,25</sup>. Él estudió los cambios bioquímicos y nutricionales en el maíz almacenado a 0°, 20° y 55 °C por siete meses, tanto en grano entero y como en harinas, con contenidos de humedad del 13 y 14%. Los resultados obtenidos mostraron un incremento en la acidez titulable, en el nitrógeno amino libre, en los azúcares solubles y en la actividad lipolítica producida por hongos, así como una disminución en la digestibilidad proteica por actividad enzimática. Adicionalmente estableció que se presentaban reacciones entre grupos funcionales de aminoácidos libres, péptidos de cadena corta y proteínas. En un segundo trabajo, estudió los cambios composicionales y de digestibilidad proteica en maíz almacenado en condiciones ambientales (18 y 36.5°C, con una humedad relativa entre 30 y 97%), encontrando cambios no significativos en los azúcares solubles totales, en el pH y en el nitrógeno amino libre, pero una disminución en la digestibilidad proteica in

vitro. Los cambios observados fueron atribuidos a la presencia de enzimas endógenas y a la actividad microbiana resultado de infestaciones fungal y/o bacteriana.

### **3.3. Aspectos Químicos de las Macromoléculas**

#### **3.3.1. Lípidos**

Los lípidos son los constituyentes principales de las células almacenadoras de éstos en animales y plantas, y constituyen una de las reservas alimenticias importantes del organismo

Los lípidos presentes en los alimentos tienen propiedades físicas y químicas peculiares. Su composición estructura cristalina, comportamiento en la fusión y en la solidificación y su asociación con el agua y con otras moléculas no lipídicas son especialmente importantes por lo que respecta a las propiedades de textura que imparten, y a sus propiedades funcionales en diversos productos. Los complejos cambios que experimentan y las reacciones con otros compuestos que pueden ser deseables o no para la calidad de un alimento

##### **3.3.1.2. Clasificación**

Debido a que los lípidos son un grupo de compuestos muy diversos, se hace una clasificación muy general de ellos. En la tabla 3.7 se muestra la clasificación.

Tabla 3.7. Clasificación de los lípidos<sup>11</sup>

Clases	Subclases	Descripción
Lípidos simples	Acilgliceroles	Glicerol +ácido graso
	Ceras	Alcohol de longitud de cadena larga + ácido graso de longitud de cadena larga
Lípidos complejos	Fosfoacilgliceroles	Glicerol+ácido graso+fosfato+grupo que generalmente contiene nitrógeno
	Esfingomielinas	Esfingosina+ácido graso+fosfato+colina
	Cerebrósidos	Esfingosina+ácido graso+azúcar simple
	Gangliósidos	Esfingosina+ácido graso, carbohidrato complejo que contiene ácido siálico
Derivados de los lípidos	Materiales que satisfacen la definición de lípido pero no son lípidos simples ni complejos	Ejemplo: carotenoides, esteroides, vitaminas liposolubles.

### 3.3.1.2. Deterioro Químico

Las grasas y los aceites son susceptibles a diferentes reacciones de deterioro que reducen el valor nutritivo del alimento, y además producen compuestos volátiles que imparten olores y sabores desagradables. Esto se debe a la

reactividad de los grupos carboxilo y los dobles enlaces de las cadenas de ácidos grasos.

El deterioro de los lípidos puede dividirse en dos grupos de reacciones: de rancidez hidrolítica y de rancidez oxidativa<sup>4,11,26,41</sup>.

#### A. Rancidez Hidrolítica o Lipólisis.

Se produce por acción enzimática o por calentamiento en presencia de agua, y da lugar a la liberación de ácidos grasos libres. En ciertos alimentos, como la leche, que contienen ácidos grasos de cadena corta, la lipólisis libera estos ácidos grasos que imparten un olor desagradable. Los ácidos grasos también pueden unir iones metálicos que actúan como catalizadores en la reacción de autooxidación<sup>11</sup>.

En el caso de reacciones enzimáticas, la fuente de lipasas puede ser el propio alimento, como en la leche, o bien una contaminación microbiana por levaduras, hongos o bacterias<sup>5</sup>.

#### B. Rancidez Oxidativa o autooxidación.

En la rancidez oxidativa el oxígeno reacciona con los ácidos grasos insaturados espontáneamente o por la exposición al aire (autooxidación) o en la presencia de oxígeno y luz (oxidación fotosensibilizada). La oxidación lipídica también puede ocurrir debido a la actividad enzimática (oxidación enzimática), este tipo de oxidación es importante en algunos alimentos de origen vegetal<sup>5</sup>.

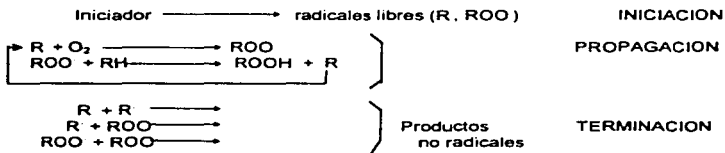
La reacción de autooxidación consiste en la reacción con oxígeno molecular y tiene lugar por mecanismos típicos de radicales libres. Las reacciones de autooxidación se caracterizan por:



- a) una marcada inhibición por especies químicas que se sabe que interfieren con otras reacciones de radicales libres bien establecidas
- b) estar catalizadas por la luz y por sustancias capaces de producir radicales libres
- c) alta producción de hidroperóxidos
- d) rendimientos cuánticos superiores a la unidad cuando las reacciones de oxidación se inician por la luz; y
- e) un periodo de inducción relativamente largo cuando se inician con el sustrato puro<sup>11</sup>.

El mecanismo de autooxidación consiste de tres etapas, iniciación, propagación y terminación<sup>4,5,11,26</sup>. La intensidad y la forma de oxidación, y los compuestos formados, dependen en gran parte de las condiciones de oxidación (temperatura, presencia de catalizadores, estado de dispersión de la grasa, radiaciones electromagnéticas, tipo de ácido graso, distribución y geometría de la doble ligadura y cantidad de oxígeno disponible)

El proceso se divide en tres etapas que se ilustran a continuación:



La etapa de iniciación es termodinámicamente difícil, por lo que la producción de los primeros radicales libres necesarios para iniciar la propagación de la reacción

se consigue normalmente por medio de un catalizador, ya sea metálico o por exposición a la luz. Una vez formado un número suficiente de radicales libres, la reacción en cadena se propaga al captar átomos de hidrógeno en las posiciones  $\alpha$  de los dobles enlaces (R). En estas posiciones se produce después la adición de oxígeno, dando lugar a la producción de radicales peróxidos ROO, que a su vez captan hidrógeno de los grupos  $\alpha$ -metilénicos RH de otras moléculas para dar hidroperóxidos ROOH y radicales R, estos a su vez reaccionan con el oxígeno repitiéndose nuevamente la secuencia de reacción descrita<sup>11</sup>

Los hidroperóxidos, productos primarios de la autooxidación lipídica, son relativamente inestables, e intervienen en numerosas y complejas reacciones de ruptura e interacción, que son las responsables de la producción de muchos compuestos de distintos pesos moleculares, capaces de producir aromas, y que son biológicamente significativos. Las reacciones de descomposición de los hidroperóxidos producen diferentes compuestos como peróxidos, aldehídos, cetonas, ácidos, epóxidos, polímeros y cetoalcoholes. Además de su descomposición, los hidroperóxidos tienen la capacidad de interactuar con proteínas, pigmentos y otros constituyentes de los alimentos, generando sustancias cuya naturaleza química puede ser dañina para la salud del hombre. Las reacciones entre peróxidos y proteínas son muy importantes ya que reducen el valor nutritivo de los alimentos. La interacción de lípidos y proteínas genera complejos lipoproteicos que se encuentran unidos por diferentes enlaces químicos que incluyen puentes de hidrógeno. Los hidroperóxidos causan la pérdida de actividad enzimática, disminuyen la solubilidad de las proteínas debido a la formación de complejos y agregados, ruptura de las cadenas, y pérdida de algunos aminoácidos específicos, como cisteína, histidina y metionina. Los radicales libres producidos por los hidroperóxidos no rompen los enlaces disulfuro de las proteínas, pero sí generan radicales de azufre a partir de proteínas con grupos sulfhidrilo libres<sup>4,20</sup>.

La extensión de la oxidación puede evaluarse por diferentes métodos, entre los que se pueden citar<sup>11</sup>:

- Índice de Peróxidos se basa en la capacidad de los peróxidos de liberar yodo del yoduro potásico o para oxidar los iones ferroso o férrico
- Análisis con ácido tiobarbitúrico (TBA) los productos de oxidación de los sistemas insaturados dan productos de reacción coloreados debido a la condensación de dos moléculas de TBA con una de malonaldehído
- Compuestos carbonílicos totales y volátiles estos métodos se basan en la medida de las hidrazonas producidas en la reacción de los aldehídos y las cetonas con la 2,4-dinitrofenilhidrazina
- Índice de anisidina en presencia de ácido acético, la p-anisidina reacciona con los aldehídos produciendo un color amarillento La absorbancia aumenta cuando el aldehído tiene un doble enlace conjugado con el doble enlace del grupo carbonilo, por lo que el índice de anisidina es sobre todo una valoración de los 2-alquenales
- Prueba de Kreis se basa en la medida del color rojo obtenido al reaccionar el epihidrin aldehído u otros productos de oxidación con el floroglucinol
- Espectrofotometría ultravioleta utiliza la medida de la absorbancia a 234nm (dienos conjugados) y 268nm (trienos conjugados) para seguir el proceso de oxidación
- Prueba del oxirano se basa en la adición de haluros de hidrógeno al grupo oxirano. El contenido de epóxido se determina valorando la muestra con HBr en ácido acético, en presencia de violeta cristal, hasta obtener un color verde azulado
- Índice de Yodo es una medida de los dobles enlaces de una grasa y se expresa en función del porcentaje de yodo absorbido
- Fluorescencia se basa en la aparición de compuestos fluorescentes a partir de la reacción de los carbonilos producidos por oxidación lipídica con constituyentes celulares que posean grupos amino libres.

Otro tipo de oxidación es por lipoxigenasa<sup>5</sup>. Esta enzima efectúa una oxigenación en lugar de una oxidación y sus sustratos específicos son ácidos grasos insaturados que contienen como mínimo una unidad de cis-cis-1,4-pentadieno. La enzima no actúa sobre los ácidos grasos con sistemas conjugados de insaturación, ni en los ácidos con dobles ligaduras en posición trans. Los ácidos grasos indispensables linoleico, linolénico y araquidónico, contienen una o más unidades de pentadieno, por lo que son fácilmente atacados por la enzima. La lipoxigenasa también puede atacar a varios compuestos que tienen dobles ligaduras en su estructura química, entre los cuales, los principales son algunos pigmentos naturales como los carotenos y las clorofilas. La lipoxigenasa actúa adicionando dos átomos de oxígeno a cada molécula de ácido graso, con lo cual se forman hidroperóxidos cis-trans ópticamente activos. La lipoxigenasa está presente en chicharos, soya y otros vegetales. Es sensible al calor y a pH ácidos y alcalinos<sup>5</sup>.

### **3.3.2. Proteínas**

Las proteínas son macromoléculas complejas formadas por aminoácidos que se unen mediante enlaces amida, llamados enlaces peptídicos, formando cadenas polipeptídicas que contienen hasta varios cientos de unidades. Los aminoácidos de la mayor parte de las proteínas pertenecen a un grupo reducido, constituido por veinte de estos compuestos.

#### **3.3.2.1. Deterioro**

Las proteínas pueden deteriorarse durante el almacenamiento, por interacción con otros compuestos, por hidrólisis enzimática o por desnaturalización<sup>11</sup>.

## DESNATURALIZACIÓN

Por desnaturalización proteica se entiende cualquier modificación en la conformación (secundaria, terciaria o cuaternaria) que no vaya acompañada de la ruptura de enlaces peptídicos, implicados en la estructura primaria<sup>11</sup>. Esta modificación es originada por el tratamiento de las proteínas con ácidos, álcalis, soluciones salinas concentradas, disolventes, temperaturas elevadas y radiaciones<sup>4,5,11</sup>

Entre los efectos de la desnaturalización pueden citarse

1. Disminución en la solubilidad por enmascaramiento de grupos polares
2. Modificación de la capacidad de retener agua
3. Pérdida de la actividad biológica
4. Incremento a la susceptibilidad de ataque de las proteasas por exposición de enlaces peptídicos vulnerables a estas enzimas
5. Incremento de la viscosidad intrínseca
6. Incapacidad de cristalizar

La desnaturalización puede ser reversible o irreversible. Cuando a la conformación de la proteína contribuyen enlaces disulfuro, si se rompen éstos, la desnaturalización suele ser irreversible.

La susceptibilidad de una proteína a la desnaturalización depende de la tendencia a que los agentes desnaturalizantes rompan las interacciones o enlaces que estabilizan las estructuras secundaria, terciaria y cuaternaria de las proteínas.

El calentamiento es el más común de los agentes físicos desnaturalizantes de las proteínas. La susceptibilidad de las proteínas a la desnaturalización por calor depende de numerosos factores, como la naturaleza de la proteína, la concentración de la misma, la actividad de agua, el pH, la fuerza iónica y la naturaleza de los iones presentes<sup>10</sup>. Esta desnaturalización va frecuentemente acompañada de un descenso en la solubilidad de la proteína, debido a la

exposición de los grupos hidrófobos y a la agregación de las moléculas proteicas desplegadas y de un incremento en la capacidad de absorción de agua de las proteínas<sup>5, 16, 25</sup>.

Las bajas temperaturas desnaturalizan algunas proteínas provocando la disociación de los oligómeros y la reorganización de las subunidades de los mismos.

Algunos tratamientos mecánicos, como el amasado empleado en la elaboración de pan y pastas, pueden desnaturalizar las proteínas a causa de la elevada fuerza de cizalla, modificándolas por ruptura de las  $\alpha$ -hélices.

La presión hidrostática y la radiación pueden tener efectos desnaturalizantes. Las proteínas suelen desnaturalizarse de manera irreversible al adsorberse a las interfases de agua y aire o agua y fases sólidas o líquidas no acuosas<sup>11</sup>.

