

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS**

TEMA DE TESIS

COMPOSICIÓN NUTRICIA DE 10 VARIEDADES DE MAÍZ Y LA EVALUACIÓN
DE LA SUPLEMENTACIÓN DE 4 DE ESTAS VARIEDADES
CON UNA ESPECIE SELECTA DE LEGUMINOSA

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q. A. Jeanette Adriana Aguilar Navarro

TUTOR: Dra. Ma. Isabel Aguilar Laurents



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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

Presidente	Dr. Federico Alfredo García Jiménez
Vocal	Dra. Luz Vázquez Moreno
Secretario	Dr. Eduardo Bárzana García
Primer suplente	Dra. Alma Luisa Revilla Vázquez
Segundo suplente	Dra. Helgi Jung Cook

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio 111, del Departamento de Farmacia y en el bioterio del Conjunto E, de la Facultad de Química de la UNAM, Ciudad Universitaria, México D. F. Los resultados de este trabajo fueron presentados en el 44º CONGRESO MEXICANO DE QUÍMICA de la Sociedad Química de México, 2009.

Tutor: M. en C. Ángela Sotelo López[†]

Dra. María Isabel Aguilar Laurents

Sustentante: Q.A. Jeanette Adriana Aguilar Navarro.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México por darme la oportunidad de seguir creciendo profesionalmente, por los valores y por inculcarme un espíritu universitario.

Al Posgrado de Ciencias Químicas por el apoyo brindado y al CONACYT por las facilidades económicas concedidas para la realización de este trabajo de tesis.

A la Dra. Griselda Vázquez, al Dr. José Luis Pons y al Ing. Flavio Rodríguez del INIFAP por la donación de los granos de maíz y teocintle.

A la M. en C. Ángela Sotelo López por todos los conocimientos compartidos, por el gran ser humano y profesor que fue para con todos los que tuvimos la fortuna de ser sus alumnos. Dios la bendiga.

A la Dra. María Isabel Aguilar Laurents, por esa calidez humana con la que me acogió en los momentos difíciles, por el invaluable apoyo, ayuda y asesoramiento brindado sin el cual no hubiese logrado terminar este proyecto y por su gran generosidad.

A mis padres, que me han apoyado incondicionalmente durante mi desarrollo académico y me han inculcado los valores para ser una mejor persona día a día. Los amo con todo mi corazón.

A mis hermanos por compartir y celebrar conmigo la culminación de este proyecto pero más por estar al pendiente de mí y apoyarme en los momentos difíciles.

A mis amigos Arge, Rosita, Ericka, Vicky y Antonio, por tantos momentos y conocimientos compartidos y por el gran e invaluable apoyo brindado para alcanzar esta meta.

A los miembros del jurado por su tiempo y sus valiosas aportaciones.

A mi gran amor Mauricio, por ser el motor de mi vida,
por el amor que me demuestras cada día,
por ser mi fortaleza e impulso y por no dejar que me diera por vencida.

Esta tesis también es tuya.

Te amo.



ÍNDICES	Página
<u>ÍNDICE TEMÁTICO</u>	i
<u>ÍNDICE DE FIGURAS</u>	ii
<u>ÍNDICE DE TABLAS</u>	iii
<u>LISTA DE ABREVIATURAS</u>	iv

1. ÍNDICE TEMÁTICO

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
ANTECEDENTES	
1. ORIGEN DEL MAÍZ	4
2. TEOCINTLE	5
3. RAZAS DE MAÍZ EN MÉXICO	8
3.1 Tabloncillo	10
3.2 Celaya	11
3.3 Cónico Norteño	12
3.4 Pepitilla	12
3.5 Tuxpeño	13
3.6 Tolimán o Mil granos y complejo racial Celaya x Tabloncillo	14
4. MAÍZ DE ALTA CALIDAD PROTEICA	14
4.1 H-519 C	16
4.2 H-553 C	16
4.3 V-537 C	17
4.4 V-556 AC	18
5. CLASIFICACIÓN BOTÁNICA Y ESTRUCTURA DEL GRANO DE MAÍZ	18
6. COMPOSICIÓN QUÍMICA Y VALOR NUTRITIVO DEL MAÍZ	20
6.1 Almidón	21
6.2 Proteína	21
6.3 Ácidos grasos	23
6.4 Fibra dietaria	24
6.5 Minerales	25
6.6 Vitaminas	25



6.6.1. Liposolubles	25
6.6.2. Hidrosolubles	26
7. SUPLEMENTACIÓN DE LAS PROTEÍNAS	26
8. CALIDAD DE UNA PROTEÍNA Y SU EVALUACIÓN	27
8.1 Métodos Químicos	28
8.1.1. Calificación química	28
8.1.2. Análisis de aminoácidos por Cromatografía de Líquidos de alta Resolución	29
8.2 Métodos Biológicos	29
8.2.1. Relación de la Eficiencia Proteica (REP)	30
8.2.2. Relación Neta de la Proteína (RNP)	31
8.2.3. Digestibilidad <i>in vivo</i>	32
OBJETIVOS	33
METODOLOGÍA	
1. INFORMACIÓN DE LA MUESTRA	34
2. DIAGRAMA GENERAL DE INVESTIGACIÓN	35
3. DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA	36
3.1 ANÁLISIS PROXIMAL	36
3.2 FIBRA DIETARIA TOTAL	36
3.3 CUANTIFICACIÓN DE AMINOÁCIDOS POR CLAR	37
3.4 CUANTIFICACIÓN DE TRIPTOFANO POR CLAR	37
3.5 CALIFICACIÓN QUÍMICA	38
3.6 PRUEBAS BIOLÓGICAS	39
3.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	40
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
1. ANÁLISIS PROXIMAL	41
1.1 Contenido de humedad	42
1.2 Contenido de proteína	42
1.3 Contenido de lípidos	43
1.4 Contenido de cenizas	44
1.5 Contenido de fibra cruda	44
1.6 Contenido de hidratos de carbono	45
1.7 Composición del garbanzo	45
2. FIBRA DIETARIA TOTAL	46



3. CALIDAD PROTEICA	47
3.1 Perfil de aminoácidos	48
3.2 Calificación química	53
3.3 Ensayos biológicos	55
4. RESUMEN DE RESULTADOS	61
CONCLUSIONES	62
PERSPECTIVAS	64
BIBLIOGRAFÍA	65
ANEXOS. MATERIALES Y MÉTODOS	75

**ÍNDICE DE FIGURAS**

Figura	Título	Página
1	Planta de teocintle (izquierda) y planta del maíz (derecha).	7
2	Mazorcas (espigas femeninas) del maíz (izquierda) y del teocintle (derecha).	8
3	Corte transversal de la mazorca de la raza de maíz Tabloncillo.	11
4	Corte transversal de la mazorca de la raza de maíz Celaya.	11
5	Corte transversal de la mazorca de la raza de maíz Cónico Norteño.	12
6	Corte transversal de la mazorca de la raza de maíz Pepitilla.	13
7	Corte transversal de la mazorca de la raza de maíz Tuxpeño.	14
8	Mazorca de maíz H-519 C.	16
9	Mazorca de maíz H-553 C.	17
10	Mazorca de maíz V-537 C.	18
11	Grano de maíz V-556 AC.	18
12	Estructura del grano de maíz y sus principales partes.	19
13	Esquema de trabajo sobre las especies vegetales contempladas en este estudio.	35
14	Incremento en peso del lote de animales alimentados con 4 diferentes dietas de maíz criollo, un control de caseína y una Dieta libre de Nitrógeno (primera parte del bioensayo).	59
15	Incremento en peso del lote de animales alimentados con 4 diferentes dietas de maíz QPM, un control de caseína y una Dieta libre de Nitrógeno (primera parte del bioensayo).	60



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Título	Página
1	Composición proximal promedio del grano de maíz y de sus principales estructuras (g/100 g base seca).	21
2	Contenido de aminoácidos en variedades de maíz común, maíz QPM y teocintle (g /100g proteína).	23
3	Lista de semillas de maíz y teocintle en estudio.	34
4	Requerimientos nutricionales estimados por FAO/WHO/ONU (1985) para prescolares, extrapolables a adultos.	38
5	Composición química del teocintle, 10 diferentes semillas de maíz y de la leguminosa empleada para la suplementación.	41
6	Contenido de Fibra Dietaria Total en teocintle, 10 diferentes maíces y garbanzo.	46
7	Contenido de aminoácidos en 10 variedades de maíz, teocintle y garbanzo (g aminoácido/ 100 g proteína).	50
8	Contenido de triptofano y lisina en teocintle, 10 variedades de maíz y garbanzo.	51
9	Calificación química del teocintle, 10 semillas de maíz y garbanzo.	54
10	Valores de la REP, RNP y DV ajustados para las dietas simples y suplementadas de las variedades criollas y QPM seleccionadas.	57
11	Composición de las dietas con 9 % de proteína (primer bioensayo).	98
12	Composición de las dietas con 9 % de proteína (segundo bioensayo).	99



LISTA DE ABREVIATURAS

AACC: American Association of Cereal Chemists

AOAC: Analysis of Association Official Analytical Chemists

°C: Grados centígrados

CFR: Cromatografía de Fase Reversa

CIMMYT: Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo

CLAR: Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución.

DLN: Dieta Libre de Nitrógeno

DV: Digestibilidad Verdadera

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación

FDT: Fibra Dietaria Total

g: Gramo (s)

h: Hora (s)

INIFAP: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias

kg: Kilogramo

L: Litro

msnm: Metros sobre el nivel del mar

µg: Microgramo

µL: Microlitro

mg: Miligramos

min: Minuto(s)



mL: Mililitro

mmHg: milímetro(s) de mercurio

mM: Milimolar

nm: Nanómetros

ONU: Organización de las Naciones Unidas

pH: Potencial de hidrógeno

p/v: Peso/volumen

QPM o MCP: Quality Protein Maize o Maíz de alta calidad proteica

REP: Relación de Eficiencia de la Proteína

RNP: Relación Neta de la Proteína

t ha⁻¹ : Toneladas por hectárea

WHO u OMS: World Health Organization u Organización Mundial de la Salud.



RESUMEN

Dada la importancia del maíz como alimento base de la dieta de los mexicanos y a que no se encuentra una base de datos que informe la composición química de maíces criollos y QPM, actualmente sembrados y destinados en nuestro país, al consumo humano y/o animal, el objetivo de este trabajo fue realizar el análisis bromatológico y perfil de aminoácidos en 10 variedades de maíz (criollas, híbridos y maíces de alta calidad proteica -QPM-) y una muestra de teocintle (*Zea Mays* L. ssp. *mexicana*) por los métodos de la AOAC y CLAR, respectivamente, con el fin de ayudar a caracterizarlos. Se evaluó también la calidad proteica y suplementación con garbanzo de dos razas criollas y dos QPM, en una proporción 50:50, por los ensayos biológicos en ratas: REP, RNP y DV, con el propósito de determinar si la suplementación de un maíz QPM puede mejorar aún más su calidad proteica al ser mezclado con una leguminosa, como es el caso de un maíz criollo. La composición química y contenido de aminoácidos del teocintle fue diferente a la de un maíz. Debido a su gran diversidad genética, la composición química de los maíces estudiados no fue la misma, aunque son semejantes entre sí. La composición química de los maíces MCP fue similar a la de un maíz criollo pero su contenido de aminoácidos esenciales lisina y triptofano fue significativamente mayor (5 y 0.6 %, respectivamente), incrementándose su calidad proteica y por ende su calificación química (52–54 %). Los bioensayos indicaron que la suplementación de un maíz criollo casi logra alcanzar la alta calidad proteica que tiene un maíz QPM y que la suplementación de un maíz QPM con garbanzo no mejora aún más la calidad proteica de la mezcla, además de que la digestibilidad de la proteína se ve disminuida.



INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L) es, junto con el trigo y el arroz, uno de los cereales más importantes del mundo, ya que conforman la base de la alimentación mundial. Hoy en día el maíz (*Zea mays* L), es el segundo cultivo del mundo por su producción (después del trigo, y antes del arroz) y su importancia económica radica en que puede ser usado para alimentación humana y animal, así como materia prima de un gran número de productos industriales (FAO, 2001).

En México, el maíz es el cultivo de mayor importancia económica y social, debido a que forma parte de la dieta de la mayoría de los mexicanos, principalmente, de los de escasos recursos que viven en áreas marginales (Reyes, 1990). Se estima que su consumo proporciona en promedio el 39 % de proteína asimilable, que representan 29 gramos, y el 59 % de la energía que ingieren los mexicanos (Sierra *et al*, 2004; Espinosa *et al*, 2003). Sin embargo, se sabe que la proteína de maíz, y la de los cereales en general, es de bajo valor nutricional cuando se compara con la proteína de origen animal, debido a su deficiencia en lisina y triptofano, ambos aminoácidos esenciales para el ser humano y para los animales, ya que en su ausencia o limitación no es posible completar las funciones metabólicas y tampoco el crecimiento y desarrollo (CIMMYT, 2001; Espinosa *et al*, 2003). Debido a esto, ha sido necesario suplementar la deficiencia de lisina y triptofano en la dieta de la población mexicana, con la ingesta de otros alimentos ricos en ellos.

Partiendo de esto y debido a la necesidad de mejorar la dieta básica de la población rural cuya alimentación depende en gran parte del consumo de este cereal, desde 1996 investigadores del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) en combinación con el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), han venido desarrollando variedades de maíz de alta calidad proteínica (MCP, por sus siglas en español) o Quality Protein Maize (QPM, por sus siglas en inglés), derivadas del aprovechamiento del gen mutante Opaco-2, descubierto por Mertz *y col.* (1964). La principal ventaja del maíz QPM, sobre el maíz común, es que contiene aproximadamente el doble de lisina y triptófano (Mertz *et al*, 1964, Prasanna *et al*, 2001), por lo que representa una alternativa eficaz para



enfrentar la alta desnutrición y mejorar la calidad alimentaria, además de que sus cultivos han mostrado tener rendimientos iguales o superiores a sus homólogos comerciales (FAO, 1993). Aunado a esto, se ha visto que el aprovechamiento del maíz QPM es mayor (90 %), en comparación con el del maíz común (39 %), por lo que también puede utilizarse en la alimentación de aves y cerdos, donde se ha comprobado que con una menor cantidad de alimento, se puede incrementar el peso logrado con un grano de calidad normal (Sierra *et al*, 2001).

Actualmente, en México se cuenta con numerosas líneas progenitoras QPM, de las cuales se han formado gran cantidad de híbridos y variedades de maíz QPM. Estas semillas están siendo evaluadas por investigadores del INIFAP en todo el país, bajo diferentes líneas de investigación como: mejoramiento genético, producción y tecnología de semilla, forrajes, manejo agronómico y efecto en alimentación humana y dieta en animales, entre otros (Espinosa *et al*, 2003), con la finalidad de generar información que impulse su uso y difusión masiva.

No obstante, y pese a que se sabe que hay un aumento en la calidad proteica del maíz QPM, es poca la información que se ha generado en relación a las diferencias y ventajas que estos maíces presentan en cuanto a su composición nutrimental y su suplementación con leguminosas, en comparación con razas criollas, destinadas comercialmente para alimentación humana o animal.

Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue: a) determinar la composición bromatológica de algunas razas de maíz criollas y variedades e híbridos QPM; b) evaluar la calidad de la proteína y digestibilidad de la misma, de 2 tipos de razas criollas y de tipo de maíz QPM y, c) establecer si existe diferencia significativa en la respuesta de la Relación de Eficiencia Proteínica (REP) y la Relación Neta de la Proteína (RNP), entre dietas suplementadas elaboradas con maíz criollo y dietas suplementadas elaboradas con maíz QPM, además de averiguar si el aumento en la calidad proteica en un maíz mejorado QPM es equiparable a la suplementación de un maíz común o incluso mejor.



ANTECEDENTES

I. ORIGEN DEL MAÍZ

La palabra maíz es un término antillano y significa “lo que sustenta la vida”. El Maíz es la planta domesticada del género *Zea*, perteneciente a la familia Gramínea, subfamilia Andropogonaceae, tribu maidea, identificada específicamente como: *Zea mays* L (Reyes, 1990).

No se conoce bien el origen del maíz. La mayoría de los expertos opinan que el maíz se originó en la Meseta de México o en las tierras altas de Guatemala. Algunos especialistas creen que la planta silvestre “teocintle o teozintle” (*Zea Mays* L. ssp. *mexicana*) formó parte del ancestro del maíz, aunque todavía hay discrepancias al respecto y diversas teorías han sido postuladas para explicar este proceso. Algunos genetistas opinan que el maíz se originó en América del Sur en las tierras altas de Perú, otros se inclinan por las tierras altas de Guatemala. Los partidarios del origen peruano piensan que el maíz se derivó de una gramínea silvestre ligeramente parecida al maíz palomero pero sin mazorcas. Los partidarios del origen guatemalteco atribuyen el nacimiento del maíz al cruzamiento del teocintle con otra gramínea silvestre. No obstante, se ha visto que el maíz encontrado en algunos lugares antiguos presenta ambas características, lo que sugiere que las dos teorías podrían ser correctas y que el maíz moderno es un híbrido de un maíz con vaina actualmente extinta y la antigua gramínea teocintle (Dendy y Dobraszczyk, 2001; Mauricio, 2001).

.Aunque no se sabe exactamente de que teocintle (mexicano o guatemalteco) se originó el maíz, fue Kato (1976), quién después de analizar el teocintle procedente de Guatemala y México, concluyó que éste se originó del teocintle mexicano, debido a que ambos tienen similar constitución cromosómica (10 nudos cromosómicos), a diferencia del guatemalteco. Con esta aseveración, se estableció como centro geográfico del maíz a México (Mauricio, 2001).

México posee la mayor diversidad genética de maíz, la cual se manifiesta en la variación de caracteres morfológicos, vegetativos, de espiga, mazorca, grano y composición química del grano y del polen (Vázquez *et al*, 2003). A lo largo y ancho de



México se puede encontrar gran variedad de maíces, cultivados bajo condiciones diferentes, tanto a nivel del mar, como a altitudes de 1000 hasta 3000 metros sobre el nivel del mar, o bien, en condiciones semiáridas, tropicales, suelos someros, etc.

A pesar de las variadas condiciones fisiográficas que prevalecen en cada una de las regiones, el maíz se ha podido adaptar a todas ellas, gracias al cuidado y perpetuación de las diferentes culturas que lo han ido cultivando. Es por ello que, como resultado de un largo proceso de domesticación a lo largo de cientos de años, hoy en día aún se conoce la diversidad de razas de maíz las cuales se pueden encontrar en diferentes zonas del país.

Uno de los trabajos más completos e importantes que existen sobre las razas de maíz en México está en la obra de Edwin John Wellhausen (1951). En ella se da una amplia descripción y explicación de las características de cada material genético.

II. TEOCINTLE

Zea mays L ssp. *mexicana* (Schrader) Iltis., es comúnmente conocido con el nombre de teocintle, palabra de origen náhuatl: *teocintli* que significa “maíz de los Dioses”. El teocintle, es una gramínea silvestre distribuida en América, considerada como el pariente más cercano del maíz, por lo que se le ha atribuido tener una gran influencia en el incremento de la variación y formación de las principales razas en México. Adicionalmente, es considerado un germoplasma valioso para el mejoramiento del maíz, especialmente en lo que respecta a enfermedades y factores adversos (Sánchez *et al*, 1987 y 1998; Domínguez, 2007).

En relación a la distribución geográfica del teocintle, un aspecto que cabe resaltar es que, las poblaciones del mismo no tienen una distribución uniforme sino que su localización depende de condiciones ecológicas específicas. Entre los estudios más completos del teocintle anual mexicano, se encuentra el de Wilkes (1967), quien como resultado de sus estudios extensivos e intensivos tanto en campo como en cultivo experimental, reconoció y describió cuatro razas para México: Nabogame, Mesa Central, Chalco y Balsas. Las regiones en donde se encuentran estas razas fueron descritas por Hernández (1985) como:



- i) Sierra Madre Occidental: De 1800-2300 m sobre el nivel del mar; clima templado húmedo, vegas angostas, valles intermontanos, declives; Sonora, Chihuahua, Sinaloa, Durango y Nayarit (abunda teocintle clase Nabogame).
- ii) Llanuras de Jalisco y El Bajío: De 1000-2000 m sobre el nivel del mar; clima templado, húmedo y subcálido húmedo; áreas con riego y temporal; Colima, Jalisco, sur de Guanajuato y Michoacán (abunda teocintle *Zea mexicana* y *Zea perennis*).
- iii) Mesa Central: De 1800-2700 m sobre el nivel del mar; clima templado húmedo; valles intermontanos, vegas, declives, áreas con riego; Michoacán, Guanajuato, Hidalgo, México, Querétaro, Tlaxcala, norte de Morelos, Puebla y Occidente de Veracruz (abunda teocintle clase Chalqueño).
- iv) Tierra Caliente, la Cuenca del Río Balsas, de 0 a 1500 m sobre el nivel del mar; clima cálido húmedo, de temporal y de riego; sur de Michoacán, México, Puebla y Guerrero (abunda teocintle clase Balsas).

El teocintle se distingue del maíz por la topografía y morfología de las semillas, la forma de las mazorcas, la dureza del grano, así como su flexibilidad para adaptarse a las condiciones adversas del ambiente.

El maíz es una planta anual alta con tallo erecto, robusto, sin ramificaciones, de elevada longitud pudiendo alcanzar los 4 metros de altura. Su reproducción es por polinización cruzada, en donde la flor femenina y la masculina se hallan en distintos lugares de la planta. La flor femenina (llamada elote, mazorca o choclo), tienen numerosos estilos muy salientes y colgantes después de la floración (llamados pelos de elote); donde una vez iniciada la polinización, es depositado el polen derramado por las flores masculinas que se encuentran en la punta del eje central de la planta (Fig. 1).

En contraste con el maíz, el teocintle tiene un tallo erecto que se ramifica en forma de candelabro, en el que cada uno de los brazos, las ramas laterales, portan las flores femeninas y culminan en una flor masculina. Cada tallo puede medir de 1 a 2 metros de alto y de 1 a 2 cm de ancho, mientras que, sus hojas son de 30 a 65 cm de largo y de 2.5 a 3.5 cm de ancho (Fig. 1).



Fuente: National Science Foundation

Figura 1. Planta de teocintle (izquierda) y planta del maíz (derecha)

Sin embargo, la diferencia más clara entre estas dos plantas radica en la estructura que porta los granos. En el maíz, después de la fecundación cada ovario se transforma en un fruto (grano de elote) que contiene en su interior una sola semilla que contiene suficientes sustancias de reserva en su endospermo y lleva en su parte basal el embrión. Dichos frutos se agrupan formando hieleras (de 12 a 16) alrededor de un eje grueso o coronta (olote) y a este conjunto se le conoce como mazorca (elote). Las mazorcas en la madurez son largas y gruesas y están enteramente cubiertas por brácteas u hojas envolventes denominadas comúnmente hojas de elote. Mientras que, en el caso del teocintle, esta estructura no se parece en nada a un "elote". Los granos de teocintle están pegados unos a otros por una capa o zona de abscisión, que permite que se desprendan con facilidad una vez que están maduros (esta habilidad le permite al teocintle ser una planta silvestre), en cambio, en el elote del maíz los granos permanecen pegados al olote hasta ser desgranados. Mientras que el maíz posee cuatro o más hileras de granos; la espiga del teocintle tiene sólo dos hileras de granos tan estrechamente intercaladas que parecen sólo una. Los granos del teocintle están protegidos por una capa muy dura, que en el grano del maíz es muy suave y más pequeña (gluma). Por último, los granos del teocintle están acomodados de uno en uno, en unas estructuras profundas llamadas copulas (Fig. 2) (Domínguez, 2007).



Fuente: Autor desconocido

Fuente: Archivo Biól. Carmen Loyola

Figura 2. Mazorcas (espigas femeninas) del maíz (izquierda) y del teocintle (derecha).

Además de la importancia del teocintle en la evolución del maíz se le ha considerado desde el siglo pasado, como una especie de gran potencial forrajero en la alimentación animal para las regiones tropicales y subtropicales, con base en estudios de calidad y potencial de rendimiento y a sus mecanismos de dispersión y establecimiento (López y Parra, 1908; Wilkes, 1967). Actualmente, la caña del teocintle es usada por la gente del campo para extraer el agua e hidratarse un poco chupándola y en ocasiones se llega a usar como forraje, pero no se conocen otros usos conferidos al teocintle (comunicación personal: M. en C. Luz Ma. Mera Ovando).

III. RAZAS DE MAÍZ EN MÉXICO

La diversidad genética del maíz del continente americano, está representada por alrededor de 220 razas, de las cuales, por lo menos 50 se encuentran en México (Goodman y Brown, 1988); la mayor parte estudiadas y clasificadas por Wellhausen y cols. (1951), quienes propusieron cinco definiciones raciales para las colectas de razas mexicanas estudiadas, evaluadas y caracterizadas de acuerdo a los criterios propuestos por ellos. A continuación se presenta una síntesis de ellas.



- a) Razas indígenas Antiguas. Estas razas son aquellas que se creen originarias de México a partir del maíz tunicado (reliquia encontrada en estudios arqueológicos en Nuevo México), y este grupo se caracteriza por ser palomero.
- Palomero Toluqueño
 - Arrocillo amarillo
 - Chapalote
 - Nal-Tel
- b) Razas Exóticas Precolombinas. Se cree que estas razas fueron introducidas a México de Centro y Sudamérica durante épocas prehispánicas.
- Cacahuacintle
 - Harinoso de Ocho:
 - Sub- Raza
 - Elotes occidentales
 - Olotón
 - Maíz Dulce
- c) Razas Mestizas-Prehispánicas. Estas razas están constituidas por aquellas que se creen originarias a partir de hibridación entre las razas indígenas antiguas y las razas exóticas precolombinas, con un nuevo elemento llamado teocintle.
- Cónico
 - Reventador
 - Tabloncillo
 - Tehua
 - Comiteco
 - Pepitilla
 - Tuxpeño
- d) Modernas incipientes. Estas razas se han desarrollado desde la época de la conquista pero aún no han alcanzado condiciones de uniformidad racial. En algunos casos el origen de algunas de ellas es reciente.
- Chalqueño
 - Celaya



- Cónico Norteño
- Bolita

e) No bien definidas. Se trata de razas de reciente colecta, para las cuales no se cuenta con suficientes datos para ser clasificadas. Entre estas se encuentran:

- Conejo
- Muschito
- Blando de Sonora
- Dulce del Noroeste
- Complejo serrano Jalisco
- Zamorano Amarillo

Los nombres asignados a las razas, fueron aquellos con los que eran conocidos en la región donde fueron cultivados y colectados.