Los procesos de desnaturalización se ven considerablemente afectados por el pH del medio en el que la proteína se encuentre. La mayoría de las proteínas son estables dentro de un determinado intervalo de pH y suelen desnaturalizarse cuando se exponen a pHs extremadamente altos o bajos. A valores extremos de pH se dan fuertes repulsiones electrostáticas entre grupos ionizados, en el seno de la molécula, lo que facilita su desplegamiento<sup>5</sup>.

La mayoría de los disolventes orgánicos pueden considerarse como agentes desnaturalizantes. Alteran la constante dieléctrica del medio y, por tanto, las fuerzas electrostáticas que contribuyen a la estabilidad de las proteínas. Los disolventes orgánicos no polares son capaces de penetrar en las regiones hidrófobas, rompiendo las interacciones de esta naturaleza y promoviendo la desnaturalización proteica. Su acción desnaturalizante puede deberse también a su interacción con el agua<sup>10, 17</sup>.

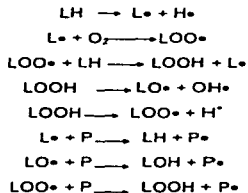
### REACCION CON LIPIDOS

Los hidroperóxidos formados durante la oxidación de los lípidos pueden interactuar y causar cambios en las propiedades estructurales y funcionales de las proteínas y/o aminoácidos. La susceptibilidad de las proteínas al daño por la oxidación de lípidos depende de los siguientes factores<sup>3</sup>.

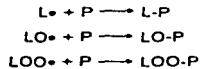
1. Accesibilidad a los aminoácidos reactivos de la molécula
2. Interacciones hidrofóbicas o enlaces de hidrógeno entre las moléculas de proteína y la superficie proteica que resulta en (a) aproximar los reactantes y (b) exposición de los aminoácidos de las cadenas laterales para la reacción
3. Presencia de radicales iniciadores en el sistema.

El mecanismo general de oxidación de lípidos y proteínas consiste en la formación del radical proteína, entrecruzamiento de lípidos y proteínas y polimerización<sup>4,5</sup>.

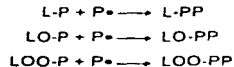
#### Formación del radical proteína



### Entrecruzamiento de lípidos y proteínas

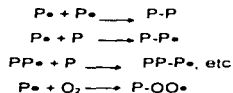


#### Polimerización



LH= lípido, P= proteína, LOH= peróxido, LOOH= hidroperóxido  
L•, H•, LOO•, LO•, P• = radicales

En soluciones acuosas, los radicales proteína formados pueden entrecruzarse ellos mismos a través de reacciones de tipo terminal o pueden entrecruzarse con otras moléculas proteicas por reacciones de desplazamiento y eventualmente polimerizarse en agregados insolubles



Para los aminoácidos más sensibles, histidina, cisteína/cisteína, metionina y lisina, la exposición a lípidos peroxidantes generan una variedad de productos. En el caso de la histidina, los lípidos peroxidantes causan una reacción de radicales libres con desaminación y descarboxilación para producir imidazol de ácido láctico y de ácido acético



## OXIDACION DE AMINOACIDOS

Los aminoácidos sulfurados son oxidados a sulfona de metionina y ácido cisteico, triptofano a N-formil-quinurenina, tirosina, serina y treonina pueden ser parcialmente oxidados, pero sólo bajo condiciones muy severas.

Los compuestos oxidativos, tal como peróxidos, aniones, radical superperóxido o quinonas pueden estar presentes de manera natural en los alimentos como resultado de reacciones enzimáticas y no enzimáticas como la oxidación de lípidos.

En contacto con los lípidos, los residuos de metionina son oxidados a sulfóxido de metionina probablemente debido a la presencia de peróxidos<sup>3</sup>

## REACCION CON CARBOHIDRATOS REACCION DE MAILLARD

La reacción de Maillard consiste de un grupo muy complejo de transformaciones que traen consigo la producción de melanoidinas coloreadas que van desde el amarillo claro hasta el café oscuro, o incluso negro. Para que se lleven a cabo se requiere de un azúcar reductor (cetosa o aldosa) y un grupo amino libre proveniente de un aminoácido o de una proteína<sup>4,5,30,41</sup>

La reacción está influenciada por los siguientes parámetros

a) pH alcalino

b) Temperaturas elevadas, pero debido a que su energía de activación es baja, también se observa hasta en condiciones de refrigeración. La energía de activación es del orden de 16 a 30 kcal/mol.

c) **Actividad acuosa.** Los alimentos de humedad intermedia son los más propensos, los valores de  $a_w$  de 0.6 a 0.9 son los que más la favorecen: una actividad acuosa menor no permite la movilidad de los reactantes y se inhibe el mecanismo, y una mayor produce el mismo efecto pero por dilución de los reactantes.

d) El tipo de aminoácido es decisivo, puesto que éstos serán más reactivos en la medida en que se incremente el tamaño de la cadena y tengan más de un grupo amino. Por ello, el aminoácido más activo es la lisina con grupo amino en la posición  $\epsilon$ , también intervienen la arginina, histidina y triptofano. En sistemas modelo, la velocidad de reacción se incrementa con los aminoácidos cuyo grupo amino está más alejado del carboxilo.

e) Los azúcares reductores que más favorecen la reacción de Maillard son las pentosas, seguidas de hexosas, aldosas y cetosas. Los monosacáridos son más efectivos que los disacáridos. En términos generales, la xilosa es el azúcar más activo, seguido de la galactosa, glucosa, fructosa, lactosa y maltosa.

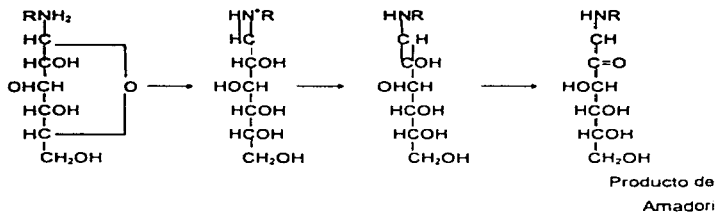
f) Los metales como el cobre y el hierro tienen un efecto catalizador sobre la formación de melanoidinas.

La reacción de Maillard puede dividirse en cuatro etapas: condensación del azúcar reductor con el grupo amino, transposición de los productos de condensación, reacción de los productos de la transposición y polimerización y formación de sustancias coloreadas<sup>41</sup>.

a) **Condensación del azúcar reductor con el grupo amino**

El azúcar debe tener una estructura abierta para que su carbonilo sea atacado nucleofílicamente por el par de electrones del nitrógeno del grupo amino, y formar así la base de Schiff correspondiente:



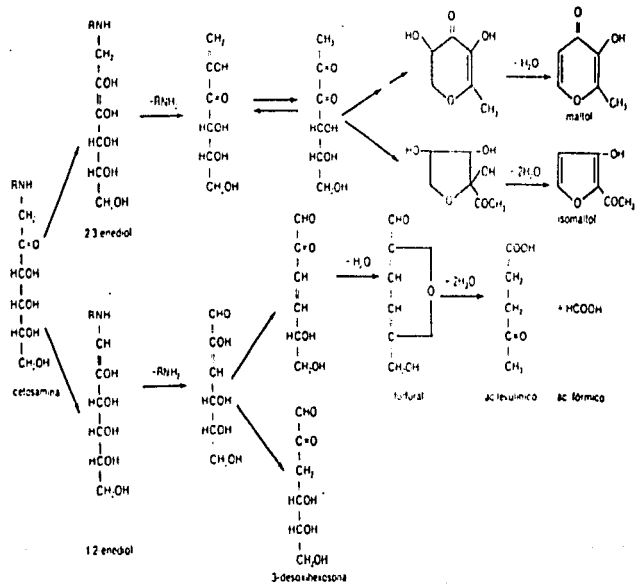


### c) Reacción de los productos de la transposición

De acuerdo con el pH, la actividad acuosa y la temperatura, los compuestos formados pueden sufrir modificaciones muy profundas. En esta fase aparecen olores, se incrementa el poder reductor, se observan ligeras tonalidades amarillas y aumenta la absorción de las radiaciones ultravioleta.

Las principales reacciones que suceden son de deshidratación de los azúcares por isomerización enólica, con lo cual se sintetiza furfural y sus derivados, así como reductonas y dehidrorreductonas. también se producen compuestos como el maltol, el etilmaltol y el acetil-furano.

Figura 3.2. Mecanismos de Transformación de Cetosaminas



Además de la deshidratación se presentan igualmente mecanismos de fragmentación de los azúcares enólicos, con lo cual se favorece la síntesis de un gran número de compuestos de peso molecular bajo, como aldehídos, cetonas, ácidos y alcoholes de dos a cuatro átomos de carbono. Entre éstos se encuentra el gliceraldehído, el piruvaldehído, el acetol, la acetoina y el diacetilo, todos con olor característico.

La mayoría de las sustancias formadas son insaturadas y muy reactivas por lo que a su vez siguen diversas rutas químicas dependiendo de las condiciones de acidez, temperatura, etc.

En la figura 3.2 se muestran dos mecanismos de transformación que puede seguir una cetosamina, mediante deshidrataciones, isomerizaciones y desaminaciones se generan otros compuestos insaturados también inestables, como las osulonas y las desoxiosulonas, éstos también reaccionan con aminoácidos por medio de la llamada degradación de Strecker y producen un aldehído con un átomo de carbono menos que el aminoácido,  $\text{CO}_2$  y nuevas sustancias carbonílicas.

El aldehído formado puede a su vez condensarse con grupos amino para así iniciar la reacción de Maillard. La degradación de Strecker por sí sola no sintetiza compuestos coloreados, sino muchos aldehídos de bajo peso molecular que contribuyen a retroalimentar la reacción, además de producir los olores típicos.

#### d) Polimerización y formación de sustancias coloridas

La fase final de esta reacción es la polimerización de un gran número de compuestos insaturados que trae consigo la síntesis de las sustancias coloreadas llamadas melanoidinas. Para la síntesis del polímero influyen decididamente algunas moléculas como el furfural, el hidroximetilfurfural, las osulonas, las desoxiosulonas, los aldehídos, las pirazinas, los imidazoles, las cetonas y las

reductonas; como muchos de ellos tienen grupos carbonilo, se favorece la condensación aldólica.

La estructura de las melanoidinas es muy compleja y presentan un máximo de absorción a 420 o 490 nm<sup>7,11,12</sup>.

#### IV. HIPOTESIS

**Las macromoléculas del maíz sufrirán cambios químicos que estarán en función de las condiciones de temperatura y humedad que prevalecen durante el periodo de almacenamiento**



## V. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Para la realización de este trabajo de investigación se utilizó maíz del híbrido H-447 cultivado en el ciclo 1994, proveniente de la Unidad de Investigación de Granos y Semillas del Instituto de Biología ubicado en Pabellón de Arteaga, Aguascalientes, México. Con el objeto de eliminar el efecto causado por microorganismos, el maíz se trató previamente con el fungicida Tiletión 500 (clorotalonil) con una concentración de 15% (v/v) y en una proporción de 10 ml/kg.

### 5.1. Establecimiento de las condiciones de almacenamiento

Para estudiar el efecto que tienen la temperatura y la humedad durante almacenamiento en el maíz, objetivo de este trabajo, el maíz fue sometido a las siguientes condiciones de almacenamiento

% HUMEDAD	TEMPERATURA	
	40 °C	20 °C
18	T 1	T2
15	T3	T4
10	T5	T6
10	TESTIGO ALMACENADO HERMÉTICAMENTE A 4°C	

Estas condiciones fueron seleccionadas tomando en cuenta las condiciones climatológicas (de temperatura y humedades relativas) que son frecuentes en diversas localidades del país. Los contenidos de humedad contemplan desde lo favorable para la conservación del grano, hasta humedades de alto riesgo

probables de encontrar debido a las malas prácticas de conservación a falta de infraestructura.

Para lograr las condiciones de almacenamiento, las muestras fueron colocadas en contenedores de plástico cerrados que mantenían humedades relativas en equilibrio con la humedad del grano a través del empleo de soluciones saturadas de diferentes sales. En la tabla siguiente se muestran las soluciones salinas empleadas para el control de la humedad<sup>1,34,37</sup>.

% Humedad del grano	Solución Saturada	% Humedad Relativa a 40°C	% Humedad Relativa a 20°C
18	Nitrato de Potasio	89	93
15	Cloruro de Sodio	75	75

En el caso de la humedad baja de almacenamiento no se emplearon soluciones salinas, sino que las muestras se mantuvieron cerradas herméticamente, alcanzando una humedad del grano del 10%

La temperatura fue controlada manteniendo los contenedores en incubadoras Ambi-Hi-Lo Chamber N° 3554-25

Una vez logradas las condiciones de almacenamiento se estableció un calendario de muestreo en función de éstas. El calendario se muestra en la figura 5.1.

Figura 5.1. Calendario de Muestreo y Condiciones de Almacenamiento

t	10	20	30	40	50	60	65	70	75	85	90	100	105	115	175
40°C	1	1 3 5	1	1 3 5	1	1 3 5			3 5		3 5		3 5		
20°C		2	4	2	4	2		4	2	4	2	4	2	4	6
testigo							Tg							Tg	Tg

t = tiempo en días

**TRATAMIENTO**

1  
2  
3  
4  
5  
6  
Testigo

**CONDICIONES**

18% humedad y 40 °C  
18% humedad y 20 °C  
15% humedad y 40 °C  
15% humedad y 20 °C  
12% humedad y 40 °C  
12% humedad y 20 °C  
humedad medio ambiente y 4 °C

**FRECUENCIA DE MUESTREO**

10 días  
20 días y a partir del 60 cada 15 días  
20 días y a partir del 60 cada 15 días  
20 días y a partir del 60 cada 15 días  
20 días y a partir del 60 cada 15 días  
60 días  
60 días

## **5.2. Establecimiento de las condiciones de evaluación de los lípidos**

Con el objeto de conocer y estudiar los cambios que se presentan en la fracción lipídica de los granos de maíz durante el almacenamiento, se evaluó el contenido de lípidos extraíbles, así como la rancidez hidrolítica y oxidativa de dichos lípidos.