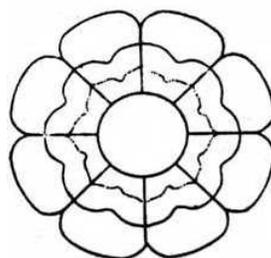
En el presente trabajo se estudiaron algunas de las razas (o híbridos de ellas) anteriormente mencionadas, por lo que se expone una breve descripción de cada una de ellas para su mejor conocimiento (Hernández, 1987).

3.1 Tabloncillo

Plantas: De mediana altura, 2.5 metros, precoz, con muchos “hijos”, tallos delgados, hojas de anchura y longitud media, aspecto general de las plantas como zacate común. Adaptadas a altitudes bajas (0-1,500 metros).

Mazorcas: De longitud media, delgadas, cilíndricas con excepción de un ligero adelgazamiento en ambos extremos, promedio de hileras: 9.1, diámetro de la mazorca de 36 a 44 mm, diámetro del olote de 22 a 55 mm.

Granos: Muy extendidos, de espesor mediano, cortos, cara superior formando una curva plana y con fuerte depresión. Textura del endospermo de harina generalmente suave, por lo regular de color blanco.



TABLONCILLO

Figura 3. Corte transversal de la mazorca de la raza de maíz Tabloncillo.

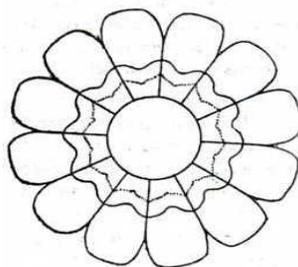
Distribución: El centro de distribución del tabloncillo se ubica en el oeste de México: planicies de Jalisco y llanuras costeras de Nayarit. También ha sido colectado a lo largo de la costa norte y oeste de Sonora y en Baja California.

3.2 Celaya

Plantas: Medianamente altas, de 2 a 3 metros, pocos “hijos”, hojas numerosas, color muy ligero o ausente. Adaptadas a altitudes medianas (1,200 a 1,800 metros).

Mazorcas: Longitud media, medianamente delgadas, cilíndricas, número promedio de hileras: 12.4, diámetro de la mazorca de 43 a 47 mm, diámetro del olote de 20 a 27 mm.

Granos: De anchura mediana, medianamente delgados y largos, fuertemente dentados, endospermo blanco, de dureza mediana, con aleurona y pericarpio sin color.



CELAYA

Figura 4. Corte transversal de la mazorca de la raza de maíz Celaya.



Distribución: Es la raza dominante en la región del Bajío, se encuentra en las tres cuartas partes del estado de Guanajuato, aunque también se extiende a lo largo del río Lerma, en la región del lago de Chapala y en los estados de Michoacán y Jalisco.

3.3 Cónico Norteño

Plantas: Cortas, precoces, con muchos “hijos”, número pequeño de hojas, anchas en relación con su longitud. Adaptadas a elevaciones medianamente altas (1,600 a 2,100 metros).

Mazorcas: Cortas o intermedias, adelgazamiento mediano y uniforme de la base al ápice, promedio de hileras: 16.0, diámetro de la mazorca de 45 a 48 mm, diámetro del olote del grano de 13 a 16 mm.

Granos: Angostos, delgados y largos, bien dentados, endospermo blanco, de dureza mediana, con aleurona y pericarpio sin color.



Figura 5. Corte transversal de la mazorca de la raza de maíz Cónico Norteño.

Distribución: Se ha encontrado ampliamente cultivado en la región norte de El Bajío, la cual comprende las partes septentrionales de los Estados de Jalisco, Aguascalientes, Querétaro, tierras altas de San Luís Potosí, Zacatecas e Hidalgo.

3.4 Pepitilla

Plantas: Medianamente altas, periodo vegetativo mediano, número mediano de “hijos”, hojas numerosas. Adaptadas a altitudes intermedias (1,000 a 1,700 metros).



Mazorcas: Medianamente largas, gruesas, con ligero adelgazamiento uniforme de la base al ápice, promedio de hileras: 15.5, frecuentemente con espacio amplio entre las hileras de granos, diámetro de la mazorca de 53 a 55 mm, diámetro del olote de 22 a 28 mm.

Granos: Muy angostos, delgados y extremadamente largos, hasta 10 mm de longitud que se extiende casi en ángulo recto del eje principal del grano, endospermo suave, blanco, con aleurona y pericarpio sin color.

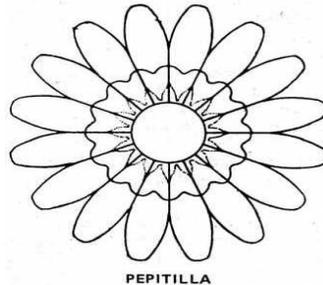


Figura 6. Corte transversal de la mazorca de la raza de maíz Pepitilla.

Distribución: Las formas más puras se encuentran en Morelos y en la parte Norte de Guerrero, a altitudes de 1,000 a 1,500 metros dentro de la cuenca superior del Río Balsas.

Las variedades comúnmente llamadas pepitillas, se cultivan extensamente en la región central del Norte de Guerrero a elevaciones de 1,000 a 1,700 metros. También se encuentra en la parte occidental de Puebla y en Michoacán y Jalisco, en los alrededores del Lago de Chapala.

3.5 Tuxpeño

Plantas: altas de 3 a 4 metros en su hábitat nativo, pocos “hijos”, numerosas hojas, anchas, especialmente en relación con su longitud. Adaptada a bajas altitudes, aunque ya se sabe de un tuxpeño que puede crecer a altas altitudes.

Mazorca: De longitud mediana y larga, medianamente delgada, cilíndrica, número de hileras: 12 a 14, diámetro de la mazorca de 44 a 48 mm, diámetro del olote de 25 a 28 mm.



Granos: Anchos, medianamente grueso, de longitud mediana, con fuerte depresión, fuertemente dentados o semidentados, endospermo blanco, con dureza mediana, con aleurona y pericarpio generalmente sin color.

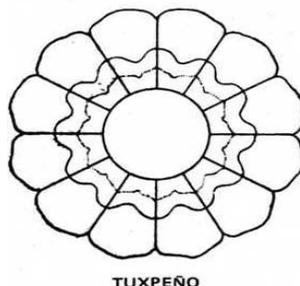


Figura 7. Corte transversal de la mazorca de la raza de maíz Tuxpeño.

Distribución: Su nombre se debe a la ciudad de Tuxpan, Veracruz, donde es el centro de distribución de esta raza, la cual es la más importante de la costa del Golfo de México. Es una de las razas más importantes de maíz desde el punto de vista de su influencia en las razas modernas productivas, tanto en México como en Estados Unidos, además de que produce tortillas blancas de muy alta calidad.

3.6 Tolimán o Mil granos y complejo racial Celaya x Tabloncillo

Distribución: Estas razas se localizan en la zona del Bajío y se caracterizan por el color blanco de sus granos. No se encuentra referencia de ellas en fuentes bibliográficas especializadas, puesto que son razas de reciente desarrollo con un potencial uso para alimentación humana y animal (comunicación personal: Pons, 2008).

IV. MAÍZ DE ALTA CALIDAD PROTEICA

El alto consumo de maíz como alimento básico en México, hace deseable que se produzcan maíces más nutritivos, los cuales tengan una mayor cantidad o mayor calidad de proteína, como es el caso de los maíces denominados QPM. El consumo de estos maíces ayudará a mejorar el nivel nutricional de la población rural que depende del maíz para cubrir sus necesidades alimenticias básicas, especialmente en niños, madres lactantes y ancianos (Gómez *et al*, 2003; Sierra *et al*, 1999 a y 2001).



El maíz QPM, tuvo su origen en el llamado Opaco-2, producto de un mutante descubierto en 1963, en la Universidad de Purdue, Indiana, EU., por Mertz, Bates y Nelson (Mertz *et al*, 1964). Los maíces desarrollados a partir del Opaco-2 poseían la misma cantidad total de proteínas, con la ventaja de contener el doble de lisina y triptofano; no obstante al ser maíces de textura harinosa (suave), su peso de grano y rendimiento en campo fue muy bajo, además de ser fácilmente atacados por enfermedades y plagas. Las desventajas propiciaron que en todos los países, incluyendo a México, en 1975, se abandonaran las investigaciones.

Trabajos posteriores realizados por Vasal y Villegas (Vasal *et al*, 1980; Vasal, 2001; CIMMYT, 2001), investigadores del CIMMYT, permitieron mediante técnicas de mejoramiento tradicionales, la incorporación de una serie de genes especiales al maíz Opaco-2, llamados genes modificadores de la textura del endospermo. Así, en la década de los 80's se obtuvo lo que ahora es el nuevo tipo de maíces, con la calidad proteínica característica y sin las desventajas del antecesor; estos ahora se conocen mundialmente como Maíces de Calidad Proteínica, pues los mencionados genes modificadores confieren una textura de grano más dura que el maíz opaco, dando la apariencia de un maíz común. Los trabajos desarrollados por los doctores Vasal y Villegas, fueron reconocidos en el año 2000, otorgándoles el "Premio Mundial de Alimentación" (Espinosa *et al*, 2003 y 2005; Sierra *et al*, 2003 y 2004; Ortega *et al*, 2001).

A partir de 1996, el INIFAP en colaboración con el CIMMYT, ha generado y evaluado híbridos y variedades de maíz de alta calidad proteínica (MCP), que contienen hasta 100% más de lisina y triptofano (aproximadamente 5 % y 1 % respectivamente) que los maíces comunes, resultando que la calidad de la proteína de los maíces QPM sea similar a la de la leche según estudios realizados por Bressani (1994).

Actualmente, se han intensificado los trabajos de investigación para lograr el uso y difusión masiva de estos maíces, generando información sobre sus características agronómicas, rendimiento, adaptación y producción. A continuación se presenta una breve descripción de cuatro de estos maíces QPM, seleccionados para ser estudiados en esta tesis.



NOTA: De acuerdo a una nomenclatura para la caracterización varietal de los híbridos y variedades mejoradas del maíz de de alta calidad proteica establecida por el INIFAP, la letra C después del número asignado, es para especificar que es de calidad; las letras AC se asignan a maíces amarillos, que significa Amarillo de calidad; la letra H se asigna al material híbrido, mientras que la letra V se aplica a cualquier variedad (Espinosa *et al*, 2005).

4.1 **H-519 C**

Es un Híbrido trilineal, de ciclo intermedio, donde el progenitor hembra es la cruza simple de alto rendimiento CML 144 x CML 159 de origen tropical, y el progenitor macho la línea CML 176, cuya adaptación principal es la región subtropical (sureste de México), a altitudes de 0 a 1000 msnm, con rendimiento de 2.3 t ha⁻¹ (11 % superior a la variedad de mayor uso comercial).

Este maíz es de planta y mazorca baja (planta de 266 cm y mazorca de 142 cm, para el ciclo Primavera-Verano), tolerante al acame. La mazorca es de forma cilíndrica, con 15.3 cm de longitud, de 14 a 16 hileras, con 31 granos por hilera y disposición regular; el grano es blanco cristalino, con un porcentaje de grano de 79 y con un buen rendimiento nixtamalero (Sierra *et al*, 1999 a, 2001 y 2003).



Figura 8. Mazorca de H-519 C

4.2 **H-553 C**

Es un híbrido trilineal de ciclo intermedio, resultado de la combinación de la cruza simple denominada (CML 142 x CML 150), con la línea CML 176. Se adapta a climas cálidos húmedos y subhúmedos, en altitudes de 0 a 1,000 msnm.



Durante el ciclo primavera-verano registra una altura de planta de 267 cm y de mazorca de 142 cm, tolerante al acame y presenta un rendimiento de 6.87 t ha⁻¹ (8% más que el del testigo normal H-513). La mazorca es de forma cilíndrica, de 17.6 cm de largo y 14 hileras, con 35 granos por hilera. El grano es blanco, semidentado, con 79 % de grano en la mazorca (Sierra *et al*, 1999 *b*, 2001 y 2004).



Figura 9. Mazorca de maíz H-553 C

4.3 V-537 C

La variedad V-537 C es un material de polinización libre, proveniente de poblaciones Poza Rica 8763. Se caracteriza por tener germoplasma de la raza tuxpeño y poseer grano semidentado. Se adapta muy bien a las regiones de mediano potencial productivo del trópico de México, con climas cálido húmedo y subhúmedo, ubicados en altitudes de 0 a 1200 msnm, con temperatura anual media de 24 a 28 °C.

Durante el ciclo primavera-verano registra 274 cm de altura de planta y 115 cm de altura de mazorca, con un rendimiento promedio de 7 t ha⁻¹, similar al de las variedades de polinización libre que se comercializan en el trópico bajo de México. Su mazorca es cilíndrica, de 15.3 cm de largo, de 14 a 16 hileras. El grano como ya se dijo es semidentado, blanco, con 84 % de grano en la mazorca (Sierra *et al*, 1999 *c* y 2001).



Figura 10. Mazorca de maíz V-537 C

4.4 V-556 AC

La variedad V-556AC es un material de polinización libre, proveniente de la zona tropical Cotaxtla, Veracruz. Es de color amarillo y se caracteriza por su alta calidad proteica (comunicación personal: Rodríguez, 2008).



Figura 11. Grano de maíz V-556 AC

V. CLASIFICACIÓN BOTÁNICA Y ESTRUCTURA DEL GRANO DE MAÍZ

La planta de maíz (*Zea mays*), está clasificada como una planta monocotiledónea que pertenece a la familia de las gramíneas. El grano de maíz botánicamente es una cariósida, baya de semilla seca donde la cáscara de la fruta está fusionada a la semilla, formando un solo grano, el cual se une al olote a través del pedicelo, donde por medio de conductos internos, llegan los productos de la fotosíntesis del grano durante su desarrollo.



El grano de maíz está constituido por cuatro estructuras anatómicas mayoritarias denominadas: pericarpio, endospermo, germen y cofia (Allen, 1993). En la figura 12 se presentan las estructuras fundamentales del grano, señalándose su distribución ponderal.

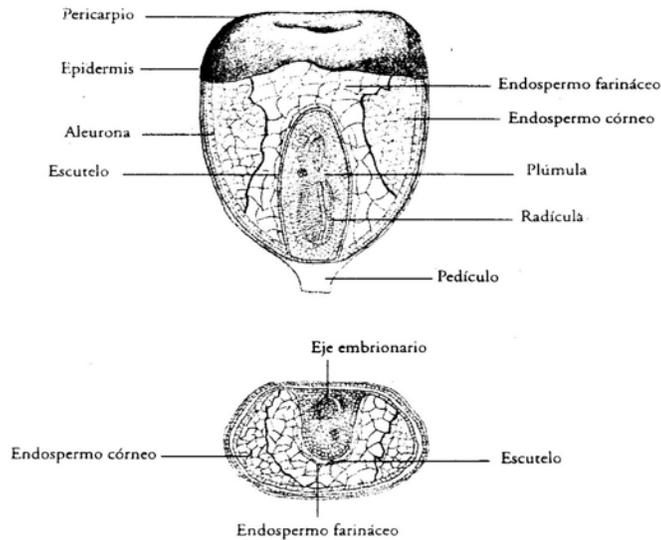


Figura 12. Estructura del grano de maíz y sus principales partes.

Las partes principales del grano de maíz difieren considerablemente en su composición química.

La cubierta seminal o pericarpio (comúnmente llamada cáscara), es la capa exterior de cubierta protectora dura y fibrosa que encierra al grano. Constituye el 5-6 % del peso total del grano y comprende la testa y la cofia, en un pequeño casquete que cubre la punta del grano y protege al embrión. Las capas que forman el pericarpio desde la capa más externa del grano hacia el interior son: 1) epidermis, 2) mesocarpio, 3) células cruzadas, 4) células tubulares y 5) testa, como se muestra en la figura 12. En el cereal ya maduro, tiene la función de impedir el ingreso de hongos y bacterias. Se caracteriza por un elevado contenido de fibra cruda, aproximadamente el 87 %, la que a su vez está formada fundamentalmente por hemicelulosa (67 %), celulosa (23 %) y lignina (0,1 %).



El endospermo, es la reserva energética y representa el 80-84 % de peso total del grano de maíz en base seca. Compuesto por 90 % de almidón y 9 % proteínas, 1 % de lípidos, 0.5 % de azúcares simples, 0.3 % de trazas de minerales y 2 % de fibra cruda (hemicelulosas). En el grano de maíz se distinguen dos tipos de endospermo: el suave o harinoso y el duro, córneo o vítreo, cuya relación esta asociada con la dureza del grano. Ambos tipos de endospermo están comprimidos por la matriz proteínica que encapsula los gránulos de almidón. El endospermo vítreo presenta un mayor contenido de proteína (entre 1.5 a 2.9 %) con respecto al endospermo harinoso.

Por último, el germen se encuentra en el extremo más bajo del grano ocupando el 9,5 al 12 % del peso total de grano en base seca. Posee dos partes destacables, el eje embrionario (planta nueva) y el escutelo que constituye una gran reserva de alimento. El germen almacena nutrimentos y hormonas, los cuales son movilizados a todo el grano por las enzimas sintetizadas durante las etapas iniciales de la germinación. Se caracteriza por un elevado contenido de grasa cruda (34 % aproximadamente), presenta niveles de proteína relativamente elevados (próximo al 20 %), azúcares (12 %), almidones (8 %), minerales (10 %), fibra cruda y hemicelulosa (14 %) y otros compuestos (2 %). Aproximadamente el 60 % de las proteínas contenidas en esta estructura son globulinas y albúminas. La radícula que da origen al nuevo embrión contiene todas las enzimas esenciales, nutrientes y material genético para producir una nueva planta de maíz (Muziani, 2005; FAO, 1993; Rojas, 2008).

VI. COMPOSICIÓN QUÍMICA Y VALOR NUTRITIVO DEL MAÍZ

El grano de maíz está constituido principalmente por almidón, proteínas, lípidos y fibra cruda y de componentes minoritarios como azúcares libres, minerales y vitaminas. Existe mucha información sobre la composición química general del maíz, lo cual ha permitido observar que el contenido de cada macronutriente, en las diferentes variedades de maíz es muy amplio. En la Tabla 1 se presenta la composición química proximal promedio de cada una de las estructuras que conforman al grano de maíz, así como la de un grano de maíz común en promedio. Estos datos aportan información para evaluar las repercusiones de los factores ambientales y las prácticas agronómicas en el valor nutricional del grano.



Tabla 1. Composición proximal promedio del grano de maíz y de sus principales estructuras (g/100 g base seca)

Porción de grano %	Proteína	Almidón	Lípidos	Azúcares	Cenizas	Fibra
G. entero	10.0	73.0	5.0	1.4	1.5	2.0
Endospermo	9.4	86.4	0.8	0.6	0.3	2.7
Germen	18.8	8.7	34.5	10.5	10.0	8.8
Pericarpio	3.7	7.3	1.0	0.3	0.9	86.7

Fuente: Watson, 1987

6.1 Almidón

El componente químico principal del grano de maíz es el almidón, al que corresponde hasta el 72-73 % del peso del grano. Otros hidratos de carbono son azúcares sencillos en forma de glucosa, sacarosa y fructosa, en cantidades que varían del 1 al 3 % del grano.

El almidón está formado por dos polímeros de glucosa: amilosa y amilopectina. La amilosa es una molécula esencialmente lineal de unidades de glucosa unidas por enlaces glicosídicos α -(1-4), que constituye hasta el 25-30 % del almidón. La amilopectina es un polímero lineal de unidades de glucosa en cadena unido por enlaces α -(1-4), con ramificaciones formadas por enlaces glicosídicos α -(1-6) localizadas cada 15 a 25 unidades y constituye hasta el 70-75 % del almidón (FAO, 1993; Allen, 1993).

6.2 Proteínas

Después del almidón, las proteínas constituyen el siguiente componente químico del grano por orden de importancia. Las proteínas del maíz se localizan principalmente en el endospermo. Las proteínas presentes en el endospermo representan entre el 75 y el 82 % de la proteína total del grano. Los cambios en el contenido total de la proteína se atribuyen a las modificaciones de este componente en la parte interna a nivel del endospermo, principalmente de zeína.



Las proteínas del maíz fueron identificadas por Osborne y Mendel (1914) de acuerdo a su solubilidad en: albúminas (solubles en agua), globulinas (solubles en soluciones de sales), prolaminas (solubles en soluciones de etanol) y glutelinas (solubles en soluciones de hidróxido de sodio). En las variedades comunes, el contenido de proteínas puede oscilar entre el 8 y el 11 % del peso del grano, y están formadas por albúminas (3.2 %), globulinas (1.5 %), zeína (47.2 %) y glutaminas (35.1 %).

En el endospermo se encuentran las prolaminas o zeínas en forma de agregados moleculares (cuerpos proteínicos) embebidos en una matriz proteínica integrada por glutelinas. Las zeínas y las glutelinas constituyen el 79 % del total de las proteínas del grano completo. Las albúminas y las globulinas predominan en el germen del grano y una porción mínima (6-8 %) se encuentra en el endospermo. Todas las fracciones proteínicas a excepción de las zeínas son abundantes en lisina y triptofano (FAO, 1993; Rojas, 2008; Allen 1993).

El maíz QPM se diferencia del maíz común por la distribución ponderal de fracciones de proteínas mencionadas anteriormente. La amplitud del cambio varía y en ella influyen el genotipo y las condiciones de cultivo. Ahora bien, se ha determinado que el gen opaco-2 disminuye la concentración de zeína en cerca del 30 %, por lo que el contenido de lisina y triptofano es mayor en las variedades QPM que en el maíz común (FAO, 1993).

La calidad nutritiva del maíz como alimento viene determinada por la composición de aminoácidos de sus proteínas. En la Tabla 2, se presentan valores representativos de los aminoácidos, de algunas variedades de maíz común y maíz QPM, así como del teocintle. Como puede observarse en este cuadro, es evidente la deficiencia de lisina y triptofano, en relación con el QPM. Otro rasgo importante es el elevado contenido de leucina del maíz común y el bajo contenido de este aminoácido en el QPM (FAO, 1993).



Tabla 2. Contenido de aminoácidos en variedades de maíz común, maíz QPM y teocintle (g/100g proteína)

Aminoácidos	EE. UU				Teocintle	MCP duro	MCP blando
	4251 (híbrido)	HO (blanco)	H5 (amarillo)	HP (blanco)			
(Nitrógeno)	1,31	1,99	2,24	2,91	3,81	1,74	1,71
Ácido aspártico	6,2	6,0	6,8	6,1	5,3	8,7	8,9
Ác. glutámico	14,6	13,9	12,4	12,8	19,9	19,8	19,2
Alanina	8,9	6,4	10,8	9,9	8,5	-	-
Arginina	3,9	4,6	3,6	3,9	2,9	6,3	6,7
Cistina	1,6	1,5	1,2	1,4	1,1	2,2	1,9
Fenilalanina	4,5	2,9	5,3	5,7	5,7	5,2	4,1
Glicina	3,3	3,4	2,6	2,8	2,2	4,6	4,6
Histidina	2,8	2,3	2,0	2,2	1,9	3,7	3,6
Isoleucina	3,3	3,5	3,7	4,0	4,7	3,5	3,5
Leucina	12,2	7,8	13,6	15,2	16,8	9,1	8,7
Lisina	2,9	3,2	2,1	2,0	1,3	4,5	4,4
Metionina	1,6	1,2	1,7	1,1	1,2	1,7	1,8
Prolina	10,3	9,3	8,3	6,8	9,6	8,4	8,1
Serina	4,6	4,8	5,0	5,5	5,2	4,3	4,5
Tirosina	3,4	3,5	3,6	4,1	4,4	3,7	3,7
Treonina	3,3	3,2	3,1	3,3	3,0	3,6	3,7
Triptofano	0,49	0,56	0,43	0,44	0,38	0,9	1,0
Valina	4,6	2,1	4,3	4,6	4,8	5,4	5,3

Fuentes: Bressani y Mertz. 1958; Mertz *et al*, 1975.

6.3 Aceite y ácidos grasos

El grano entero de maíz contiene en promedio aproximadamente 5 % de aceite, sin embargo, algunas variedades de maíz pueden contener hasta un 18 %. Aproximadamente el 85 % de los lípidos se localizan en el germen, el cual se usa comercialmente como materia prima para extraer el aceite de maíz. La composición del aceite cambia de acuerdo a la variedad de maíz pero en general, los lípidos del maíz se componen de la siguiente manera: se encuentran como ácidos grasos, triglicéridos, fosfolípidos, esteroides, tocoferoles, carotenoides (Watson, 1987).

En general, el aceite de maíz tiene un bajo nivel de ácidos grasos saturados: ácido palmítico y esteárico, con valores promedio del 11 % y el 2 %, respectivamente. En cambio, contiene niveles relativamente elevados de ácidos grasos poliinsaturados,



fundamentalmente ácido linoleico, con un valor promedio de 24 %. El maíz goza de gran reputación a causa de la distribución de sus ácidos grasos fundamentalmente los ácidos oleico y linoleico. También se han encontrado que contiene pequeñas cantidades de ácidos linolénico, araquidónico. y linolénico (0,7 %) y niveles elevados de antioxidantes naturales. Cabe mencionar que esta composición depende de la variedad o raza que se trate, del clima y por tanto de la altura sobre el nivel del mar, por lo que es de suponer que los aceites de distintas variedades tengan composiciones diferentes. (FAO, 1993; Muziani, 2005).

6.4 Fibra dietaria

Después de los hidratos de carbono (principalmente almidón), las proteínas y las grasas, la fibra dietética es el componente químico del maíz que se halla en cantidades mayores. Los hidratos de carbono complejos del grano de maíz se encuentran en el pericarpio, aunque también en las paredes celulares del endospermo y, en menor medida, en las del germen (FAO, 1993).

Se considera como fibra dietaria a la parte comestible de las plantas que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado del hombre con una fermentación parcial en el intestino grueso. Esta incluye polisacáridos, oligosacáridos, lignina y sustancias vegetales asociadas (AACC, 2003). Debido a que la fibra dietaria es una mezcla compleja de entidades químicas, su concentración y la composición en las fuentes no es constante ni uniforme. Esta diversidad física y química nos permite clasificarla en dos grupos: fibra dietaria insoluble y fibra dietaria soluble. La fibra dietaria soluble es aquella que forma una dispersión cuando se mezcla con agua, ésta incluye xiloglucanas, galactomananas, β -glucanos, sustancias pécticas, gomas y mucílagos. La fibra dietaria insoluble es aquella que no forma dispersión en el agua y está conformada por celulosas, hemicelulosas, arabinosilanos, lignina y almidón resistente (Carreón, 2005; Ramos, 2008).

La fibra de maíz y el salvado de maíz han tenido poco éxito como productos comestibles o como ingredientes alimentarios. No obstante, varios investigadores han mostrado que estos productos tienen valiosas propiedades para reducir los niveles de colesterol (Anderson *et al*, 1994). Esto ocurre porque las sales biliares, que son



necesarias para la absorción de lípidos, se forman en el hígado a partir de colesterol y son segregadas en la bilis. Normalmente, una porción considerable de las sales biliares es reabsorbida por el organismo; cuando la dieta es rica en fibra dietética, las sales biliares son retenidas por ésta y por lo tanto no pueden ser reabsorbidas. Esto implica la necesidad del organismo de sintetizar más sales biliares, a expensas del colesterol, implicando una especie de actividad hipocolesterolemiante (Barrera, 2003).