La extracción en frío con éter etílico resultó ser precisa y exacta para la cuantificación y para la evaluación de los índices de deterioro (Apéndice 1 2)

Para la evaluación de la rancidez hidrolítica se empleó la técnica de titulación de ácidos grasos libres<sup>7,10</sup> (Apéndice 1 4) mientras que la rancidez oxidativa fue evaluada por el método colorimétrico de índice de peróxidos<sup>10</sup> (Apéndice 1 3)

## **5.3. Establecimiento de las condiciones de evaluación de proteínas**

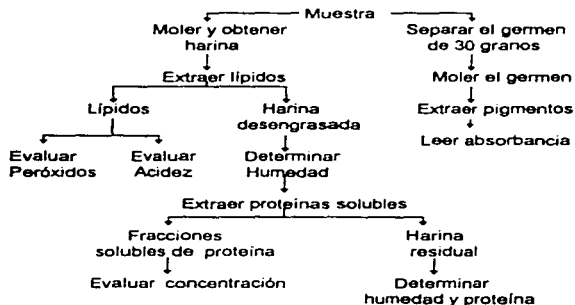
Para conocer el efecto de las condiciones de almacenamiento sobre las posibles interacciones macromoleculares, se evaluó el contenido de proteínas extraíbles mediante su solubilidad<sup>26, 27, 28</sup>. Se obtuvo la fracción soluble en agua, albúminas, la soluble en sal, globulinas y la soluble en alcohol, prolamina (Apéndice 1 6). Para evaluar la concentración de albúminas y globulinas se siguió el método de Lowry (Apéndice 1.7), mientras que las prolaminas fueron evaluadas mediante el método turbidimétrico (Apéndice 1 8)

La evaluación del contenido de proteína en la harina de maíz entera se realizó por el método de Kjeldahl<sup>2</sup> (Apéndice 1.9).

#### 5.4. Establecimiento de las condiciones de evaluación del oscurecimiento no enzimático del embrión.

Para conocer la evolución del oscurecimiento en el embrión de maíz generado por reacciones del tipo de Maillard, se optimizó un procedimiento para la extracción de los pigmentos o melanoidinas. Se exploraron diversos métodos enzimáticos y con soluciones de diferente pH. El método que mejores resultados mostró fue el tratamiento con pepsina al 0.3% en ácido clorhídrico 0.1 N durante 24 hrs a 40°C. La solución de pigmentos extraídos fueron evaluados espectrofotométricamente a 420 nm. La metodología empleada se presenta en el apéndice 1 (A. 1. 10)

#### 5.5. Secuencia de análisis.



## **VI. RESULTADOS Y DISCUSION**

**En esta sección se presentan y discuten los resultados encontrados tras plantear el objetivo de estudiar los cambios químicos que ocurren durante el almacenamiento bajo diferentes condiciones**

El presente trabajo forma parte de un proyecto global de investigación de maíz. Paralelamente a este estudio, y dentro de dicho marco de investigación, se evaluaron los perfiles calorimétricos del almidón y de las fracciones solubles e insolubles de las proteínas del maíz almacenado bajo las mismas condiciones que este proyecto. Los resultados encontrados por calorimetría diferencial de barrido (DSC) coinciden con los presentados a lo largo de este trabajo y, cuando se requiera, serán comentados para contar con más elementos de discusión

Los resultados presentados incluyen la recuperación de lípidos extraídos y su integridad a través del índice de peróxido y la acidez titulable, la evaluación del oscurecimiento no enzimático del embrión y la extracción de albúminas, globulinas y prolaminas. Con el objeto de contar con un elemento de apoyo en el análisis y discusión de los resultados, se realizó un tratamiento estadístico de los mismos. Dado que el modelo del experimento no es balanceado e incompleto, la información desprendida del análisis estadístico es limitada y no siempre coincidió con los resultados observados.

### **6.1. Extracción de Lípidos**

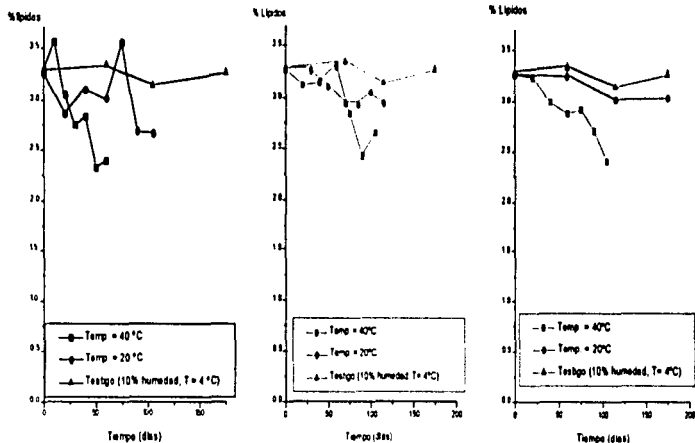
Se realizó esta determinación, con el objeto de evaluar los posibles cambios en la polaridad del material lipídico, y que se refleja en la cantidad de lípidos extraídos con un disolvente dado, que en este caso es éter etílico.

**Tabla 6.1.** Efecto de la humedad y temperatura de almacenamiento sobre la extracción de lípidos en maíz  
(g lípidos extraídos/ 100 g harina de maíz)

Tiempo (días)	Temperatura (°C)						
	40			20		4	
	Contenido de humedad (%)						
	18	15	10	18	15	10	10
0	3.28	3.28	3.28	3.28	3.28	3.28	3.28
10	3.55						
20	3.06	3.13	3.25	2.85			
30	2.74				3.70		
40	2.83	3.15	3.00	3.11			
50	2.33				3.11		
60	2.39	3.30	2.88	3.01		3.75	3.34
65							
70					2.94		
75		2.83	2.91	3.55			
85					2.93		
90		2.42	2.70	2.68			
100					3.05		
105		2.64	2.40	2.66			
115					2.94	3.02	3.15
175						3.03	3.27

La determinación se realizó una sola vez.

Figura 6.1. Efecto de la temperatura de almacenamiento en la extracción de lípidos del maíz



a) 18 % humedad al equilibrio

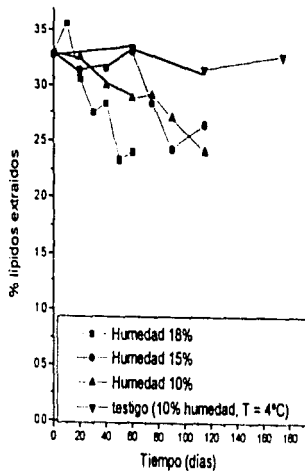
b) 15% humedad al equilibrio

c) 10% humedad al equilibrio

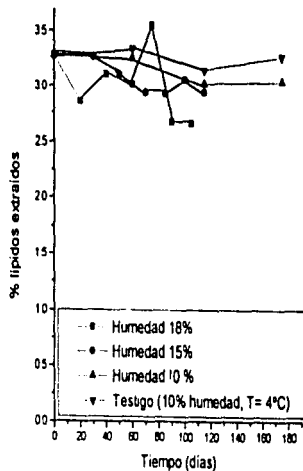
Nota: % lípidos = g lípidos extraídos/ 100 g harina



Figura 6.2 Efecto de la humedad de almacenamiento en la extracción de lípidos del maíz



a) Almacenamiento a 40°C



b) Almacenamiento a 20°C

Los resultados muestran una tendencia a la disminución en la extracción de los lípidos, que es apreciable en las figuras 6.1 y 6.2. Esta tendencia es aún más marcada cuando el maíz se almacenó a temperaturas elevadas, como se aprecia en la figura 6.2, en la que se muestra una disminución más acelerada durante el almacenamiento a 40°C, mientras que durante el almacenamiento a 20°C el porcentaje de lípidos extraídos es ligeramente más estable.

Estos resultados son congruentes con los obtenidos en las determinaciones del deterioro de lípidos. Como se discutirá más adelante, tanto el índice de peróxidos como el de acidez se incrementaron a lo largo del tiempo, lo que nos indica que hay un cambio en la composición de la fracción lipídica, sobretudo en la polaridad, disminuyendo la extracción. Esto, además, puede provocar nuevas interacciones con otras macromoléculas como las proteínas y los carbohidratos.

Los resultados que se han obtenido del estudio por DSC presentan un incremento en la señal de los perfiles calorimétricos del almidón. Este resultado nos ayuda a elucidar el tipo de interacciones que se presentan en el grano, es decir, un incremento en la señal indica que en el almidón se han formado nuevos enlaces dentro de su estructura, aparentemente en la fracción de amilopectina, dentro de la cual se puede incluir a los lípidos. De manera similar, en el almacenamiento, la señal en los termogramas de las proteínas fue disminuyendo por cambios en la conformación, que pueden explicarse por la exposición de nuevos grupos reactivos, principalmente de naturaleza hidrofóbica, capaces de interactuar con los lípidos. De esta manera, las interacciones podrían producir una disminución en la extracción tanto de lípidos, como de proteínas.

## 6.2. Índice de Peróxidos

Los cambios en la fracción lipídica debido al deterioro se evaluaron mediante el índice de peróxidos. Los resultados se presentan en la tabla 6.2 y 6.3, así como la representación gráfica de estos resultados mostrando el efecto de la temperatura y de la humedad en el almacenamiento del grano.

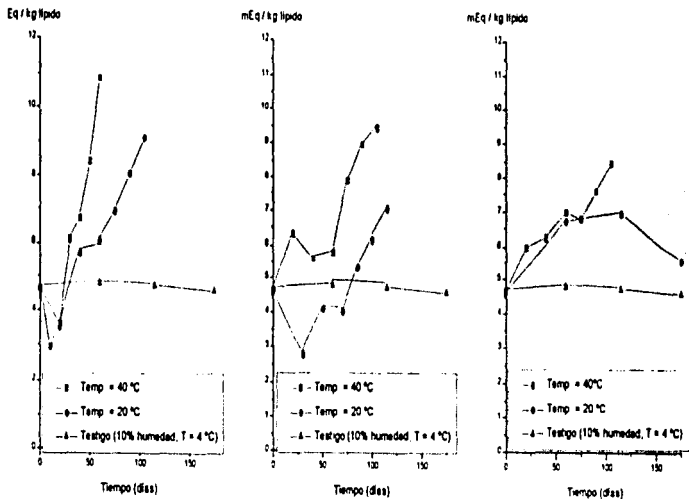
**Tabla 6.2** Índice de peróxidos de los lípidos extraídos del maíz almacenado a 40 °C ( meq / Kg de lípido )

Día	Contenido de Humedad (%)			Testigo
	18	15	10	
0	4.64 ± 0.22	4.64 ± 0.22	4.64 ± 0.22	4.64 ± 0.22
10	2.95 ± 0.07			
20	3.63 ± 0.03	6.33 ± 0.28	6.00 ± 0.42	
30	6.11 ± 0.35			
40	6.72 ± 0.15	5.61 ± 0.25	6.28 ± 0.0	
50	8.49 ± 0.11			
60	10.67 ± 0.43	5.81 ± 0.20	7.00 ± 0.24	4.60 ± 0.51
70				
75		7.89 ± 0.17	6.81 ± 0.03	
90		8.95 ± 0.20	7.62 ± 0.43	
105		9.45 ± 0.30	8.47 ± 0.17	
115				4.72 ± 0.81
175				4.57 ± 0.13

**Tabla 6.3** Índice de peróxidos de los lípidos extraídos del maíz almacenado a 20 °C ( meq / Kg de lípido )

Día	Contenido de Humedad (%)			Testigo
	18	15	10	
0	4.64 ± 0.22	4.64 ± 0.22	4.64 ± 0.22	4.64 ± 0.22
20	3.53 ± 0.18			
30		2.77 ± 0.13		
40	5.72 ± 0.62			
50		4.11 ± 0.33		
60	6.07 ± 0.22		6.73 ± 0.04	
70		4.04 ± 0.07		4.80 ± 0.51
75	6.92 ± 0.12			
85		5.33 ± 0.40		
90	8.05 ± 0.22			
100		6.17 ± 0.24		
105	9.10 ± 0.14			
115		7.05 ± 0.22	6.96 ± 0.03	4.72 ± 0.81
175			5.56 ± 0.02	4.57 ± 0.13

**Figura 6.3.** Efecto de la temperatura de almacenamiento en el Índice de peróxidos de los lípidos extraídos del maíz almacenado con diferentes contenidos de humedad

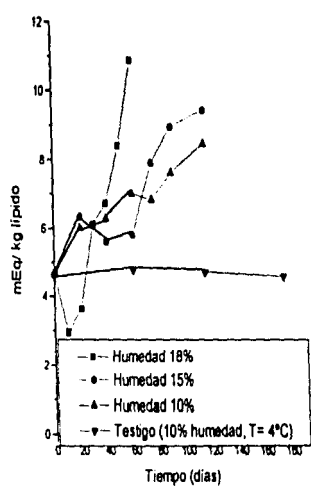


a) Contenido de humedad 18%

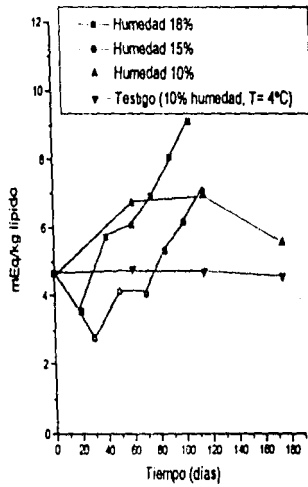
b) Contenido de humedad 15%

c) Contenido de humedad 10%

**Figura 6.4.** Efecto de la humedad de almacenamiento en el índice de peróxidos de los lípidos extraídos del maíz almacenado a diferentes temperaturas



a) Almacenamiento a 40°C



b) Almacenamiento a 20°C

En la representación gráfica se observa un incremento en la autooxidación debido al factor temperatura. En contraste, el efecto de la humedad fue menor, debido que a medida que aumenta el contenido de agua en el cereal, se establece un efecto de dilución de los radicales generados, evitando así que las reacciones de autooxidación se intensifiquen, sin embargo, la lipólisis se puede ver favorecida por la presencia de agua y los ácidos grasos ahora libres pueden presentar mayor susceptibilidad a la oxidación. Estas evidencias ya han sido reportadas por otros autores<sup>10</sup>.

El tratamiento estadístico demuestra (apéndice, tabla A 1) una diferencia altamente significativa ( $p < 0.01$ ) en el contenido de peróxidos debida a la temperatura de almacenamiento. El contenido de humedad del grano durante el almacenamiento no afecta, estadísticamente, el contenido de peróxidos.