También se ha visto que dietas pobres en fibra dietética están asociadas con la eliminación de un pequeño volumen de heces y frecuentemente con estreñimiento y esfuerzo al defecar. Esto se ha relacionado con el desarrollo de hemorroides, venas varicosas y enfermedad diverticular del colon (Barrera, 2003).

6.5 Minerales

La concentración de cenizas en el grano de maíz es aproximadamente del 1,3 %, sólo ligeramente menor que el contenido de fibra cruda. Los factores ambientales influyen probablemente en dicho contenido. El germen es relativamente rico en minerales, con un valor medio del 11 %, frente a menos del 1 % en el endospermo. El germen proporciona cerca del 78 % de todos los minerales del grano. El mineral que más abunda es el fósforo, en forma de fitato de potasio y magnesio, encontrándose en su totalidad en el embrión con valores de aproximadamente 0,90 % en el maíz común y cerca del 0,92 % en el maíz opaco-2. Como sucede con la mayoría de los granos de cereal, el maíz tiene un bajo contenido de calcio y de oligoelementos (FAO, 1993; Allen, 1993).

6.6 Vitaminas

6.6.1. Liposolubles.

El grano de maíz contiene dos vitaminas solubles en grasa, la provitamina A o carotenoide y la vitamina E. Los carotenoides se encuentran sobre todo en el maíz amarillo, en tanto que el maíz blanco tiene un escaso o nulo contenido de ellos. La mayoría de los carotenoides se encuentran en el endospermo duro del grano y únicamente pequeñas cantidades en el germen. La vitamina E es otra vitamina



liposoluble que contiene el maíz y se halla principalmente en el germen. La fuente de la vitamina E la constituyen cuatro tocoferoles; el más activo biológicamente es el tocoferol-alfa; aunque el tocoferol-gamma es probablemente más activo como antioxidante (FAO, 1993; Allen, 1993).

6.6.2. Hidrosolubles.

Las vitaminas solubles en agua se encuentran sobre todo en la capa de aleurona del grano de maíz, y en menor medida en el germen y el endospermo. Se han encontrado cantidades variables de tiamina y riboflavina en el grano del maíz; su contenido está determinado en mayor medida por el medio ambiente y las prácticas de cultivo que por la estructura genética, aunque se han encontrado diferencias en el contenido de estas vitaminas entre las distintas variedades. La vitamina soluble en agua a la cual se han dedicado más investigaciones es el ácido nicotínico, a causa de un fenómeno muy difundido en las poblaciones que consumen grandes cantidades de maíz, por su asociación con la deficiencia de niacina causante de la pelagra, (FAO, 1993; Allen, 1993).

VII. SUPLEMENTACIÓN DE LAS PROTEÍNAS

Cuando las proteínas tienen uno más aminoácidos indispensables en cantidad limitada, se dice que son proteínas incompletas. En general, las proteínas de origen animal, como las del huevo, la leche y la carne, son de mejor calidad y valor biológico que las de origen vegetal (leguminosas y cereales), porque aportan todos los aminoácidos indispensables en cantidades apropiadas.

Las leguminosas contienen buena cantidad de proteínas, pero por lo general, tienen uno o dos aminoácidos indispensables limitantes como son la metionina y la cistina; mientras que, los cereales tienen un bajo contenido de proteína, la cual es deficiente en los aminoácidos esenciales lisina y triptofano.

Cuando una proteína es deficiente en algún aminoácido, se debe tratar de corregir en su composición, de manera que logre aumentar su calidad proteica. El mejoramiento de la calidad de una proteína se logra aplicando el método de la suplementación. Este



método consiste en la complementación de diferentes proteínas. Se llama complementación proteica cuando dos alimentos diferentes (tales como un cereal y una leguminosa) se combinan, de manera que los aminoácidos de una proteína pueden compensar los que faltan en la otra, obteniendo una proteína de mejor calidad en la combinación resultante (Badui, 2006; Velásquez, 2006).

VIII. CALIDAD DE UNA PROTEÍNA Y SU EVALUACIÓN

Las proteínas poseen un papel fundamental en la nutrición, ya que proporcionan nitrógeno y aminoácidos que podrán ser utilizados para la síntesis de proteínas y otras sustancias nitrogenadas.

Hay 20 aminoácidos involucrados en la formación de las proteínas de los alimentos vegetales y animales, de los cuales ocho son considerados como indispensables para los adultos ya que deben ser adquiridos en la dieta porque su velocidad de síntesis en el organismo humano es despreciable, los cuales son: leucina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano y valina. Los niños requieren además de histidina. El resto de los aminoácidos son denominados no indispensables porque el organismo puede sintetizarlos eficazmente a partir de los indispensables.

Existen dos factores que determinan el valor nutricional de fuentes proteínicas: el contenido proteínico y la calidad de la proteína. Respecto al primero se ha sugerido que en los alimentos que forman la base de la dieta, el porcentaje debe asemejarse al de los cereales (8-10 %), para satisfacer las necesidades proteínicas. En lo referente a la calidad de la proteína, ésta depende tanto de la proporción de los aminoácidos indispensables que contienen en relación con los requerimientos humanos, como de la biodisponibilidad de los mismos, término que se refiere a la capacidad para incorporar los aminoácidos de la dieta a las estructuras corporales y que puede verse afectada tanto por una mala digestión como por una absorción incompleta (Badui, 2006).

Existen diversos métodos para evaluar la calidad proteica de un alimento y básicamente se han clasificado en métodos químicos, biológicos, enzimáticos y microbiológicos.



8.1 Métodos químicos

Los métodos químicos más usados para evaluar la calidad de una proteína son el cómputo químico o *score químico*, el aminograma, el índice de aminoácidos esenciales y el de lisina disponible.

La predicción de la calidad nutritiva de la proteína de un alimento mediante el análisis químico, permite visualizar la composición de ésta y, si se compara con una de óptimo valor biológico, se puede especificar su contenido de aminoácidos esenciales deficientes (Primo, 1998). El análisis químico determina el contenido de aminoácidos (aminograma), con el cual se puede calcular el índice químico de predicción biológica conocido como calificación química.

8.1.1. Calificación química

La calificación química o "*score químico*" fue propuesta por Mitchell y Block en 1946, y ésta se basa en expresar la relación existente entre el valor de cada aminoácido esencial de la proteína en estudio con respecto al valor de dicho aminoácido en el patrón de referencia de aminoácidos necesarios para un crecimiento óptimo. Se considera aminoácido deficiente al menor valor del porcentaje de aminoácido esencial encontrado y, por tanto, limitante para la utilización de la proteína. Al valor del porcentaje del aminoácido deficiente se le considera como la calificación química de esa proteína (Robinson y Sadler, 1993; Badui, 2006).

Para la proteína en estudio, el aminoácido limitante es el componente que determina el valor global de la proteína. Entre las ventajas que presenta este método es la sencillez al identificar el aminoácido limitante (lo cual no es posible en un bioensayo) y, el diseño de las mezclas de proteínas complementarias para obtener una mayor calidad. Hoy en día, la valoración cuantitativa de los aminoácidos de una proteína se realiza previa hidrólisis de la misma en condiciones ácidas o alcalinas por cromatografía de líquidos o analizadores automatizados basándose en el comportamiento ácido-base de los aminoácidos (Flores, 2003).



8.1.2. Análisis de aminoácidos por Cromatografía de Líquidos de alta Resolución

La cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR), es empleada como método de separación e identificación de compuestos con base en sus características fisicoquímicas y ha llegado a ser un método rutinario en la mayoría de las áreas de análisis instrumental.

Actualmente, la CLAR es un método cuantitativo rápido, altamente sensible, capaz de producir una buena resolución entre compuestos químicamente similares como es el caso de los aminoácidos. Cuando el método involucra una derivatización puede dividirse en dos técnicas: pre o postcolumna. La más empleada es la precolumna y consiste en tratar la mezcla de aminoácidos con un reactivo para formar derivados los cuales son altamente absorbentes en la región ultravioleta y pueden ser separados por cromatografía de fase reversa (CFR), la cual constituye un sistema de partición en donde la fase móvil es más polar que la fase estacionaria. La fase estacionaria más usada es la sílica enlazada con cadenas octadecil (C_{18}), con buffer de acetato y un gradiente de acetonitrilo o metanol como fase móvil (Robinson y Sadler, 1993).

8.2 Métodos biológicos

Aunque el perfil de aminoácidos es importante en la calidad nutricional de una proteína, su susceptibilidad a la hidrólisis es el mayor determinante de la disponibilidad de aminoácidos. Si una proteína no es digerible, ésta no tiene una buena calidad, a pesar de su perfil de aminoácidos esenciales.

La evaluación biológica de la calidad proteica es una medida del contenido, proporción y disponibilidad de los aminoácidos esenciales. Los bioensayos determinan la biodisponibilidad de las proteínas alimentarias y son hasta el momento el método más confiable, especialmente en el estudio de las funciones de la nutrición, debido a que se basan ya sea en la determinación del crecimiento o en la retención de nitrógeno, en función del consumo de proteína, en donde la rata es el animal experimental más utilizado (Badui, 2006; Flores, 2003). En general, se considera que el grado de crecimiento de un animal bajo condiciones bien definidas, provee la información para evaluar la calidad nutritiva de una proteína, ya que si ésta tiene una deficiencia en uno



o más aminoácidos indispensables, el crecimiento del animal se verá reducido al compararse con una proteína patrón utilizada al mismo tiempo que la que está en prueba.

Entre los bioensayos más utilizados están el que mide: a) la Relación de eficiencia proteica, b) la Relación neta de la proteína y c) la digestibilidad.

8.2.1 Relación de la Eficiencia Proteica (REP)

En 1919 Osborne, Mendel y Ferry, introdujeron el concepto de Relación de la Eficiencia Proteica (REP) y en 1975, fue adoptado por la Asociación Oficial de Química Analítica (AOAC) como método oficial y desde entonces ha sido el procedimiento más utilizado dentro de las pruebas biológicas en la evaluación de una fuente de proteína. Generalmente se acepta que el incremento de peso de ratas destetadas (donde los sujetos en estudio están en fase de crecimiento intenso, atribuible únicamente a un desarrollo de la masa muscular y tisular y no a la formación de masa grasa), alimentadas con una dieta bajo condiciones estandarizadas, provee una medida confiable del valor nutritivo de una proteína.

Para poder detectar pequeñas diferencias en la calidad de la proteína y debido a que existen factores que ejercen influencia sobre los resultados (como por ejemplo: edad, sexo y cepa de los animales experimentales, la calidad y cantidad de proteína; así como factores ambientales: temperatura, tamaño de la jaula, luz y humedad relativa), es necesario una estandarización estricta (Robinson, 1991; Pellett y Young, 1980). Las condiciones estándar para la determinación del REP fueron reportadas por la AOAC (FAO/WHO, 1990; AOAC, 2000); algunas de estas condiciones son:

- ✓ Utilizar un nivel de 10 % de proteína en la dieta de prueba y en la dieta de referencia, la cual es generalmente caseína.
- ✓ Emplear ratas recién destetadas (21- 23 días de edad), de la misma cepa y camada y del mismo sexo.
- ✓ El intervalo de peso inicial entre los animales no debe exceder los 10 g
- ✓ Temperatura del cuarto: 22-24 °C
- ✓ Humedad relativa 50 – 65 %



- ✓ Iluminación: 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad
- ✓ Un periodo de prueba de 3-4 semanas

Después del periodo de prueba, el REP se calcula como:

$$\text{REP} = \text{ganancia de peso (g)} / \text{proteína ingerida (g)}$$

8.2.2 Relación Neta de la Proteína (RNP)

Probablemente la crítica más fuertemente hecha al REP es que considera que toda la proteína ingerida es utilizada para el crecimiento y no toma en cuenta la proteína necesaria para el mantenimiento de los sujetos en estudio. También tiene el inconveniente de que como su fundamento se basa en el crecimiento de los animales, proteínas de baja o mala calidad nutritiva manifiestan una respuesta muy variable, debido a que se exagera la variabilidad intraespecie, haciendo que sea difícil asignar un valor preciso (Muller y Tobin, 1985).

Los inconvenientes anteriores pueden solucionarse determinando la cantidad de peso corporal que se perdería si el animal de experimentación no ingiriera proteína durante el periodo de ensayo, ya que antes de que se genere el incremento de peso corporal, la proteína por ensayar debe cubrir las necesidades proteínicas de mantenimiento.

En 1957 Bender y Doell desarrollaron el método biológico RNP, cuya duración comprende de 10 a 14 días. En éste se incluye un lote de ratas al que se administra una dieta sin nitrógeno, llamado grupo metabólico. Se considera que la pérdida de peso de este lote es un indicador de la proteína requerida para el mantenimiento de los lotes de prueba (Bender y Doell, 1957). Este bioensayo se realiza a las mismas condiciones estándar que el REP mencionadas anteriormente y se define como:

$$\text{RNP} = [\text{ganancia de peso grupo prueba} + |\text{decremento de peso grupo metabólico}|] (\text{g}) / \text{proteína ingerida (g)}$$



8.2.3. Digestibilidad (*in vivo*)

La biodisponibilidad de los aminoácidos para ser absorbidos por el organismo de prueba, depende de la digestibilidad de cada proteína. Por ello también se han desarrollado técnicas para su evaluación.

La digestibilidad es un indicador inicial de la calidad nutritiva de un alimento y es definida como “la biodisponibilidad de los aminoácidos constituyentes de la proteína para ser absorbidos por el organismo de prueba”, dicho en otras palabras, corresponde a la proporción del nitrógeno ingerido que se absorbe (Robinson, 1991).

Los métodos de digestibilidad de proteínas *in vivo* se basan en suministrar una dieta que contiene la muestra como única fuente de proteínas a los animales experimentales, de los cuales se determinan la cantidad de nitrógeno absorbido mediante la diferencia del ingerido en la dieta administrada y el nitrógeno eliminado por heces. Hay dos tipos de digestibilidad:

- a) Digestibilidad aparente (D_a): la cual no es una medida exacta de la digestibilidad del nitrógeno de la dieta, ya que sólo considera el nitrógeno fecal exógeno (contenido en heces). Se define como:

$$D_a = \frac{\text{Nitrógeno ingerido} - \text{Nitrógeno fecal}}{\text{Nitrógeno ingerido}} \times 100$$

- b) Digestibilidad verdadera (D_v): la cual considera el nitrógeno fecal endógeno (nitrógeno contenido en heces del grupo metabólico empleado en el bioensayo RNP), que incluye el nitrógeno de bacterias, de descamaciones de las células de la mucosa intestinal, enzimas metabólicas, etc. Se expresa como:

$$D_v = \frac{\text{Nitrógeno ingerido} - (\text{Nitrógeno fecal} - \text{Nitrógeno fecal metabólico})}{\text{Nitrógeno ingerido}} \times 100$$



OBJETIVOS

GENERALES

- ✓ Determinar la composición nutricia de una muestra de teocintle y de 10 muestras de diferentes maíces y evaluar lade 4 de estas muestras con una leguminosa selecta, mediante pruebas biológicas.

PARTICULARES

- ✓ Determinar y comparar la composición química del teocintle y de 10 diferentes tipos de semillas (razas criollas y variedades e híbridos QPM).
- ✓ Cuantificar el contenido de fibra dietaria total de cada especie.
- ✓ Realizar el perfil de aminoácidos del material proteínico de cada maíz y muestra de teocintle por CLAR.
- ✓ Cuantificar el contenido de triptófano en cada grano por CLAR.
- ✓ Evaluar la calidad proteica de dos maíces criollos y de dos maíces de alta calidad proteica (QPM), por los métodos biológicos Relación de Eficiencia Proteica, Relación Neta de la Proteína y Digestibilidad *in vivo*.
- ✓ Establecer mediante los resultados de las pruebas biológicas en ratas, si una dieta de maíz QPM suplementada con garbanzo, es significativamente diferente a una dieta de maíz criollo y QPM sin suplementar y a una dieta de maíz criollo suplementada.



METODOLOGÍA

1. INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

Se trabajó con una muestra de teocintle mexicano y con 10 diferentes maíces, los cuales incluyen razas criollas y variedades e híbridos de alta calidad proteínica (QPM). Las muestras de maíz fueron identificadas y proporcionadas por la Dra. Griselda Vázquez de la Universidad Autónoma de Chapingo y por el Dr. José Luis Pons Hernández y el Ing. Flavio Rodríguez Montalvo del INIFAP de los campos experimentales del Bajío y Veracruz, respectivamente. En la Tabla 3 se enlistan las muestras con las que se trabajó.

Tabla 3. Lista de semillas de maíz y teocintle en estudio

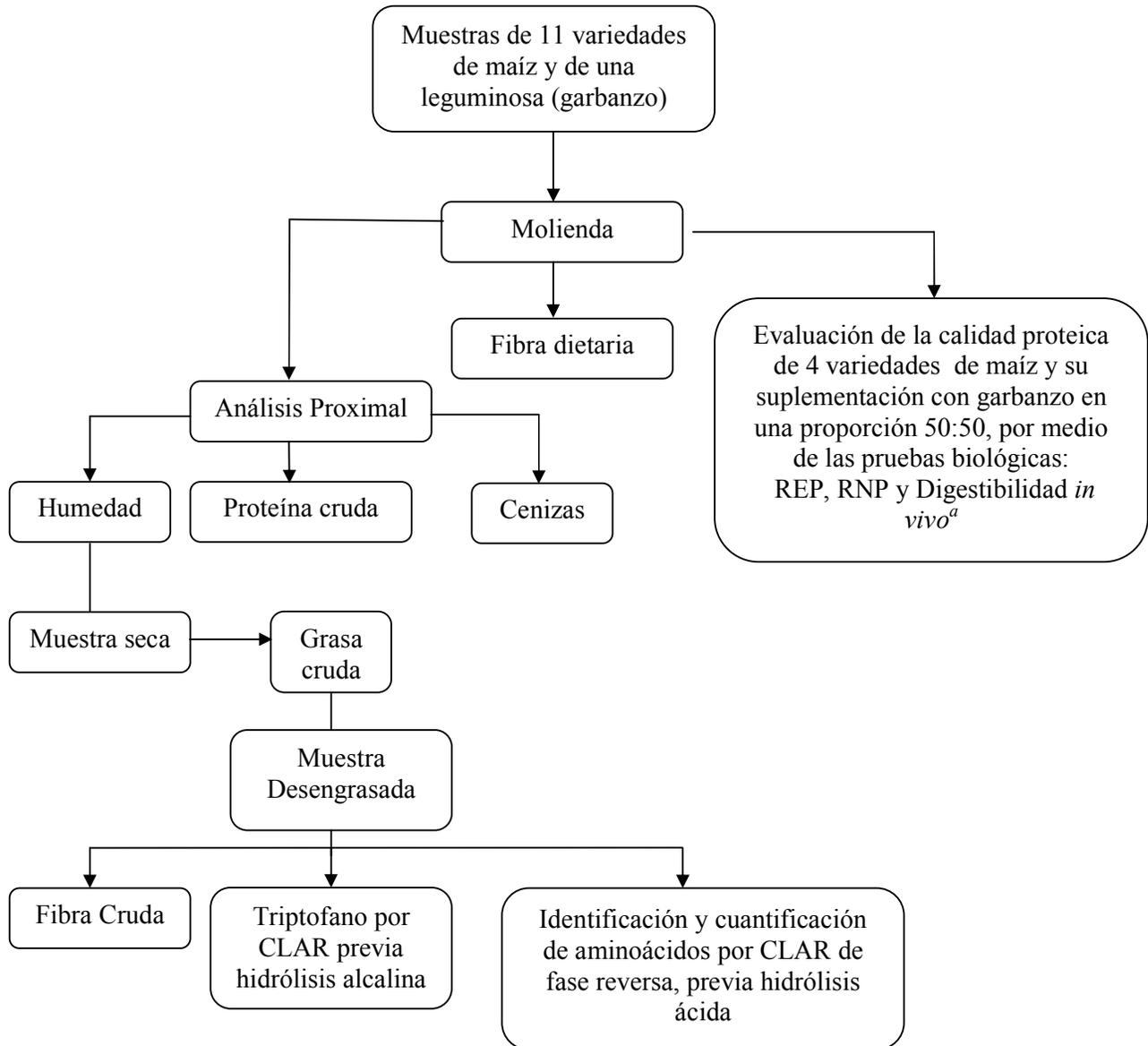
<i>Maíz</i>	<i>Origen</i>
Teocintle (<i>Zea mays</i> L. ssp. <i>mexicana</i>)*	INIFAP
Tuxpeño*	INIFAP
Celaya	Guanajuato 2005, colecta 4
Celaya x Tabloncillo	Guanajuato, 2004
Mil granos	Guanajuato, 2004
Cónico Norteño	Guanajuato 2005, colecta 33
Pepitilla	Guerrero 2006, colecta 36
V-537 C	Cotaxtla, Ver., 2008
V-556 AC	Cotaxtla, Ver., 2008
H-519 C*	INIFAP
H-553 C*	INIFAP

* Proporcionados por el INIFAP pero no se cuenta con datos de origen

Las semillas con señales de humedad alta fueron sometidas a un proceso de secado previo en una estufa con circulación de aire a una temperatura de 60°C. En la Figura 13 se muestra el diagrama general de trabajo de este estudio, posteriormente se explica cada paso de manera detallada.



2. DIAGRAMA GENERAL DE INVESTIGACIÓN



^aREP: Relación de Eficiencia Proteica; RNP: Relación Neta de la Proteína

Figura 13. Esquema de trabajo sobre las especies vegetales contempladas en este estudio.



3. DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA

Las muestras vegetales fueron molidas y tamizadas por una malla de 2 mm para homogeneizar el tamaño de partícula. Posteriormente, se les determinó la composición proximal (Williams, 1989) y fibra dietaria (AOAC, 1995) por los métodos de la AOAC. El contenido de triptófano se realizó por CLAR previa hidrólisis alcalina siguiendo las metodologías de Lucas, y *col.* (1980) y Yust, y *col.* (2004) mientras que, el perfil de aminoácidos se determinó por CLAR de fase reversa, previa hidrólisis ácida siguiendo la metodología de Romero (2003), con algunas modificaciones. Los procedimientos completos de las determinaciones se explican en los anexos. Todas ellas se realizaron por triplicado a excepción de la fibra dietaria que se realiza por cuadruplicado.

3.1 ANÁLISIS PROXIMAL

Fundamento

El análisis proximal es la estimación porcentual de los componentes de un alimento. Este análisis incluye las siguientes determinaciones: humedad, grasa cruda, proteína cruda, cenizas, fibra cruda, y carbohidratos asimilables por diferencia (Procedimientos completos en Anexos I a VI).

3.2 FIBRA DIETARIA TOTAL

Fundamento

Se determina la fibra dietética contenida en los alimentos usando un método enzimático-gravimétrico. Las muestras secas y desengrasadas son gelatinizadas con α -amilasa estable al calor, posteriormente son digeridas enzimáticamente con proteasa y amiloglucosidasa para eliminar la proteína y el almidón presente en la muestra. El etanol es adicionado para precipitar la fibra dietaria soluble. El residuo es entonces filtrado y lavado con etanol y acetona y posteriormente pesado. A uno de los duplicados se les determina el contenido de proteína, mientras que, el otro es incinerado a 500° C para cuantificar las cenizas. El total de la fibra dietaria es el peso del residuo menos el peso de la proteína, cenizas y blanco (Anexo VII).



3.3 CUANTIFICACIÓN DE AMINOÁCIDOS POR CLAR DE FASE REVERSA, PREVIA HIDRÓLISIS CON HCl 6N A REFLUJO

Fundamento

La cuantificación de los aminoácidos de una proteína en un alimento permite realizar una evaluación de la posible calidad de dicha proteína en términos de cantidad y variedad de los aminoácidos indispensables que contiene.

El procedimiento más generalizado para esta determinación es la hidrólisis ácida, donde las muestras son tratadas con el doble, triple o más de su peso con HCl 6 N, manteniéndolas bajo reflujo a 145°C por espacio de 4 horas. Después de la hidrólisis y debido a la polaridad de los aminoácidos y a la ausencia de un cromóforo en la mayoría de ellos, es necesaria la formación de un derivado previamente al análisis por CLAR de fase reversa (partición de un soluto entre una fase estacionaria no polar y una fase móvil polar), utilizando norleucina como estándar interno. Se ha visto que los derivados formados con 6-aminoquinolil-N-hidroxisuccinimidilcarbamato son estables y permiten incrementar la precisión del análisis rutinario de aminoácidos por derivatización pre columna, dada la relativamente menor manipulación de la muestra, durante la preparación de los derivados de los aminoácidos liberados. Las condiciones y el procedimiento completo de esta técnica se describen en el Anexo VIII.

3.4 CUANTIFICACIÓN DE TRIPTOFANO POR CLAR

Fundamento

La cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) es la técnica de separación más ampliamente utilizada para la determinación de aminoácidos. Las razones más importantes son su sensibilidad, su fácil adaptación a las determinaciones cuantitativas exactas, su idoneidad para la separación de especies no volátiles o termolábiles.

La determinación del triptofano sólo es posible a través de una hidrólisis alcalina, ya que la hidrólisis ácida lo transforma en amonio afectando su estabilidad y la exactitud de la determinación. En algunos procedimientos, la muestra es hidrolizada en medio básico, seguidamente se realiza un ajuste de pH y el triptófano es separado por



cromatografía líquida de intercambio iónico y determinado por un detector UV a 280 nm.

En este trabajo, la determinación de triptofano en la muestra se realizó mediante una hidrólisis alcalina, con LiOH 4N a 100 °C durante 6 horas y la detección se realizó a 280nm. La metodología completa se encuentra descrita en el Anexo IX.

3.5 CALIFICACIÓN QUÍMICA

La calidad de la proteína se evalúa midiendo el contenido de aminoácidos y comparándolo con una proteína de referencia o patrón. El resultado de la comparación es expresado como un porcentaje lo cual permite conocer la abundancia de cada uno de los aminoácidos indispensables en la proteína (Anexo X).

Usualmente, la calificación química de una proteína en estudio se calcula comparándola con las necesidades de un niño mayor a un año, porque representan los requerimientos de aminoácidos más exigentes de los diferentes grupos etarios. El patrón de aminoácidos usado en este trabajo para el cálculo del score químico fue el de la FAO/OMS/ONU (1985), reportado para niños de preescolar de 2 a 5 años (Tabla 4).

Tabla 4. Requerimientos nutricionales estimados por FAO/OMS/ONU (1985) para preescolares, extrapolables a adultos.