Con el propósito de evaluar los efectos contra tiempo de manera más detallada, se procedió a efectuar un análisis rangos múltiples (apéndice tabla A 2). Con esto se estableció que el valor de peróxidos en el maíz almacenado a 40°C y 18% de humedad es significativamente mayor a partir de los 40 días, cuando se compara con los valores del testigo (4°C). De manera, similar se evaluaron las diferentes condiciones. Los datos se muestran en la siguiente tabla.

Condiciones de Almacenamiento		Tiempo de almacenamiento a que se establece diferencia (días)
% Humedad	T(°C)	
18	40	30
	20	40
15	40	40
	20	40
10	40	90
	20	115

Es importante recalcar que estos valores permiten establecer los tiempos máximos de almacenamiento o la estabilidad de los lípidos en el maíz en función de las condiciones. Para decidir sobre los tiempos máximos de almacenamiento se tendrá que considerar el destino que tendrá el maíz así como las especificaciones permitidas para los índices de peróxido, en este sentido y de acuerdo con la norma para aceite de maíz virgen del Codex Alimentarius la especificación indica un valor máximo de 10 meq/Kg de aceite<sup>6</sup>. De acuerdo con esta especificación el maíz almacenado muestra una buena estabilidad hasta el día 120 en las diferentes condiciones a excepción del tratamiento a 40°C y 18% de humedad en donde la muestra rebasó la especificación a los 60 días. Sin embargo las condiciones de alta temperatura muestran valores críticos a partir de los 90 días, que no aseguran la estabilidad de los lípidos sobre todo si se considera como materia prima para la obtención de aceite.

Al analizar la figura 6.3, el maíz almacenado a 40°C se observó una mayor formación de peróxidos que el almacenado a 20 °C. Así también, coincide con el tratamiento estadístico, que indica que mientras mayor sea la temperatura de almacenamiento, más pronto se establece una diferencia con el testigo. Las temperaturas elevadas aceleran la velocidad de formación de radicales libres que con el oxígeno dan lugar a la formación de peróxidos e hidroperóxidos. Asimismo se encontró que al incrementarse el contenido de humedad del maíz en almacenamiento, se presenta una ligera tendencia al aumento en el índice de peróxidos, posiblemente debido a una participación indirecta de las enzimas lipolíticas que generaron ácidos grasos libres ahora más susceptibles a la oxidación.

### 6.3. Índice de Acidez

La rancidez hidrolítica de los lípidos extraídos fue evaluada mediante la neutralización de los ácidos grasos libres. Los resultados que se obtuvieron se reportan como porcentaje de ácido oléico y se muestran a continuación

**Tabla 6.4.** Índice de acidez de los lípidos extraídos de las muestras de maíz almacenadas a 40°C  
(% ácidos grasos libres/ 100 g lípidos extraídos\*)

Día	Contenido de Humedad (%)			Testigo
	18	15	10	10
0	0.61 ± 0.01	0.61 ± 0.01	0.61 ± 0.01	0.61 ± 0.01
10	1.00 ± 0.06			
20	0.98 ± 0.07	0.66 ± 0.22	0.76 ± 0.03	
30	0.86 ± 0.03			
40	0.95 ± 0.01	0.78 ± 0.01	0.76 ± 0.05	
50	1.48 ± 0.14			
60	2.03 ± 0.09	0.70 ± 0.08	0.75 ± 0.00	0.61 ± 0.07
70				
75		0.87 ± 0.01	0.78 ± 0.12	
90		0.97 ± 0.01	0.80 ± 0.04	
105		1.21 ± 0.08	0.91 ± 0.00	
115				0.62 ± 0.08
175				0.63 ± 0.02

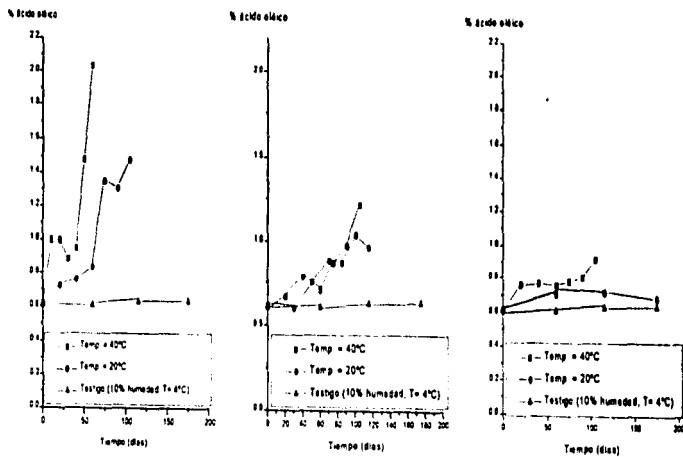
**Tabla 6.5** Índice de acidez de los lípidos extraídos del maíz almacenado a 20 °C  
(g ácidos grasos libres/ 100 g lípidos extraídos\*)

Día	Contenido de Humedad (%)			Testigo
	18	15	10	10
0	0.61 ± 0.01	0.61 ± 0.01	0.61 ± 0.01	0.61 ± 0.01
20	0.72 ± 0.01			
30		0.60 ± 0.03		
40	0.76 ± 0.03			
50		0.75 ± 0.17		
60	0.84 ± 0.04		0.70 ± 0.03	0.61 ± 0.07
70		0.88 ± 0.00		
75	1.34 ± 0.28			
85		0.87 ± 0.02		
90	1.30 ± 0.01			
100		1.04 ± 0.06		
105	1.47 ± 0.04			
115		0.96 ± 0.14	0.72 ± 0.01	0.62 ± 0.08
175			0.68 ± 0.05	0.63 ± 0.02

\* Calculado como ácido oléico



**Figura 6.5.** Efecto de la temperatura de almacenamiento en la acidez de los lípidos extraídos del maíz almacenado con diferentes contenidos de humedad

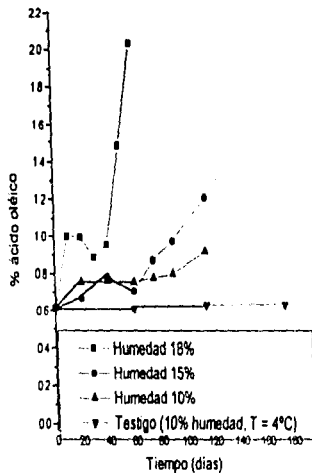


a) Contenido de humedad 18%

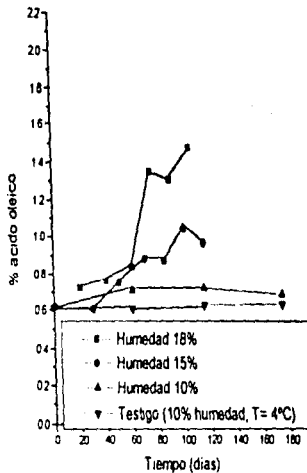
b) Contenido de humedad 15%

c) Contenido de humedad 10%

**Figura 6.6.** Efecto de la humedad de almacenamiento en la acidez de los lípidos extraídos del maíz almacenado con diferentes temperaturas



a) Almacenamiento a 40°C



b) Almacenamiento a 20°C

La acidez libre en los lípidos extraídos se incrementó notablemente en las muestras almacenadas con un mayor contenido de humedad. Estadísticamente, la humedad de almacenamiento presentó una influencia significativamente mayor ( $p < 0.01$ ) que la temperatura de almacenamiento (apéndice, tabla A.13). Sin embargo no se puede disociar el efecto humedad-temperatura sobre los valores alcanzados durante este estudio.

Si se toma como base la especificación para acidez de aceites que reportan los Organismos de Normalización, se puede comentar que las muestras almacenadas con contenidos de humedad intermedia y baja, presentan buena estabilidad antes de los 90 días, esto considerado el valor de 1.0% de ácido oléico<sup>8,10</sup>. Evidentemente no se considera la muestra testigo que mantuvo una buena estabilidad frente a la hidrólisis de los triglicéridos durante todo el estudio.

Al realizar las pruebas de Duncan (apéndice, tabla A.14) se encontró que no existe diferencia entre los diferentes tiempos de almacenamiento a las condiciones de humedad y temperatura establecidas. Sin embargo gráficamente se observa un incremento en el porcentaje de ácido oléico a lo largo del tiempo y en función de las condiciones de almacenamiento que rebasa la especificación anteriormente mencionada.

Al ser la acidez una medida de la rancidez hidrolítica, mediada esencialmente por vía enzimática, es necesaria la presencia de agua como medio de reacción, además de ser uno de los sustratos de la misma. Una cantidad de agua suficiente y temperatura capaz de proveer energía necesaria para la activación de la reacción, promueve un mayor porcentaje de ácido oléico liberado en aquellas muestras almacenadas bajo condiciones adversas.

Al liberarse los ácidos grasos, cambia la proporción de grasas neutras de la fracción lipídica, de esta manera puede explicarse la disminución en la extracción

de éstos lo que es congruente con los resultados reportados en la tabla VI.1. ya que se empleó un disolvente no polar.

#### 6.4. Evolución del Obscurecimiento no Enzimático del Embrión

El embrión de maíz es un depósito de nutrientes y las enzimas del grano, en el que fácilmente pueden ocurrir reacciones de Maillard, manifestadas por una coloración café en el embrión y deteriorando su calidad. Por tal motivo se evaluó el obscurecimiento en el embrión de las muestras

Como una manera de estandarizar la determinación de los pigmentos, se reporta las unidades como Absorbancia/g de embrión, suponiendo que una relación lineal entre la absorbancia y la cantidad de embrión de maíz empleado

**Tabla 6.6.** Obscurecimiento no enzimático del embrión del maíz almacenado a 40 °C, en función de la humedad en equilibrio (Absorbancia  $\lambda=420$  nm / g embrión)

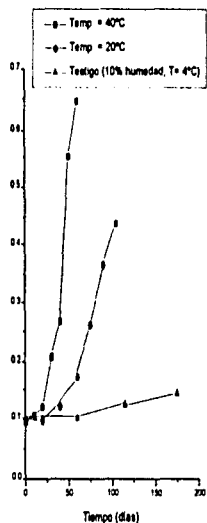
Día	Contenido de Humedad (%)			Testigo
	18	15	10	
0	0.09 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.09 ± 0.00
10	0.10 ± 0.00			
20	0.11 ± 0.00	0.09 ± 0.10	0.12 ± 0.00	
30	0.20 ± 0.00			
40	0.26 ± 0.03	0.14 ± 0.00	0.12 ± 0.00	
50	0.55 ± 0.06			
60	0.64 ± 0.04	0.15 ± 0.02	0.12 ± 0.00	0.10 ± 0.00
70				
75		0.21 ± 0.02	0.23 ± 0.00	
90		0.26 ± 0.01	0.26 ± 0.01	
105		0.32 ± 0.01	0.29 ± 0.01	
115				0.12 ± 0.04
175				0.14 ± 0.03

**Tabla 6.7. Obscurecimiento no enzimático del embrión del maíz almacenado a 20 °C, en función de la humedad en equilibrio. (Absorbancia  $\lambda=420$  nm / g embrión)**

Día	Contenido de Humedad			Testigo
	18%	15%	10%	10%
0	0.09 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.09 ± 0.00
20	0.09 ± 0.00			
30		0.08 ± 0.00		
40	0.12 ± 0.00			
50		0.12 ± 0.00		
60	0.17 ± 0.00		0.13 ± 0.01	0.10 ± 0.00
70		0.13 ± 0.00		
75	0.26 ± 0.04			
85		0.15 ± 0.00		
90	0.36 ± 0.01			
100		0.17 ± 0.00		
105	0.43 ± 0.02			
115		0.26 ± 0.00	0.12 ± 0.00	0.12 ± 0.04
175			0.17 ± 0.01	0.14 ± 0.03

Figura 6.7. Efecto de la temperatura de almacenamiento en el oscurecimiento no enzimático del embrión de maíz almacenado con diferentes contenidos de humedad.

(420 nm) g embrión



a) Contenido de humedad 18%

(420nm) g embrión



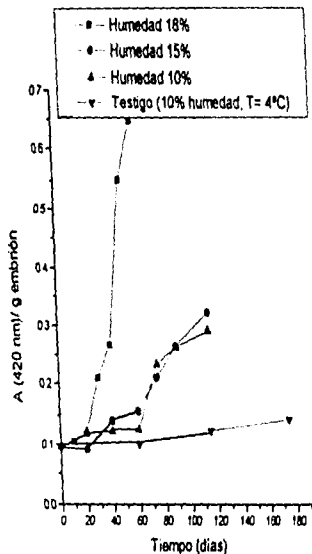
b) Contenido de humedad 15%

(420 nm) g embrión

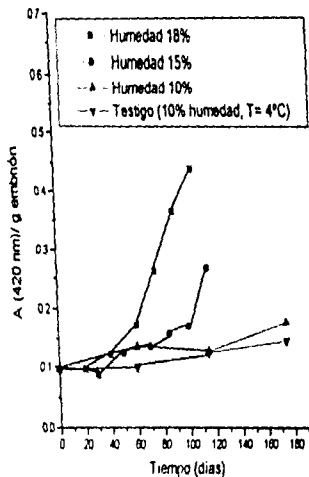


c) Contenido de humedad 10%

Figra 6.8. Efecto de la humedad de almacenamiento en el oscurecimiento no enzimático del embrión de maíz almacenado a diferentes temperaturas.



a) Almacenamiento a 40°C



b) Almacenamiento a 20°C

Durante el estudio de almacenamiento se pudo observar, en función del tiempo, un cambio en los atributos de color y textura en los granos sometidos a las condiciones de humedad más severas. El cambio más significativo fue el oscurecimiento que presentó el embrión. Se observó que, tanto la temperatura como la humedad elevada, afectaron a las muestras, pues aquellas almacenadas a 40°C y 18% de humedad presentaron un mayor oscurecimiento. El análisis estadístico mostró, que se establece una diferencia altamente significativa ( $p < 0.01$ ) sobre todo por el contenido de humedad. Es importante recordar que las reacciones de Maillard pueden tomar lugar en un amplio intervalo de temperatura por lo que se hace factible que se presenten de manera intensa incluso a 20°C.

Por medio de las pruebas de Duncan (apéndice: tabla A 14) se estableció el tiempo que las muestras mantienen las características originales de color en el embrión e indirectamente de viabilidad y calidad proteica en relación al comportamiento que mostró el testigo.

Condiciones de Almacenamiento		Tiempo de almacenamiento a que se establece diferencia (días)
% Humedad	T(°C)	
18	40	50
	20	90
15	40	90
	20	90
10	40	100
	20	175

En general, se observa que los cambios de coloración, en comparación con el maíz testigo, se presentan después de 90 días, a excepción del maíz almacenado a 40°C y 18% de humedad en el que la diferencia estadística se presenta a partir de los 50 días.



Así, el efecto producido por la humedad es más notorio en las muestras almacenadas con contenidos de humedad al equilibrio del 18%, mientras que las que se encontraban en condiciones del 15 y 10% presentaron valores semejantes. La humedad favorece las reacciones enzimáticas de hidrólisis que en estructuras como el embrión se presentan en grandes proporciones. De esta forma las proteínas y carbohidratos son sustratos que generan oligopéptidos y aminoácidos libres que proporcionan mayor contenido de extremos amino libre, así de la misma forma se incrementa la concentración de azúcares reductores. Todo esto crea un ambiente químico propicio para que tomen lugar las reacciones de Maillard, primero a través de la formación de base de Schiff y, eventualmente la formación de melanoidinas o pigmentos coloridos.

En la tercera etapa de la reacción de Maillard se forman sustancias insaturadas y muy reactivas que, a su vez pueden seguir diferentes rutas, según las condiciones de temperatura, acidez, humedad, etc. Por ejemplo, por la degradación de Strecker se generan nuevos grupos carbonilos que puede iniciar de nuevo la reacción de Maillard así como otros aldehídos que retroalimentan la reacción. Del mismo modo, es factible que se genere ácido levulínico y ácido fórmico que contribuyen a la acidez del medio, además de diversos compuestos insaturados capaces de generar radicales libres.

Como consecuencia se puede mencionar que estas reacciones provocan la baja disponibilidad de ciertos aminoácidos como la lisina, aminoácido indispensable y limitante en los cereales, disminuyendo así el valor nutritivo del maíz, que ha sido observado<sup>24,25</sup>.

De manera adicional y de suma importancia es la consecuencia que se alcanza en pérdida de la viabilidad de la semilla pues los componentes en el embrión se ven directamente afectados por las reacciones de obscurecimiento.

### 6.5. Extracción de Albúminas

Para evaluar los cambios presentados en las proteínas, fueron extraídas en función de su solubilidad<sup>27,28,29</sup>. Las albúminas fueron extraídas con agua desionizada y posteriormente se evaluó su concentración por el método de Lowry. A continuación se presentan los resultados obtenidos

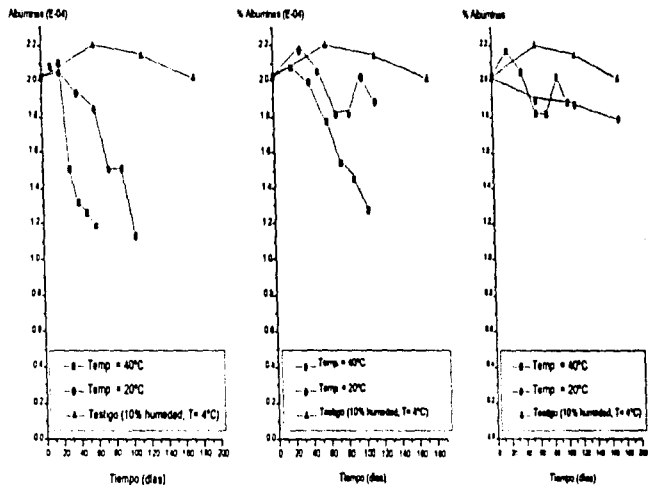
**Tabla 6.8.** Albúminas extraídas del maíz almacenado a 40°C, en función de la humedad al equilibrio (g albúmina/100 g harina de maíz seca) x 10<sup>-4</sup>

Día	Contenido de Humedad (%)			Testigo
	18	15	10	10
0	2.02 ± 0.08	2.02 ± 0.08	2.02 ± 0.08	2.02 ± 0.08
10	2.08 ± 1.44			
20	2.10 ± 1.56	2.07 ± 1.10	2.17 ± 3.79	
30	1.51 ± 2.49			
40	1.31 ± 0.76	1.91 ± 0.35	2.05 ± 3.18	
50	1.26 ± 3.80			
60	1.18 ± 1.37	1.78 ± 0.08	1.82 ± 0.07	2.20 ± 0.71
75		1.51 ± 3.22	1.82 ± 0.31	
90		1.45 ± 2.90	2.02 ± 0.98	
105		1.27 ± 0.94	1.88 ± 0.75	
115				2.14 ± 0.67
175				2.01 ± 1.42

**Tabla 6.9.** Albúminas extraídas del maíz almacenado a 20°C, en función de la humedad al equilibrio (g albúmina/100 g harina de maíz seca) x 10<sup>-4</sup>

Día	Contenido de Humedad (%)			Testigo
	18	15	10	10
0	2.02 ± 0.08	2.02 ± 0.08	2.02 ± 0.08	2.02 ± 0.08
20	2.04 ± 0.57			
30		2.17 ± 3.79		
40	1.93 ± 2.00			
50		2.05 ± 3.18		
60	1.84 ± 0.60			
70		1.82 ± 0.07		
75	1.51 ± 1.99			
85		1.82 ± 0.31		
90	1.51 ± 4.49			
100		2.02 ± 0.98		
105	1.13 ± 0.70			
115		1.88 ± 0.75		
115			1.87 ± 1.12	2.14 ± 0.67
175			1.78 ± 1.93	2.01 ± 1.42

**Figura 6.9.** Efecto de la temperatura de almacenamiento en el contenido de albúminas extraídas del maíz almacenado con diferentes contenidos de humedad al equilibrio

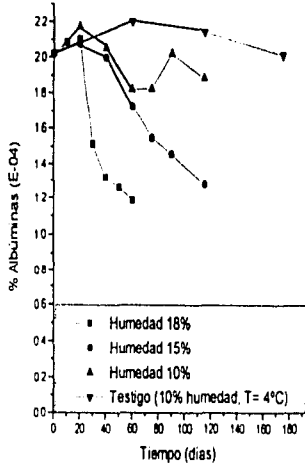


a) Contenido de humedad 18%

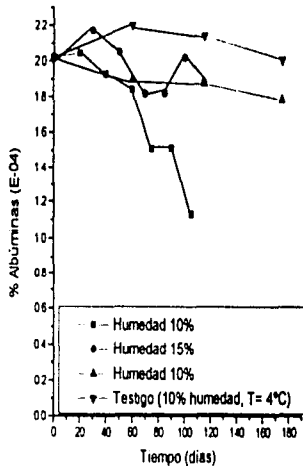
b) Contenido de humedad 15%

c) Contenido de humedad 10%

Figura 6.10. Efecto de la humedad de almacenamiento en el contenido de albúminas extraídas de maíz almacenado a diferentes temperaturas



a) Almacenamiento a 40°C



b) Almacenamiento a 20°C

La extracción de las albúminas, proteínas solubles en agua, disminuyó como una función del tiempo, sobre todo en las condiciones más severas. El análisis estadístico de los datos mostró una diferencia altamente significativa ( $p < 0.01$ ) debida a la humedad ya que aún a temperaturas de 20°C se obtuvieron rendimientos bajos en la extracción. Las pruebas de Duncan (apéndice, tabla A 20) muestran que se establece una diferencia con el testigo bajo las siguientes condiciones:

Condiciones de Almacenamiento		Tiempo de almacenamiento a que se establece diferencia con el testigo (días)
% Humedad	Temperatura (°C)	
18	40	10
	20	20
15	40	20
	20	20
10	40	85
	20	115

En las figuras mostradas, se observa que para las muestras almacenadas a 18% de humedad al equilibrio, el valor final alcanzado en la extracción es similar para ambas temperaturas. Es de significancia que la disminución en la extracción es del 50% comparada con la muestra testigo. Esto pone de manifiesto que para el caso de las albúminas la humedad fue un factor determinante en los cambios conformacionales que provocaron cambios notorios en su solubilidad.

Este mismo comportamiento se observa durante el almacenamiento a 10% de humedad al equilibrio. En contraste el comportamiento mostrado a 15% de humedad muestra mayor efecto de la temperatura ya que a 40°C la extracción es menor, alcanzando un valor de 58%. Se puede decir que a mayores contenidos de humedad se favorecen las modificaciones conformacionales de las albúminas que promueven las agregaciones entre ellas mismas bajando la solubilidad, así como un incremento en la interacción con otros componentes, los cuales pueden ser los lípidos oxidados o los ácidos grasos libres. A menores contenidos de humedad se presenta una mayor estabilidad frente a los cambios mencionados.<sup>15</sup>

Los resultados encontrados son congruentes a los encontrados por DSC. Es decir, a medida que disminuyó la extracción de las albúminas, los termogramas mostraban un decremento en la señal por cambios en la conformación de la proteína, así como la aparición de una segunda transición, interpretada como la formación de nuevos enlaces. Como consecuencia, disminuye la extracción de las albúminas debido a cambios en la conformación, agregación de la proteína e interacción con otros grupos reactivos.

ESTA TESTA NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

### 6.6. Extracción de Globulinas

De igual forma, para evaluar los cambios en las proteínas, se extrajeron las globulinas y se evaluó la cantidad extraída en solución salina. Los resultados se muestran en las figuras 6.11 y 6.12, así como sus respectivas representaciones gráficas.

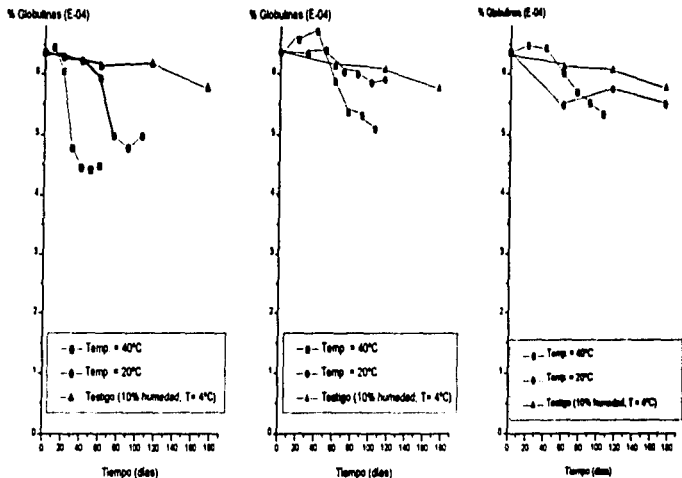
**Tabla 6.10.** Globulinas extraídas del maíz almacenado a 40°C, en función del contenido de humedad al equilibrio. (g globulina/100 g harina de maíz seca)  $\times 10^{-4}$

Día	Contenido de Humedad (%)			Testigo
	18	15	10	10
0	6.36 $\pm$ 1.62	6.36 $\pm$ 1.62	6.36 $\pm$ 1.62	6.36 $\pm$ 1.62
10	6.44 $\pm$ 3.36			
20	6.03 $\pm$ 1.89	6.58 $\pm$ 4.49	6.48 $\pm$ 1.24	
30	4.78 $\pm$ 1.84			
40	4.43 $\pm$ 0.90	6.72 $\pm$ 0.02	6.43 $\pm$ 4.78	
50	4.38 $\pm$ 2.47			
60	3.45 $\pm$ 1.72	5.86 $\pm$ 0.78	6.00 $\pm$ 3.41	6.11 $\pm$ 2.48
75		5.36 $\pm$ 0.50	5.67 $\pm$ 2.64	
90		5.30 $\pm$ 4.90	5.50 $\pm$ 5.58	
105		5.09 $\pm$ 6.30	5.32 $\pm$ 0.07	
115				6.05 $\pm$ 4.12
175				5.74 $\pm$ 0.77

**Tabla 6.11.** Globulinas extraídas del maíz almacenado a 20°C, en función del contenido de humedad al equilibrio. (g globulina/100 g harina de maíz seca)  $\times 10^{-4}$

Día	Contenido de Humedad (%)			Testigo
	18	15	10	10
0	6.36 $\pm$ 1.62	6.36 $\pm$ 1.62	6.33 $\pm$ 1.62	6.33 $\pm$ 1.62
20	6.26 $\pm$ 1.32			
30		6.33 $\pm$ 5.60		
40	6.21 $\pm$ 6.81			
50		6.40 $\pm$ 1.21		
60	5.90 $\pm$ 4.13		5.47 $\pm$ 4.21	6.11 $\pm$ 2.48
70		6.02 $\pm$ 2.16		
75	4.02 $\pm$ 1.21			
85		5.99 $\pm$ 0.61		
90	4.75 $\pm$ 0.51			
100		5.64 $\pm$ 6.38		
105	4.97 $\pm$ 1.23			
115		5.90 $\pm$ 5.45	5.49 $\pm$ 6.07	6.05 $\pm$ 4.12
175			5.47 $\pm$ 1.95	5.74 $\pm$ 0.77

**Figura 6.11. Efecto de la temperatura de almacenamiento en el contenido de globulinas extraídas del maíz almacenado con diferentes contenidos de humedad al equilibrio**



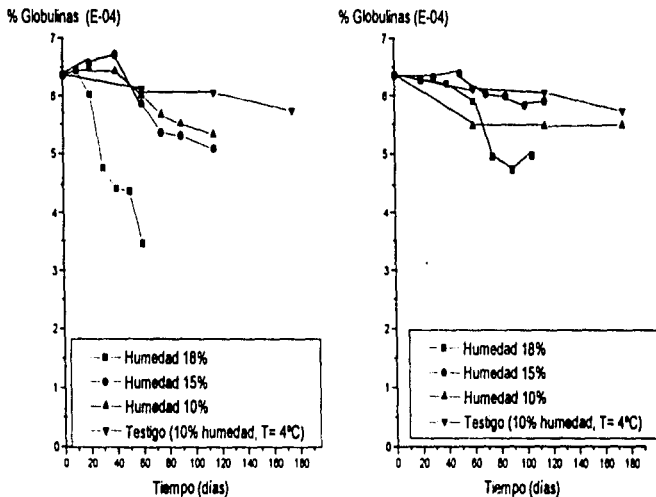
a) Contenido de humedad 18%

b) Contenido de humedad 15%

c) Contenido de humedad 10%



**Figura 6.12.** Efecto de la humedad de almacenamiento en el contenido de globulinas extraídas del maíz almacenado a diferentes temperaturas



a) Almacenamiento a 40°C

b) Almacenamiento a 20°C

Dado que las albúminas y globulinas tienen características similares en cuanto a su contenido de aminoácidos polares, tal como lisina y arginina, la extracción de globulinas se vio afectada de la misma forma que las albúminas. Estadísticamente, el análisis de varianza indicó una diferencia significativa dada por la humedad. Las pruebas de Duncan (Apéndice, tabla A 27) mostraron que no existe diferencia entre el testigo y los diferentes tratamientos. Sin embargo, se observa una tendencia a la disminución en la extracción a lo largo de tiempo cuando se compara con el testigo que se mantiene constante. Esta diferencia se debe a que el análisis estadístico únicamente compara las medias de los tratamientos.