Aminoácido esencial	(mg de aa's /g de proteína)
Histidina	19
Isoleucina	28
Leucina	66
Lisina	58
Metionina+Cistina	25
Fenilalanina+Tirosina	63
Treonina	34
Triptófano	11
Valina	35



3.6 PRUEBAS BIOLÓGICAS

Fundamento

A través de los años se han desarrollado diversos métodos para evaluar la calidad nutricional de una proteína; ejemplos de ellos son los bioensayos, métodos químicos y métodos enzimáticos. Los bioensayos se basan ya sea en la determinación del crecimiento o en la retención de nitrógeno, en función del consumo de proteína, siendo las ratas, los animales experimentales más utilizados. Dentro de este tipo de estudios están la Relación de la Eficiencia de la Proteína (REP), la Relación Neta de la Proteína (RNP) y la Digestibilidad Verdadera (DV) (Badui, 2006). El fundamento de cada uno se describe a continuación, mientras que la metodología y condiciones se describen en el Anexo XI.

- ✓ REP: Se basa en un índice de crecimiento, el cual relaciona la ganancia de peso por gramo de proteína consumido, asumiendo que el incremento en peso es debido exclusivamente al nitrógeno ingerido, sin embargo, no considera la contribución de la proteína al mantenimiento del organismo.
- ✓ RNP: Incluye un lote de ratas al que se administra una dieta sin nitrógeno (grupo metabólico). Se considera que la pérdida de peso de este lote es un indicador de la proteína requerida para el mantenimiento de los lotes de prueba, expresando entonces el valor de RNP como el incremento de la ganancia de peso del grupo prueba más el valor absoluto de la pérdida de peso del grupo metabólico, dividida entre la proteína consumida por el grupo de prueba.
- ✓ DV: Se basa en suministrar una dieta que contiene la muestra en estudio como única fuente de proteína a los animales experimentales, de los cuales se determina la cantidad de nitrógeno absorbido mediante la diferencia del ingerido y el eliminado por heces, considerando el nitrógeno endógeno (cuantificado de las heces de los animales de la dieta libre de nitrógeno).



3.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los análisis estadísticos aplicados a los resultados obtenidos en este trabajo fueron los siguientes: media, desviación estándar, coeficiente de variación y comparación de medias un análisis de varianza de un factor (ANOVA) con un $\alpha = 0.05$, seguido de una prueba de rango múltiple Duncan, para establecer diferencias significativas entre ellas. Para el análisis se usó el programa estadístico SPSS versión 17.0.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Dada la importancia del uso del maíz como base de la alimentación mundial, se seleccionó una serie de muestras representativas de las razas de mayor consumo para su análisis nutricional, el cual estuvo integrado por análisis bromatológico y evaluación de la calidad proteica.

1. ANÁLISIS PROXIMAL

En la Tabla 5 se presentan los resultados de la composición química de cada semilla, así como el estudio estadístico realizado para observar diferencias significativas entre muestras.

Tabla 5. Composición química del teocintle, 10 diferentes semillas de maíz y de la leguminosa empleada para la suplementación¹

Variedad	Humedad	g / 100 g base seca				Hidratos de carbono ³
		Proteína ²	Lípidos	Cenizas	Fibra	
Teocintle ⁴	6.74 ± 0.06 ^a	8.03 ± 0.09 ^a	1.01 ± 0.01 ^a	4.13 ± 0.15 ^e	27.17 ± 0.73 ^e	59.67
Celaya	7.70 ± 0.10 ^c	9.77 ± 0.13 ^d	5.38 ± 0.13 ^{gh}	1.45 ± 0.005 ^b	2.17 ± 0.10 ^{bc}	81.23
Cónico Norteño	7.43 ± 0.05 ^b	10.50 ± 0.07 ^f	5.49 ± 0.12 ^h	1.45 ± 0.003 ^b	2.44 ± 0.18 ^{cd}	80.11
Pepitilla	7.32 ± 0.22 ^b	10.25 ± 0.14 ^e	4.73 ± 0.14 ^d	1.52 ± 0.04 ^b	2.46 ± 0.33 ^{cd}	81.04
Tuxpeño	8.51 ± 0.07 ^e	9.18 ± 0.06 ^c	5.21 ± 0.13 ^{fg}	1.29 ± 0.01 ^a	1.65 ± 0.02 ^a	82.67
V-537 C	9.29 ± 0.2 ^g	10.26 ± 0.15 ^e	5.00 ± 0.07 ^e	1.68 ± 0.01 ^c	1.92 ± 0.12 ^{ab}	81.14
V-556 AC	8.80 ± 0.05 ^f	10.34 ± 0.17 ^{ef}	4.68 ± 0.04 ^{cd}	1.64 ± 0.01 ^c	2.08 ± 0.24 ^{abc}	81.27
H-519 C ⁴	7.41 ± 0.16 ^b	8.52 ± 0.11 ^b	5.12 ± 0.23 ^{ef}	1.33 ± 0.01 ^a	2.20 ± 0.06 ^{bc}	82.84
H-553 C ⁴	8.11 ± 0.04 ^d	9.36 ± 0.69 ^c	4.41 ± 0.15 ^b	1.52 ± 0.02 ^b	2.18 ± 0.04 ^{bc}	82.53
Celaya x Tabloncillo	8.40 ± 0.06 ^e	11.79 ± 0.12 ^h	5.53 ± 0.04 ^h	1.64 ± 0.03 ^c	2.90 ± 0.32 ^d	78.13
Mil granos	6.72 ± 0.02 ^a	10.83 ± 0.02 ^g	4.52 ± 0.03 ^{bc}	1.84 ± 0.02 ^d	2.75 ± 0.24 ^d	80.06
Garbanzo	6.43 ± 0.20	22.04 ± 0.42	4.46 ± 0.04	2.99 ± 0.03	2.70 ± 0.25	67.81

1. Promedio de triplicado ± D. E.; C.V. < 5 %

2. % N x 6.25

3. Calculados por diferencia

4. Martínez y Martínez, 2009.

Diferentes letras dentro de una misma columna indican diferencia estadística significativa entre variedades (p≤0.05)

Los resultados de la composición proximal muestra que los valores obtenidos en los maíces estudiados fueron similares a los reportados por la FAO (1993) y otros autores (Del Ángel y Sotelo, 1987; Valdemiro *et al.* 1977; Zarkadas *et al.*, 1995 y 2000; Oropeza *et al.*, 1989; Bressani *et al.*, 1990), en otras variedades de maíz (comunes y



QPM), distintos a los utilizados en este estudio. Para definir si existe diferencia significativa entre las semillas aquí estudiadas, se realizó el análisis estadístico de cada componente (macronutrientes, cenizas y fibra), el cual se presenta en la Tabla 5. Los resultados de este análisis se discute a continuación.

1.1 Contenido de humedad

Como se observa en la Tabla 5, existe una importante variación en el contenido de humedad entre las muestras de maíz, el cual va del 6.72 % (mil granos) al 9.29 % (V-537 C), debido principalmente a las condiciones de secado y almacenamiento en que fue conservado cada grano. El contenido de humedad del grano es importante, ya que si es mayor al 15.5 %, durante su almacenamiento pueden crecer hongos y producirse pérdidas importantes, disminuyendo su valor comercial (Watson, 1987 b).

Por otro lado, para eliminar la variación de este componente y poder hacer una comparación entre muestras del contenido del resto de los componentes determinados en el proximal s, se presentan en la misma tabla el contenido de éstos expresados en g/100g base seca, de manera que sea posible establecer si existe diferencia significativa entre ellos.

1.2 Contenido de proteína

En cuanto al contenido de proteína en el teocintle (8.03 %), no existe información en la literatura de ningún análisis proximal realizado a esta especie contra la cual comparar, pues como se mencionó ya en la revisión bibliográfica, el teocintle no es considerado como un alimento potencial en humanos y sólo es utilizado como forraje en alimentación animal. Sin embargo, es interesante observar que su porcentaje de proteína fue significativamente menor, al contenido promedio en un maíz (10%). Sin embargo, dado que el teocintle es considerado filogenéticamente el pariente más directo del maíz, era de esperarse que el contenido de este nutrimento en ambas especies vegetales fuera similar.

En cuanto al contenido de proteína en las diferentes muestras de maíz, éste presentó variaciones. La semilla de maíz con un contenido mayor de proteína, estadísticamente



significativo, fue la variedad “Celaya x Tabloncillo”, con un porcentaje de 11.79, seguida de las semillas Mil granos, Cónico Norteño, V-556 AC, V-537 C y Pepitilla, con 10.83, 10.5, 10.34 y 10.2 % respectivamente; mientras que, las de menor porcentaje de proteína fueron H-519 C, Tuxpeño, H-553 C y Celaya con 8.52, 9.18, 9.36 y 9.77 % respectivamente. Los valores de proteína encontrados en los diferentes maíces, fueron semejantes a los reportados por los autores antes mencionados (FAO, 1993; Valdemiro *et al.* 1977; Zarkadas *et al.*, 1995 y 2000; Oropeza *et al.*, 1989; Bressani *et al.*, 1990).

Respecto al contenido de proteína en el maíz QPM, sólo se encontró en la literatura una publicación de Méndez-Montalvo *y col.*, (2005), referente a la composición proximal de maíces mejorados cultivados en México, donde se incluye a la variedad simple 537 y al H-553 C, siendo el porcentaje de proteína ahí reportado para H-553 C más bajo al encontrado en este estudio (8.9 %).

1.3 Contenido de lípidos

Respecto al contenido de lípidos, el teocintle presentó el contenido más bajo (1.01 %), el cual fue significativamente diferente al de los maíces en donde oscila entre 4.41 y 5.49 %. La muestra con mayor porcentaje de este nutrimento fue la raza Cónico Norteño (5.49 %), seguida de las razas Celaya x Tabloncillo y Celaya. Nuevamente se observa que el contenido de este componente en los maíces QPM fue de los valores intermedios a los más bajos de todos los determinados. La semilla con menor contenido de lípidos fue el H-553 C.

Aunque por lo general el porcentaje de lípidos en los cereales es bajo, el del maíz destaca por tener el doble del contenido con respecto a otros cereales, como el trigo y la cebada. Además, su aceite representa una buena fuente de ácidos grasos poliinsaturados (ácido linoleico principalmente, con un valor medio de cerca del 24 % del total), benéficos para la salud (Muziani, 2005).



1.4 Contenido de cenizas

El porcentaje de cenizas presente en los maíces fue en general pequeño (1.29 - 1.84 %), no obstante, el contenido encontrado en el teocintle fue relativamente alto comparado con el de los maíces (4.13 %). Esto podría ser una consecuencia del tipo de condiciones ambientales (específicamente de suelo), a las que cada una de estas plantas logra desarrollarse, ya que el teocintle es una planta silvestre que tiene una mayor flexibilidad para adaptarse a las condiciones adversas del ambiente. Otra causa que pudiera influir en el alto contenido de cenizas es que la cubierta del grano del teocintle es más dura que la de un maíz, por lo que ahí pudiera acumularse un mayor contenido de minerales, para darle esa resistencia y protección al grano. Para corroborar sería importante hacer un estudio del tipo y contenido de minerales en cada una de las partes de la semilla de teocintle.

El contenido de minerales en los alimentos es importante porque algunos de ellos pueden considerarse indispensables para el buen funcionamiento del organismo humano y su carencia puede provocar serios problemas de salud. El maíz constituye una buena fuente de minerales como fósforo, potasio, magnesio y calcio, importantes en la formación de tejidos rígidos del cuerpo. También aporta pequeñas cantidades de hierro, sodio, manganeso, zinc y calcio (FAO, 1993; Muziani, 2005).

1.5 Contenido de fibra cruda

Por otro lado, la cantidad de fibra cruda o insoluble en las muestras de maíz analizadas fue de un rango de 1.65 a 2.9 %, siendo las razas criollas las que presentaron los porcentajes más altos y las variedades e híbridos QPM, los bajos.

El contenido de fibra en el teocintle destacó notablemente de las demás muestras pues presentó un porcentaje de 27. El alto contenido de este componente se debe a que forma parte de la cáscara fibrosa que recubre al grano de teocintle, confiriéndole la resistencia a plagas y dureza que lo caracteriza, siendo ésta última una posible limitante para ser usado en la alimentación humana.



1.6 Contenido de hidratos de carbono

La proporción de carbohidratos en la semilla es importante ya que constituyen una buena fuente energética para el que consume regularmente este cereal. En los maíces estudiados el porcentaje oscila entre el 78 y 82 %, mientras que en el teocintle fue menor (59.7 %), puesto que como ya se dijo, su contenido de fibra fue muy alto.

Las diferencias observadas en la composición química de los diferentes maíces, puede atribuirse al tipo de semilla, clima y altura al cual fueron sembrados y la madurez de la semilla al momento de ser cosechada. Además de que la modificación de la calidad de la proteína en las variedades e híbridos QPM, pudiera influir en el contenido de otros nutrimentos como los lípidos, carbohidratos y fibra, los cuales son diferentes en los maíces QPM, en comparación a las razas criollas. Sin embargo, esto no es concluyente.

A pesar de contener un menor porcentaje de proteínas y lípidos, el teocintle podría ser una especie vegetal de potencial alimenticio, ya que su contenido proteico fue muy semejante a la de un maíz criollo sin embargo, no tiene un empleo tradicional como alimento en nuestro país, tal vez debido a la dureza del grano por su alto contenido en fibra dietaria total. Por otra parte, no existen estudios complementarios toxicológicos, los cuales darían información importante. Cabe señalar que este es el primer estudio documentado sobre esta especie vegetal milenaria.