Las gráficas muestran un inicio en la disminución de la extracción de globulinas a 40°C y 18% de humedad a partir de los 20 días, que coincide con los resultados observados en DSC en el estudio llevado de manera paralela a este proyecto. En éste se observa que la respuesta debido al cambio de transición debido a la desnaturalización comienza a decrecer a partir de los 10 días de almacenamiento hasta su completa desaparición a los 60 días mostrando una segunda transición a temperaturas más altas. Esto puede confirmar la presencia de nuevas estructuras generadas entre los propios conglomerados proteínicos o la interacción con otros componentes. En este punto puede ser muy probable que tomen lugar interacciones con residuos de lípidos oxidados o intermedarios cambiando la polaridad de las macromoléculas y disminuyendo como consecuencia la solubilidad. De aquí que las disminuciones en la extracción, tanto de globulinas y albúminas ocurra porque:

- a) Hay cambios en la conformación de las proteínas
- b) Los cambios en la conformación exponen residuos de aminoácidos capaces de interaccionar con otras moléculas

84  
c) Exposición de residuos de lisina y los extremos carboxilo incrementando la probabilidad de reacciones de oscurecimiento no enzimático, principalmente en el embrión.

### 6.7. Extracción de Protaminas

Al igual que las albúminas y las globulinas se evaluó la extracción de prolaminas. A diferencia de las fracciones anteriores, la concentración se evaluó turbidimétricamente y no por el método de Lowry, debido a que las prolaminas son solubles en soluciones alcohólicas y este disolvente interfiere en dicha determinación.

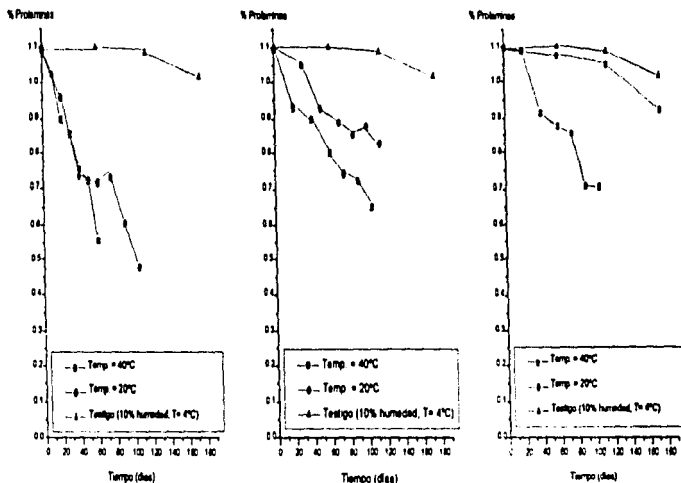
**Tabla 6.12.** Prolaminas extraídas del maíz almacenado a 40°C con diferentes contenidos de humedad al equilibrio (g de prolaminas/ 100 g de harina seca)

Día	Contenido de Humedad			Testigo
	18 %	15 %	10 %	10 %
0	1.09 ±2.51	1.09 ±2.51	1.09 ±2.51	1.09 ±2.51
10	1.02 ±0.44			
20	0.89 ±1.06	0.93 ±0.65	1.08 ±0.52	
30	0.85 ±0.19			
40	0.75 ±0.00	0.89 ±0.44	0.91 ±0.19	
50	0.72 ±0.96			
60	0.55 ±1.19	0.80 ±2.65	0.70 ±0.49	1.10 ±0.24
75		0.74 ±0.43	0.70 ±0.49	
90		0.72 ±0.60	0.87 ±0.84	
115		0.65 ±1.59	0.85 ±1.05	1.08 ±0.74
175				1.01 ±0.17

**Tabla 6.13.** Prolaminas extraídas del maíz almacenado a 20°C con diferentes contenidos de humedad al equilibrio (g prolaminas/ 100 g harina seca)

Día	Contenido de Humedad			Testigo
	18 %	15 %	10 %	10 %
0	1.09 ±2.51	1.09 ±2.51	1.09 ±2.51	1.09 ±2.51
20	0.95 ±0.82			
30		1.05 ±0.41		
40	0.73 ±0.47			
50		0.92 ±1.12		
60	0.71 ±0.79		1.07 ±0.49	1.10 ±0.24
70		0.88 ±1.63		
75	0.73 ±0.20			
85		0.85 ±1.11		
90	0.60 ±0.21			
100		0.87 ±0.74		
105	0.48 ±0.24			
115		0.82 ±0.24	1.04 ±1.11	1.08 ±0.74
175			0.92 ±0.71	1.01 ±0.71

Figura 6.13. Efecto de la temperatura de almacenamiento en el contenido de prolaminas extraídas del maíz almacenado con diferentes contenidos de humedad al equilibrio

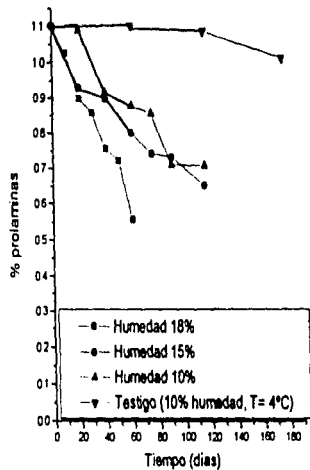


a) Contenido de humedad 18%

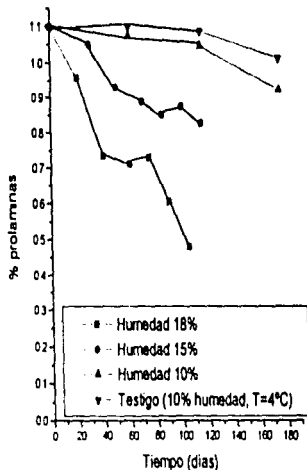
b) Contenido de humedad 15%

c) Contenido de humedad 10%

Figura 6.14. Efecto de la humedad de almacenamiento en el contenido de prolaminas extraídas del maíz almacenado a diferentes temperaturas



a) Almacenamiento a 40°C



b) Almacenamiento a 20°C

La fracción proteica del maíz que se vió más afectada fue la correspondiente a las prolaminas, provocando una disminución de hasta un 45 % en su extracción a lo largo del tiempo y en las condiciones de almacenamiento más adversas. Estadísticamente existe una diferencia altamente significativa ( $p < 0.01$ ) por la temperatura y la humedad, y se estableció significativamente interacción por estas dos variables. Las pruebas de Duncan (apéndice, tablas 31 y 32) indicaron que no existen diferencias entre los tiempos de almacenamiento bajo las diferentes condiciones. Sin embargo, las pruebas de Duncan realizadas a las interacciones establecidas mostraron los siguientes resultados

- a) No hay diferencia entre el almacenamiento a 20°C y 10% humedad y el testigo, almacenado a 4°C y 10% humedad (testigo)
- b) No hay diferencia entre el almacenamiento a 15% de humedad y 20°C y a 10% de humedad y 40°C,
- c) No hay diferencia entre el almacenamiento a 18% de humedad y 40°C, 15% de humedad y 40°C y 10% de humedad y 40°C. Es decir, durante el almacenamiento a 40°C no hay diferencias por la humedad del grano.

Este notable efecto de la temperatura y humedad en esta fracción se puede atribuir a las siguientes razones

- a) La temperatura de almacenamiento ocasiona cambios en la conformación de la proteína. Este cambio de conformación expone a los residuos de aminoácidos, que en el caso de las prolaminas están consituidas en gran parte por hidrofóbicos como alanina, valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, tirosina y metionina<sup>77</sup>. Estos al encontrarse en un medio abundante en agua, tienden a protegerse formando nuevos sitios de interacción que favorece la agregación o interacción con

compuestos de la misma polaridad, como los lípidos o residuos de éstos. Esto provoca que disminuya la extracción de estos componentes

b) De manera adicional, al deteriorarse los lípidos, se generan peróxidos que cambian el ambiente redox haciéndolo menos reductor. Las subunidades  $\beta$  y  $\gamma$  de la zeína (prolamina) contienen aminoácidos sulfurados que pueden ser oxidados e incrementar los enlaces S-S disminuyendo la facilidad a la extracción

c) Los grupos SH de los aminoácidos sulfurados, fácilmente donan el hidruro sufriendo rupturas homolíticas que dan origen a radicales que pueden participar con los originados por las reacciones de autooxidación de los lípidos. Esto puede dar origen a nuevos enlaces entrecruzados entre proteínas y lípidos

Los resultados que se observaron por DSC muestran un comportamiento muy cercano al encontrado en este trabajo. También se observó un marcado efecto por la temperatura, principalmente a 40°C, en el que aún a diferentes contenidos de humedad, el descenso en la solubilidad es muy similar.

Aunque no se realizó la extracción de la fracción insoluble de glutelinas, el comportamiento observado por DSC fue similar al de las prolaminas, por tener ambas un carácter no polar. Esta fracción pudo interactuar de manera semejante con los lípidos y los carbohidratos, contribuyendo a su disminución.

### **6.8. Balances de Proteína**

Con el propósito de confirmar que la disminución en los porcentajes de extracción de las diferentes fracciones se debían a una disminución en la solubilidad, se efectuó un balance del material nitrogenado. Las fracciones de proteína no extraídas, se determinaron por microkjeldahl. Los resultados se muestran en la tabla 6.14.



El balance de proteína consiste en sumar la concentración, en porcentaje, de las fracciones solubles extraídas (albúminas, globulinas y prolamina) y de la proteína no soluble (no extraída) que quedó, posiblemente desnaturalizada en la harina residual. La suma de estas cuatro fracciones debe ser aproximadamente igual al contenido de proteína inicial (de la harina entera). En la tabla 6.14 se presentan los balances realizados, mostrando, los contenidos de proteína soluble, insoluble, la suma de estas fracciones y el contenido de proteína total inicial para que puedan ser comparados.

% Proteína total inicial = % Proteína soluble total + %Proteína residual (insoluble)

Tabla 6.14. Balances de Proteína

Condiciones Almacenamiento	Día	% Proteína Soluble	% Proteína Insoluble	Solube + Insoluble	%Proteína Total Inicial
18% Humedad 40°C	10	1 0269	8 0184	9 05 + 0 22	9 71 + 0 14
	20	0 9001	8 3540	9 26 + 0 94	9 71 + 0 14
	30	0 8578	8 426	9 28 + 0 48	9 71 + 0 14
	40	0 8577	8 4441	9 20 + 0 08	9 71 + 0 14
	50	0 7237	8 4759	9 20 + 0 58	9 71 + 0 14
	60	0 5583	9 0851	9 64 + 0 17	9 71 + 0 14
18% Humedad 20°C	20	0 9589	8 0992	9 06 + 0 22	9 30 + 0 41
	40	0 7354	8 1651	8 90 + 0 32	9 30 + 0 41
	60	0 7134	8 3515	9 07+ 0 35	9 30 + 0 41
	75	0 7318	8 3105	9 04 + 0 11	9 30 + 0 41
	90	0 6074	8 5623	9 17 + 0 05	9 30 + 0 41
	105	0 4807	8 8122	9 29 + 0 10	9 30 + 0 41
15% Humedad 40°C	20	0 9399	7 9184	8 85 + 0 15	9 46 + 0 36
	40	0 9063	7 9636	8 86 + 0 21	9 46 + 0 36
	60	0 8092	8 0694	8 87 + 0 56	9 46 + 0 36
	75	0 7495	8 1521	8 90 + 0 25	9 46 + 0 36
	90	0 7305	8 4961	9 22 + 0 33	9 46 + 0 36
	105	0 6595	8 9932	9 65 + 0 27	9 46 + 0 36
15% Humedad 20°C	20	1 1601	7 9138	9 07 + 0 65	9 10 + 0 55
	40	0 9383	8 0444	8 98 + 0 12	9 10 + 0 55
	60	0 8977	8 1922	9 08 + 0 94	9 10 + 0 55
	75	0 8610	8 2077	9 06 + 0 22	9 10 + 0 55
	90	0 8852	8 1899	9 07 + 0 65	9 10 + 0 55
	105	0 8369	8 3132	9 15 + 0 21	9 10 + 0 55

Cont. tabla 6.14

Condiciones Almacenamiento	Día	% Proteína Soluble	% Proteína Insoluble	Soluble + Insoluble	% Proteína total Inicial
10 % Humedad 40 °C	20	1.0973	8.0015	9.09 + 1.09	9.70 + 0.61
	40	0.9238	8.2113	9.13 + 0.92	9.70 + 0.61
	60	0.8841	8.5379	9.42 + 0.88	9.70 + 0.61
	75	0.8628	8.4917	9.35 + 0.86	9.70 + 0.61
	90	0.8935	8.7651	9.65 + 0.89	9.70 + 0.61
	105	0.7151	8.9420	9.65 + 0.71	9.70 + 0.61
10% Humedad 20°C	60	1.0831	8.0117	9.09 + 0.06	9.21 + 0.09
	115	1.0553	7.8452	8.90 + 0.29	9.21 + 0.09
	175	0.9306	8.1131	9.04 + 0.41	9.21 + 0.09
Testigo	60	1.1104	7.9382	9.04 + 0.10	9.33 + 0.15
10% Humedad 4°C	115	1.0464	8.1917	9.28 + 0.18	9.33 + 0.15
	175	1.023	8.2127	9.23 + 0.36	9.33 + 0.15
To para todos	0	1.1075	8.1821	9.28 + 1.16	9.33 + 0.15

Porcentajes en base seca

La proteína total determinada en las harinas residuales se incrementó conforme al tiempo. Este incremento indica que las proteínas, al disminuir su extractibilidad, permanecieron insolubles en la harina residual, ya sea por interacción con otros compuestos o por cambios en la polaridad de la molécula, tal como se explicó anteriormente.

## VIII. CONCLUSIONES

Se presentaron cambios importantes en las macromoléculas del maíz durante el almacenamiento en condiciones de humedad y temperatura frecuentemente encontradas en nuestro país.

Se establecieron diferentes parámetros que nos permitieron evaluar el deterioro químico y la calidad del grano en función del tiempo. Con ello se identificaron las condiciones de almacenamiento que modifican significativamente a las macromoléculas del maíz, encontrando que la temperatura es un factor que influye de manera determinante en la extractibilidad de los lípidos y en la rancidez oxidativa de los mismos. Mientras que el efecto de la humedad se acentúa en la rancidez hidrolítica de los lípidos y en la extracción de las fracciones proteicas correspondientes a las albúminas y globulinas. Sin embargo, no puede separarse el efecto causado por la interacción de ambos factores durante el almacenamiento del maíz. Tal es el caso del oscurecimiento no enzimático del embrión y de la extracción de las prolaminas.

Mediante una comparación de las muestras de maíz almacenadas en cada condición contra el maíz testigo y comparando con las especificaciones de la NOM y del Codex Alimentarius, se establecieron los siguientes tiempos máximos de almacenamiento del maíz:

- Para la condición de almacenamiento de 40°C y 18% de humedad, los cambios se presentan a partir de los 10 días, como es el caso de las fracciones proteicas. En el caso de los lípidos se establece una diferencia significativa con respecto al testigo a partir de los 30 días. El oscurecimiento del embrión se presenta de manera más tardía, a los 50 días.
- Las muestras de maíz almacenadas bajo las demás condiciones, exceptuando la de humedad baja y temperatura de 20°C, son moderadamente estables.

frente a los cambios. Los lípidos se ven modificados a partir de los 40 días de almacenamiento y las proteínas a partir de los 20 días.

- En el caso del almacenamiento con bajo contenido de humedad al equilibrio y temperatura de 20°C, las macromoléculas se mantuvieron estables frente al deterioro.

Dependiendo del empleo que se vaya a dar al maíz almacenado bajo determinadas condiciones, se puede establecer el tiempo máximo de almacenamiento antes de que comiencen a presentarse cambios a nivel macromolecular que afecten sus propiedades funcionales y aprovechables tecnológicamente

## VII. BIBLIOGRAFIA

1. American Association of Cereal Chemists. Com. Chemistry and Technology USA (1987).
2. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 15 th. edition. USA. (1990).
3. Bartolini Roberto. El maíz. Agroguias Mundi-Prensa 2ª edición. Madrid (1989).
4. Belitz, H.D. et al. Química de los Alimentos. Ed. Acribia. Zaragoza (1988).
5. Bowers, J. Food Theory and Applications. 2nd. edition. Macmillan Publishing Co. N.Y. (1982)
6. Clayton T. A. and Morrison, W.R. Changes in Flour Lipids During the Storage of Wheat Flour. J. Sci. Fd. Agric. 23, 721-736 (1972).
7. Chung Hong Tsai, Ming-Shen Kong and Bonnie Sun Dan. Water Activity and Temperature Effects on Non Enzymic Browning of Aminoacids in Dried Squid and Simulated Model System. J. Food Sci. 56, 665-670. (1991).
8. CODEX Alimentarius. Vol. XI. Grasas y Aceites Comestibles. Italia (1983)
9. Dombink-Kurtzman, Bietz. Zein Composition in Hard and Soft Endosperm of Maize. Cereal Chem 70 (1) 105-108.
10. Egan, H., Kirk, R. and Sawyer, R. Análisis Químico de los Alimentos de Pearson. Ed. Continental, S.A. México (1993).
11. Fennema, O. R. Food Chemistry (2nd edition). Ed. Marcel Dekker, Inc. USA (1985).
12. Floyd, C.D., Rooney, L.W., and A.J. Buckholt. Measuring Desirable and Undesirable Color in White and Yellow Food Corn. Cereal Chemistry. 72, 488-490 (1995).
13. González A., U. El maíz y su conservación. Ed. Trillas. México (1995).
14. Hohlberg, A.I. Stanley, D.W. Hard to Cook Defect in Black Beans. Protein and Starch Considerations. J.Agr. Food Chem. 35, 571-576. (1987)
15. Hosoney, R.C. Principios de Ciencia y Tecnología de los Cereales. Ed. Acribia. Zaragoza (1991).

16. Kitabatake, N., Tahara, M. Thermal Denaturation of Soybean Protein at Low Water Contents. Agr. Biol. Chem. 54 (9) 2205-2212 (1990).
17. Mannheim, Chervan. Water Soluble Zein by Enzymatic Modification in Organic Solvents. Cereal Chem. 70(2) 115-121. (1993).
18. Marks, B.P., Stoshine, R.L., and Dunkle, L.D. Effects of Storage History and Hybrid on Carbon Dioxide Production by Reruffed Shelled Corn. Cereal Chemistry. 70, 656-661 (1993).
19. Matsumura, Y. Andonova, P. et al. Antioxidant Activities of Zein from Different Maize Varieties Against Docosahexanoic Acid Ethyl Ester. Cereal Chem. 7(5) 428-433. (1994).
20. Molteberg, E.L., Vogt, G. and Nilsson, A. Effects of Storage and Heat Processing on the Content and Composition of Free Fatty Acids in Oats. Cereal Chemistry 71, 88-93. (1994)
21. Montgomery, D.C. Design and Analysis of Experiments 3rd. edition. Ed. John Wiley & Sons. USA (1991).
22. Morrison & Boyd. Química Orgánica. 5ª edición. Ed. Addison-Wesley Iberoamericana. México (1990).
23. Norma Oficial Mexicana. NOM-FF-34-1982. Productos Alimenticios no industrializados para Uso Humano-Cereales-Maiz (Zea mays). Especificaciones.
24. Onigbinde, A.O. and Akinyele, I.O. Biochemical and Nutritional Changes in Corn (Zea mays) During Storage at Three Temperatures. J. Food Sci. 53, 117-123 (1988).
25. Onigbinde, A.O. and Akinyele, I.O. Compositional and Protein Digestibility Changes in Maize (Z. mays) and Cowpea (V. unguiculata) after Storage at Ambient Conditions. Food Chemistry 36 (1990) 35 (1990) 315-321.
26. Paredes-López, O, Barradas, Y. and Reyes-Moreno, C. Prediction of the Effect of Storage Conditions on Water Content and Water Activity of Common Beans. J. Food Sci. 54, 1373-1374. (1989).
27. Paulis, J.W., Bietz, J.A. and Wall, J.S. J. Agr. and Food Chem. 23, 197. (1975).
28. Paulis, J.W. Recent Development in Corn Protein Research J. Agric. Food Chem (30) 14-20. 1982.

29. Paulis, J.W., Landry, J. Relationship between Alcohol-Soluble Proteins Extracted from Maize Endosperm by Different Methods J. Agric. Food Chem. (31) 1317-1322. 1983.
30. Pepunsky, A.J., Paulis, J.W. Drying of High Moisture Corn: Changes in Properties and Physical Quality. Cereal Chem 66(4) 129-133.
31. Pixton, S.W., Warburton, S., Hill, S.T. Long-term Storage of Wheat III: Some Changes in the Quality of Wheat Observed During 16 years of Storage J. Stored Prod. Res. 11, 177-185 (1975).
32. Pomeranz, Y. Modern Cereal Science and Technology VCH Publishers. USA (1987)
33. Reyes C., P. El maíz y su cultivo AGT editor. México (1990)
34. Rockland, L.B. Saturated Salt Solutions for Static Control of Relative Humidity Between 5 and 40°C. Analytical Chemistry 32 1375-1376 (1960)
35. Shenouda, S. Theories of Protein Denaturation During Frozen Storage of Fish Flesh. Advances in Food Research 26, 275-311
36. Stryer, L. Bioquímica Vol I. Ed Reverté 3ª edición Barcelona (1993)
37. The Merck Index. (Eight edition) Pp 1299-1303 Merck & Co Inc. USA (1968)
38. Tannenbaum S.R. Nutritional and Safety Aspects of Food Processing. Marcel Dekker. USA (1979)
39. Whittaker & Tannenbaum. Food Proteins. AVI Publishing Co. USA (1977)
40. Weller, C.L., Paulse, M.R., Mbuvi, S. Germ Weight, Germ Oil Content and Estimated Oil Yield for Wet Milled Yellow Dent Corn as Affected by Moisture Content at Harvest and Temperature of Drying Air. Cereal Chem 66(4) 273-275 (1988)
41. Wong, D. W.S. Mechanism and Theory in Food Chemistry. AVI Book Published by van Nostrand Reinhold. New York. (1989).

## IX. APENDICE

### 9.1. Metodologías

#### 9.1.1. Molienda

Se molieron de 80 a 100 g de granos de maíz en un molino Super Lines Type SC-ES Mitsubishi Electric Co. hasta obtener una harina fina  
Se determinó proteína a la harina obtenida.

#### 9.1.2. Extracción de lípidos

La técnica se fundamenta en la solubilidad de los lípidos en disolventes no polares.

En un vaso de precipitados de 500 ml se pesa la harina obtenida en la molienda. Se añade éter etílico en una proporción 1:1 (peso harina volumen de éter) y se mantienen en agitación durante 15 min. Se filtra sobre papel Whatman No. 1 y se recibe el filtrado en un vaso de precipitados de peso conocido. El residuo del papel filtro se regresa al resto de la harina. Se repite la extracción 4 veces más, cambiando de papel filtro cada vez, o hasta que al colocar una gota del disolvente en papel filtro limpio, no quede residuo al evaporarse el disolvente. Evaporar el disolvente en frío en una campana de extracción. Pesar el vaso con aceite y determinar el contenido de lípidos extraídos.

$$\text{g lípidos extraídos/100 g de harina} = \frac{V2 - V1}{H} \times 100$$

donde: V2 = peso del vaso con aceite

V1 = peso del vaso vacío

H = peso de la harina



### 9.1.3. Determinación del Índice de Peróxidos.

Se fundamenta en la oxidación del ión ferroso a férrico y determinación espectrofotométrica del color rosa formado.

Pesar exactamente de 0.02-0.05 g de la muestra de lípidos en un tubo de ensaye. Adicionar un volumen de diclorometano-metanol (70/30 v/v) tal que, considerando el peso de la muestra de lípidos se alcance un volúmen final de 9.9 ml. Mezclar para disolver la muestra. Adicionar 0.05 ml de solución de tiocianato de amonio (30% m/v), mezclar y medir la absorbancia a 500 nm ( $E_2$ ) contra un blanco de la solución de cloruro ferroso (0.35% m/v, que contiene 2% de HCl 10 M). Mezclar, y después de exactamente 5 min., medir la absorbancia de nuevo ( $E_2$ ). Simultáneamente efectuar una determinación en blanco ( $E_1$ ). Preparar una gráfica de calibración de absorbancia vs.  $\mu\text{g}$  de Hierro usando una solución de 0.25-2.0 ml de cloruro férrico que contiene 10 mg de hierro/L y 9.65-7.9 ml de la mezcla de diclorometano/metanol, 0.05 ml de tiocianato de amonio y 0.05 ml de HCl 0.2 M<sup>10</sup>.

$$m = \mu\text{g Fe} = E_2 \cdot (E_0 + E_1)$$

$$\text{Índice de Peróxido} = \frac{m}{55.84 \cdot w} = \text{mEq / kg lípido}$$

donde: w = peso de lípidos

### 9.1.4. Determinación del Índice de Acidez

Se basa en la neutralización de los ácidos grasos generados por lipólisis de las grasas en el almacenamiento

Pesar alrededor de 0.15 g de lípidos en un vaso de precipitados de 50 ml. Añadir 10 ml de alcohol etílico previamente neutralizado con hidróxido de potasio 0.2 N. Agitar en caliente en una parrilla de agitación hasta ebullición incipiente. Titular con hidróxido de potasio  $2 \times 10^{-3}$  N empleando una bureta digital y fenolftaleína como indicador<sup>2,10</sup>.

$$\text{ácidos grasos libres/ 100 g aceite}^* = \frac{\text{ml gastado} \times \text{N KOH} \times 0.282}{\text{peso de muestra}} \times 100$$

donde: 0.282 = equivalentes de ácido oléico

\*expresados como ácido oléico

#### 9.1.5. Determinación de humedad

Se basa en la pérdida de peso por evaporación del agua contenida en la muestra por calentamiento en estufa con convección de aire.

Pesar de 2 a 3 g de harina en un pesafiltro que previamente ha sido pesado después de ponerlo a peso constante en la estufa durante 2 h. Secar la muestra de 2 a 3 h. Dejar que la muestra se enfríe en el desecador y pesar a temperatura ambiente<sup>2</sup>.

$$\text{g agua/ 100 g muestra} = \frac{a - b}{a} \times 100$$

donde: a = peso de muestra inicial

b = peso de muestra después de secar

#### 9.1.6. Extracción de proteínas<sup>27,28,29</sup>

Se basa en la solubilidad de las diferentes fracciones proteicas.

**a. Albúminas.**

**Pesar 10 g de harina desengrasada y añadir 50 ml de agua desionizada fría. Afitar en frío durante 1 h. Centrifugar en refrigeración a 8000 rpm durante 10 min. Agitar el residuo con 25 ml de agua desionizada fría durante 1 h y centrifugar en refrigeración a 8000 rpm/10 min. Unir los sobrenadantes.**

**b. Globulinas.**

**Agitar en frío el residuo anterior con 50 ml de una solución de cloruro de sodio 0.05 M durante 1 h. Centrifugar a 8000 rpm/10 min. Agitar el residuo con 25 ml de solución de NaCl y centrifugar a 8000 rpm/10 min. Unir los sobrenadantes**

**c. Prolaminas.**

**Agitar a temperatura ambiente y durante 1 h el residuo anterior, con 100 ml de etanol 70%-acetato de sodio 0.5%. Centrifugar a 8000 rpm/ 10 min. Repetir. Unir sobrenadantes**

**9.1.7. Evaluación de Albúminas y Globulinas. Método de Lowry.**

**Reactivo A:** carbonato de sodio 2% y tartrato de sodio 0.02% en NaOH 0.1 M

**Reactivo B:** sulfato de cobre 0.5%. Disolver el sulfato de cobre y añadir 1 gota de ácido sulfúrico concentrado.

**Reactivo C:** mezcla de 50 ml del reactivo A y 1 ml de reactivo B. Preparar inmediatamente antes de usarse.

**Reactivo D:** mezcla de 1 parte de reactivo de Folín-fenol comercial con una parte de agua.

**Colocar en tubos de ensaye etiquetados 1 ml de las proteínas en solución adecuadamente diluidas (0.5:10 para albúminas y 1:10 para globulinas). Adicionar, tomando el tiempo, 3 ml del reactivo C. Después de exactamente 10 min adicionar 0.3 ml del reactivo D. Agitar. Dejar reposar a temperatura ambiente**

durante 30 min. Determinar la absorbancia del color azul producido a 750 nm contra un blanco preparado de la misma manera pero usando 1 ml de agua en vez de solución problema. La concentración de proteína se calcula preparando una curva patrón preparada con albúmina bovina sérica en concentraciones de 10 a 100 microgramos/ ml tratados de la misma manera con los reactivos.

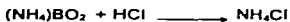
#### 9.1.8. Evaluación de Prolaminas Método turbidimétrico.

Mezclar 1 ml de las prolaminas en solución con 4 ml de ácido sulfosalicílico al 2.5%. Dejar reposar 10 min a temperatura ambiente. Medir espectrofotométricamente la turbidez a 600nm, utilizando como blanco 1 ml de agua tratada de la misma manera. La concentración de proteínas se calcula a partir de una curva patrón preparada con albúmina bovina sérica en concentraciones de 0.5 a 1.5 mg/ml tratados de la misma manera con los reactivos.

#### 9.1.9. Determinación de Proteína por Microkjeldahl.

Las proteínas y demás materia orgánica son oxidadas por el ácido sulfúrico, el nitrógeno que se encuentra en forma orgánica se fija como sulfato de amonio. Al hacer reaccionar esta sal con una base fuerte, se desprende amoníaco que se destila y se recibe en un volumen conocido de ácido bórico. El exceso de base se neutraliza con ácido clorhídrico valorado.

Las reacciones que se llevan a cabo son las siguientes:



Pesar 1 g de harina en un papel delgado blanco y colocar en un tubo para proteína. Adicionar 10 ml de ácido sulfúrico concentrado y una pastilla de catalizador. Colocar el tubo en el digestor TECATOR, abrir el extractor de vacío y calentar hasta la total destrucción de la materia orgánica. La solución debe quedar completamente cristalina (4 h aprox.). Enfriar los tubos y destilar en la unidad TECATOR, recibiendo el destilado en 50 ml de ácido bórico (40 g de ácido bórico + 35 ml de fenolftaleína al 0.1% + 10 ml de mezcla rojo de metilo 0.066%-verde de bromocresol 0.033%) Titular con una solución valorada de HCl 0.1 N. Realizar una determinación en blanco de los reactivos, empleando la misma cantidad de papel pero sin muestra

$$\text{g nitrógeno/ 100 g muestra} = \frac{(mM - mB) \times N \times 0.014}{\text{peso muestra}} \times 100$$

$$\text{g proteína/ 100 g muestra} = (\text{g nitrógeno/ 100 g muestra}) \times 6.25$$

donde: ml M = ml gastados de ácido en la muestra

ml B = ml gastados de ácido en el blanco

N = normalidad del ácido clorhídrico

0.014 = meq nitrógeno

#### 9.1.10. Evaluación del Obscurecimiento no Enzimático.

La matriz proteica que se concentra en el embrión de maíz es hidrolizada con pepsina para liberar los pigmentos generados por reacción de Maillard.

Separar el germen de 30 granos. Moler en mortero hasta obtener una harina. Pesar 400 mg en un tubo de ensayo con tapa de rosca y adicionar 5 ml de pepsina al 0.3 % en ácido clorhídrico 0.1 N. Colocar el tubo en forma horizontal en una incubadora a 40 °C durante 24 h. Dejar reposar el tubo y filtrar sobre papel Whatman N° 42. Leer la absorbancia del filtrado a 420 nm contra un blanco de la solución de pepsina.

## 9.2. Análisis Estadístico

Para el tratamiento estadístico de los datos se utilizó el paquete SPSS (Statistics Package for Social Sciences)

Para cada una de las determinaciones que se realizaron se le aplicó un análisis de varianza (ANOVA) por interacciones, de tal forma, se evaluó la humedad, la temperatura y las repeticiones.

Dado que el modelo del experimento es desbalanceado e incompleto no pudo aplicarse alguno ya establecido. Se realizó una comparación entre las muestras según el tiempo de almacenamiento, es decir, se compararon todas aquellas muestras que fueron almacenadas por 20 días y luego, aquellas que se mantuvieron 30 días, y así sucesivamente, según fueran coincidiendo bajo las diferentes condiciones de almacenamiento.

Adicionalmente, se realizó el análisis entre las condiciones de almacenamiento cuya frecuencia de toma de muestra (días de almacenamiento) coincidiera. Para ello, se formaron diferentes grupos. Se aplicó el análisis entre todos los tratamientos comparando las muestras que se habían mantenido en almacenamiento el mismo número de días. Para ello se numeraron por grupos, los días de muestreo de la siguiente forma.

Grupo	Días almacenamiento	Grupo	Días almacenamiento	Grupo	Días almacenamiento
1	10	6	60	11	100
2	20	7	70	12	105
3	30	8	75	13	115
4	40	9	85	14	175
5	50	10	90		

Una vez realizado, se les aplicó la prueba de rangos múltiples de Duncan para determinar hasta que día de almacenamiento los valores de peróxidos o acidez, etc. permanecían igual, comparado con las diferentes condiciones de almacenamiento.

A continuación se muestran los análisis de varianza y las pruebas de Duncan que se realizaron a cada una de las determinaciones realizadas durante el desarrollo del experimento. No se realizó un análisis estadístico de los datos obtenidos para el porcentaje de lípidos extraídos pues, por cuestiones operativas y de tamaño de muestra, se realizó la determinación una vez y estadísticamente, los datos no son válidos.

#### a. Peróxidos

**Tabla A.1.** Análisis de Varianza para Humedad y Temperatura de todas las Condiciones de Almacenamiento

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	g.l.	Media de Cuadrados	F
Efectos Principales	37.089	4	9.272	3.334
Humedad	4.425	2	2.213	0.795
Temperatura	34.758	2	17.379	6.249**
Interacciones	18.201	2	9.100	3.272
Repeticiones	0.107	1	0.107	0.038
Error	161.355	58	2.781	
Total	255.935	71	3.605	

\*\* denota diferencia altamente significativa

**Tabla. A.2.** Análisis de Varianza para los Grupos que incluyen todas las condiciones de almacenamiento

Fuente	g.l.	Suma de Cuadrados	Media de Cuadrados	F
Entre Grupos	13	156.4019	12.0309	7.0107**
Dentro del Grupo	58	99.5332	1.7161	
Total	71	255.9351		

## Prueba de Rangos Múltiples de Duncan

1 7 3 2 14 9 4 11 13 5 6 8 10 12

---



---



---



---



---

No hay diferencia en el contenido de peróxidos entre el testigo y:

- a) 30 días de almacenamiento a 40°C y 18% de humedad
- b) 40 días de almacenamiento a 40°C y 15% de humedad, 40°C y 10% de humedad y, 20°C y 18% de humedad.
- c) 100 días y 20°C y 15% de humedad.
- d) 115 días a 20°C y 10% humedad

## Acidez

**Tabla A.3.** Análisis de Varianza para Humedad y Temperatura de todas las Condiciones de Almacenamiento

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	g.l.	Media de Cuadrados	F
Efectos Principales	2.410	4	0.603	16.84
Humedad	1.817	2	0.909	25.391**
Temperatura	0.213	2	0.106	2.960
Interacciones	0.055	2	0.028	0.782
Repeticiones	0.022	1	0.022	0.614
Error	2.079	58	.035	
Total	6.596	71	.093	



**Tabla. A.4. Análisis de Varianza para los Grupos que incluyen todas las condiciones de almacenamiento**

Fuente	D.F.	Suma de Cuadrados	Media de Cuadrados	F
Entre Grupos	13	1.5325	.1179	1.3504
Dentro de Grupos	58	5.0632	.0873	
Total	71	6.5957		

**Prueba de Rangos Múltiples de Duncan**

14    3    13    2    4    9    7    6    8    1    10    11    5    12

---

Según esta prueba no hay diferencia entre los tratamientos, comparando las medias de ellos.

**Obscurecimiento no Enzimático**

**Tabla A.5. Análisis de Varianza para Humedad y Temperatura de todas las Condiciones de Almacenamiento**

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	g.l.	Media Cuadrados	F
Efectos Principales	0.254	4	0.063	5.475
Humedad	0.173	2	0.087	7.565*
Temperatura	0.061	2	0.031	2.818
Interacciones	0.003	2	0.002	0.181
Repeticiones	0.001	1	0.001	0.090
Error	0.669	58	0.011	
Total	1.161	71	0.016	

**Tabla. A.6. Análisis de Varianza para los Grupos que incluyen todas las condiciones de almacenamiento**

Fuente	g.l.	Suma de Cuadrados	Media de Cuadrados	F
Entre Grupos	13	0.4141	0.0319	2.4732**
Dentro de Grupos	58	0.7470	0.0129	
Total	71	1.1611		

Prueba de Rangos Múltiples de Duncan

1 2 7 3 9 14 4 11 13 6 8 10 5 12

---



---



---

No hay diferencia entre el testigo y:

- a) 50 días de almacenamiento a 18% de humedad y 40°C
- b) 90 días de almacenamiento a 18% de humedad y 20°C
- c) 90 días de almacenamiento a 15% de humedad y 40°C
- d) 90 días de almacenamiento a 10% de humedad y 40°C
- e) 100 días de almacenamiento a 15% de humedad y 20°C
- f) 175 días de almacenamiento a 10% de humedad y 20°C

### Albúminas

**Tabla A.7. Análisis de Varianza para Humedad y Temperatura de todas las Condiciones de Almacenamiento**

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	g.l.	Media de Cuadrados	F
Efectos Principales	217.103	4	54.276	6.523
Humedad	136.935	2	68.467	8.229**
Temperatura	50.049	2	25.025	3.007
Interacciones	32.899	2	16.450	1.977
Repetición	0.534	1	0.534	0.064
Error	482.58	58	8.320	
Total	920.100	71	12.959	

**Tabla. A.8. Análisis de Varianza para los Grupos que incluyen todas las condiciones de almacenamiento**

Fuente	g.l.	Suma de Cuadrados	Media de Cuadrados	F
Entre Grupos	13	344.4230	26.4941	2.6693**
Dentro de Grupos	58	575.6769	9.9255	
Total	71	920.0999		

**Prueba de Rangos Múltiples de Duncan**

12 10 8 5 3 7 9 11 6 4 14 1 13 2

---



---

Estadísticamente, no hay diferencia entre el testigo y:

- a) 60 días de almacenamiento a 18% de humedad y 40°C
- b) 105 días de almacenamiento a 18% de humedad y 20°C; 15% de humedad y 40°C, y 10% de humedad y 40°C
- c) 115 días de almacenamiento a 15% de humedad y 20°C
- d) 175 días de almacenamiento a 20°C

**Globulinas**

**Tabla A.9. Análisis de Varianza para Humedad y Temperatura de todas las Condiciones de Almacenamiento**

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	g.l.	Media de Cuadrados	F
Efectos Principales	930.376	4	232.594	7.425
Humedad	777.227	2	388.614	12.406**
Temperatura	85.084	2	42.542	1.358
Interacciones	100.117	2	50.059	1.548
Repeticiones	28.874	1	28.874	0.921
Error	1816.777	58	31.323	
Total	3738.455	71	52.654	

**Tabla. A.10. Análisis de Varianza para los Grupos que incluyen todas las condiciones de almacenamiento**

Fuente	g.l.	Suma de Cuadrados	Media de Cuadrados	F
Entre Grupos	13	998 1451	76 7804	1.6251
Dentro de Grupos	58	2740 3096	47 2467	
Total	71	3738 4547		

El análisis muestra que no hay diferencia

### **Prolaminas**

**Tabla A.11. Análisis de Varianza para Humedad y Temperatura de todas las Condiciones de Almacenamiento**

Fuente de Variacion	Suma de Cuadrados	g.l.	Media de Cuadrados	F
Efectos principales	63 810	4	15 953	15 640
Humedad	33 317	2	16 658	16,331**
Temperatura	11 037	2	5 519	5 41**
Interacciones	22 474	2	11,237	11,016**
Repeticiones	2 222	1	2,222	3,510
Error	59 216	58	1 020	
Total	192 076	71	2 705	

Dado que existe una diferencia altamente significativa por las interacciones se realizó un nuevo análisis de los resultados para saber cuales son las condiciones de almacenamiento que son diferentes y cuales son iguales. Para obtener este resultados, se realizó la prueba de rangos múltiples de Duncan.

De la prueba de Duncan se encontró, con un nivel de significancia del 5%:

- No hay diferencia entre el almacenamiento a 20°C y 10% humedad y el testigo, almacenado a 4°C y 10% humedad.
- No hay diferencia entre el almacenamiento a 15% de humedad y 20°C y a 10% de humedad y 40°C.

c) No hay diferencia entre el almacenamiento a 18% de humedad y 40°C, 15% de humedad y 40°C y 10% de humedad y 40°C. Es decir, durante el almacenamiento a 40°C no hay diferencias por la humedad del grano.

**Tabla. A.12. Análisis de Varianza para los Grupos que incluyen todas las condiciones de almacenamiento**

Fuente	g.l.	Suma de Cuadrados	Media de Cuadrados	F
Entre Grupos	13	81.2923	6.2533	3.2739 **
Dentro de Grupo	58	110.7832	1.9101	
Total	71	192.0755		

Prueba de Rangos Múltiples de Duncan

12	10	8	5	11	9	7	4	6	1	3	2	13	14
<hr/>													
<hr/>													
<hr/>													

Estadísticamente no se establece diferencia entre el testigo y:

- 10 días de almacenamiento a 18% humedad y 40°C
- 20 días de almacenamiento a 15% de humedad y 40°C, 10% de humedad y 40°C y, 18% de humedad y 20°C
- 30 días de almacenamiento a 15% de humedad y 20°C
- 60 días de almacenamiento a 10% de humedad y 20°C