1.7 Composición del garbanzo (leguminosa para suplementación)

En el análisis proximal de la leguminosa elegida para la suplementación (garbanzo, marca San Lázaro), destacó su alto porcentaje de proteína el cual fue de más del doble del encontrado en los maíces, como se esperaba. Su contenido de lípidos y fibra fue muy similar al de los maíces, pero su contenido de cenizas fue ligeramente mayor. Su porcentaje de carbohidratos fue menor al del maíz, debido al aumento de la cantidad de proteína en el grano. El proximal aquí determinado se aproxima al reportado por el INNSZ (1996).



2. FIBRA DIETARIA TOTAL (FDT)

En la Tabla 6 se expone el porcentaje de fibra dietaria encontrado en los maíces en estudio. Antes de continuar, cabe aclarar que en la determinación de fibra dietaria total, el porcentaje encontrado en las muestras fue mayor al de fibra cruda debido a que en ésta última, sólo se cuantifica la fibra insoluble; mientras que, en la primera se cuantifica como su nombre lo dice, tanto la fibra soluble como la insoluble. Por tanto, en alimentos con alto contenido de fibra soluble (como es el caso del maíz), siempre será importante cuantificar la FDT, puesto que si sólo se determinara fibra cruda, se estaría subestimando la cantidad real de fibra en el alimento.

Tabla 6. Contenido de Fibra Dietaria Total en teocintle, 10 diferentes maíces y garbanzo

Maíz	g/100 g muestra ¹
Teocintle	51.3 ± 0.23 ^g
Celaya	11.14 ± 0.27 ^{de}
Cónico Norteño	9.54 ± 0.06 ^b
Pepitilla	13.7 ± 0.14 ^f
Tuxpeño	10.7 ± 0.14 ^c
V-537 C	9.1 ± 0.35 ^a
V-556 AC	8.83 ± 0.04 ^a
H-519 C	11.5 ± 0.39 ^e
H-553 C	8.85 ± 0.06 ^a
Celaya x Tabloncillo	10.94 ± 0.34 ^{cd}
Mil granos	9.73 ± 0.17 ^b
Garbanzo	13.4 ± 0.46

1. Promedio de triplicado ± D. E.; C.V. < 5 %

Diferentes letras dentro de una misma columna indican diferencia estadística significativa ($p \leq 0.05$)

El análisis estadístico de la FDT reveló que hay diferencias significativas entre algunos tipos de maíz. La muestra que presentó el contenido más alto fue Pepitilla, con un 13.7%. Después de ella siguieron en contenido: H-519 C y Celaya con alrededor del 11 %. Cabe señalar que los porcentajes ya mencionados son muy cercanos al encontrado en la leguminosa, la cual también tuvo un 13 %, por lo que es interesante ver que un cereal y una leguminosa puedan presentar cantidades muy similares de este componente.



Las muestras con menor contenido de FDT, fueron la variedad 556 AC y el híbrido 553 C con un 8.8 %. Esto pudo deberse a la modificación genética sufrida para aumentar la calidad proteica, no obstante, algunos autores (FAO, 1993) han reportado que el contenido de FDT en este tipo de maíces suele aumentar porque aumenta en ellos el contenido de FD insoluble, hecho que no se observa aquí. Aún así un porcentaje de 8 % no es despreciable por lo que podrían usarse en la elaboración de productos con bajo contenido calórico u otros alimentos que ayuden a mantener el buen estado fisiológico de las personas que los consuman regularmente.

El contenido de FDT encontrado en el teocintle sobresalió una vez más con respecto a los encontrados en las demás muestras. Resultó interesante ver que del 59 % de FDT (Tabla 6), casi la mitad corresponde a fibra insoluble (27 %; Tabla 5) y el resto es a fibra soluble (24 %), hecho que no se aprecia en las muestras de maíz donde el porcentaje de fibra cruda fue mucho menor (2 %), al de FDT (aprox. 10 %). Esto refuerza una vez más la hipótesis de que el alto contenido de fibra en el grano de teocintle, (principalmente la insoluble), es la que le da la protección y resistencia al medio ambiente y al ataque de microorganismos.

También fue sorprendente descubrir que el porcentaje de FDT fuera muy cercano al encontrado de hidratos de carbono (59 %), esto parece indicar que casi todo lo que se cuantificó como hidratos de carbono asimilables corresponde a fibra dietaria soluble y sólo un 7.7 % corresponde a azúcares.

3. CALIDAD PROTEICA

Si bien es cierto que la composición química de los maíces y del teocintle en estudio es muy importante para poder establecer diferencias significativas en el contenido de macronutrientes, el análisis proximal no proporciona información acerca de la calidad proteica de los diferentes granos.

Como se mencionó anteriormente, la calidad nutricional de cualquier proteína está relacionada con su composición de aminoácidos, digestibilidad y capacidad de suministrar aminoácidos esenciales en las cantidades necesarias para las especies que consumen la proteína.



En este estudio se evaluó la calidad proteica de los diferentes maíces por métodos químicos, los cuales consistieron en la determinación del contenido de aminoácidos presentes en este nutrimento, con la posterior asignación de la calificación química de acuerdo a un patrón de aminoácidos definido por la FAO/OMS. Los resultados de estos análisis se discuten a continuación.

3.1 Perfil de aminoácidos

El total del contenido de aminoácidos de cada maíz, del teocintle y de la muestra de garbanzo se muestra en la Tabla 7. Diversas publicaciones (Del Ángel y Sotelo, 1987; Valdemiro *et al.* 1977; Zarkadas *et al.*, 1995 y 2000; Khalil *et al.*, 1984), han reportado el contenido de aminoácidos en diferentes muestras de maíz y han concluido que los niveles de lisina y triptofano en un maíz común son menores a los encontrados en un maíz QPM. Tomando como base esta información, en la Tabla 8 se presenta un comparativo del contenido de triptofano y lisina en las muestras, mediante un análisis estadístico para establecer diferencias significativas entre las semillas estudiadas.

Los aminoácidos no esenciales que se encontraron en mayor cantidad en los maíces QPM, al compararlos con las razas criollas son: aspártico, glicina, arginina y cistina; mientras que, los que se encontraron en menor cantidad fueron: ácido glutámico, alanina y tirosina.

Respecto a los aminoácidos esenciales, en los maíces QPM se distinguió un aumento en el contenido de histidina, valina, lisina y triptofano, y una disminución considerable e importante de leucina, en comparación con los maíces criollos. El decremento de este último aminoácido en los maíces es muy importante, ya que se ha visto que una elevada proporción de este aminoácido neutraliza la absorción de la niacina y está relacionado con la deficiencia de isoleucina (FAO, 1993). Las deficiencias de niacina en la dieta origina numerosas enfermedades, entre ellas, la más conocida es la pelagra, que afecta la piel, el aparato digestivo y al sistema nervioso y que puede ser mortal si no se trata adecuadamente. Esta enfermedad era muy común a principios del siglo cuando la población pobre de América, África y Europa basaba su alimentación



en el maíz. Por ello se recomienda combinar este cereal con verduras o leguminosas que puedan suplementarlo.

En la actualidad se cuenta con maíces QPM, en donde el contenido de leucina es menor al encontrado en un maíz común, y en donde la proporción de leucina/isoleucina está mejor balanceada, por lo que el riesgo de producir deficiencias de niacina y provocar la aparición de enfermedades como la pelagra disminuye cuando la alimentación se basa en estos maíces mejorados.

En general, el perfil de aminoácidos del teocintle fue diferente al de los maíces en estudio. Dentro de los aminoácidos no esenciales, se observó un aumento en la cantidad de aspártico, glutámico y alanina, y una disminución significativa en el contenido de glicina, arginina, prolina, cistina y tirosina, en comparación a los valores encontrados en las diferentes semillas de maíz.

Respecto a los aminoácidos esenciales, se observó que el contenido de histidina y treonina, disminuyó y el de leucina aumentó ligeramente en el grano de teocintle, mientras que el contenido de valina, metionina, isoleucina, fenilalanina y lisina se encontró dentro de los rangos hallados en los maíces comunes.



Tabla 7. Contenido de aminoácidos en 10 variedades de maíz, teocintle y garbanzo (g aminoácido/100 g proteína).

Aminoácido	Teocintle	Celaya	Cónico	Pepitilla	Tuxpeño	QPM V-537C	QPM V-556C	QPM H-519	QPM H-553	Celaya x Tabloncillo	Mil granos	Garbanzo
No esenciales												
Aspártico	6.68	5.59	5.84	5.25	5.82	7.15	7.95	8.72	8.49	5.84	5.86	9.88
Serina	4.34	4.18	4.19	4.69	4.68	4.05	3.09	4.30	3.91	4.24	4.68	4.43
Glutámico	21.84	18.34	18.33	17.59	18.78	15.79	14.60	17.27	15.40	16.40	16.80	14.53
Glicina	2.43	3.34	3.54	3.54	3.22	4.32	4.68	4.50	4.80	3.05	3.42	3.50
Arginina	3.65	5.63	5.35	5.63	5.44	7.06	7.33	7.09	6.83	6.51	6.37	10.18
Alanina	8.29	7.10	7.72	7.14	8.33	5.73	5.33	6.44	5.18	6.84	7.23	3.66
Prolina	7.81	9.26	9.47	8.30	10.63	9.31	9.05	10.21	8.73	8.26	8.50	3.93
Cistina	0.73	2.55	2.14	2.66	2.67	3.26	3.81	3.38	2.92	2.10	2.31	1.46
Tirosina	2.64	4.00	4.02	4.82	4.73	3.14	3.30	3.29	3.25	3.98	3.86	2.73
Esenciales												
Histidina	1.73	2.95	3.08	2.85	2.68	4.00	4.49	4.17	3.72	2.98	2.68	2.65
Treonina	2.82	3.26	3.32	3.57	3.78	3.66	3.81	3.93	3.45	3.09	3.19	3.53
Valina	4.29	4.93	5.12	4.21	4.85	5.31	5.42	5.62	4.89	4.69	4.53	4.24
Metionina	1.42	1.47	1.42	1.60	2.09	1.54	1.26	1.60	1.39	1.31	1.67	0.93
Isoleucina	3.17	3.42	3.66	2.95	3.23	3.22	3.05	3.07	2.83	3.29	3.06	3.94
Leucina	13.01	12.02	12.27	11.79	12.20	8.86	8.07	8.65	7.88	11.46	11.41	6.57
Fenilalanina	6.92	5.46	7.02	7.39	6.67	5.40	5.68	4.44	5.90	6.25	5.90	5.42
Lisina	2.04	2.49	2.81	2.70	2.80	5.13	5.10	4.77	5.37	2.90	2.71	6.75

i. Cada valor es el promedio de un triplicado; C.V. < 5 %



Pese a que al igual que en los maíces, el contenido de lisina en el teocintle fue deficiente, la cantidad de triptofano encontrado en él (1.16 g/100 g proteína), sorprendió y rompió con lo esperado pues fue incluso mayor a la encontrada en las variedades e híbridos QPM. Aunque pareciera que la calidad proteica del teocintle es mejor que la de los maíces criollos (pues en teoría cubriría mejor el requerimiento de este aminoácido en el organismo que lo consumiera), se tendría que hacer un estudio de digestibilidad para determinar que tan biodisponibles están los aminoácidos, en especial éste, ya que el alto contenido de fibra en el grano, puede disminuir su calidad proteica.

La variación en el contenido de ciertos aminoácidos en las semillas QPM en comparación con las razas criollas, reveló que las primeras proporcionan un mejor balance y cantidad de aminoácidos esenciales, principalmente de lisina y triptofano, donde hubo un aumento significativo en el contenido de estos. (Tabla 8).

Tabla 8. Contenido de triptofano y lisina en teocintle, 10 variedades de maíz y garbanzo (g/100 g proteína)¹

Variedad	Triptofano	Lisina
Teocintle	1.16 ± 9.16 ^h	2.04 ± 0.06 ^a
Celaya	0.39 ± 0.67 ^b	2.49 ± 0.012 ^b
Cónico Norteño	0.42 ± 10.80 ^c	2.81 ± 0.09 ^d
Pepitilla	0.46 ± 4.11 ^d	2.70 ± 0.107 ^c
Tuxpeño	0.42 ± 6.00 ^c	2.80 ± 0.015 ^{cd}
V -537 C	0.60 ± 8.46 ^g	5.13 ± 0.13 ^g
V-556 AC	0.58 ± 4.60 ^f	5.10 ± 0.07 ^g
H-519 C	0.60 ± 8.24 ^g	4.77 ± 0.002 ^f
H-553 C	0.56 ± 6.79 ^e	5.37 ± 0.20 ^h
Celaya x Tabloncillo	0.42 ± 13.10 ^c	2.93 ± 0.03 ^e
Mil granos	0.33 ± 3.54 ^a	2.71 ± 0.08 ^{cd}
Garbanzo	0.54 ± 8.0	6.75 ± 0.003

1. Promedio de triplicado ± D. E., C.V. < 5 %

Diferentes letras dentro de una misma columna indican diferencia estadística significativa ($p \leq 0.05$)

Estudios previos (Del Ángel y Sotelo, 1987; Zarkadas *et al*, 1995 y 2000) han revelado que el incremento de estos dos aminoácidos es el principal responsable de que el



valor nutritivo de los QPM sea superior al de los maíces comunes, en donde estos se encuentran en cantidades deficientes.

Los resultados de la Tabla 8 demostraron que el contenido de lisina y triptofano, en los maíces criollos, difiere significativamente con el encontrado en los maíces QPM. La cantidad de triptofano cuantificado en las razas criollas: Celaya, Cónico Norteño, Pepitilla, Tuxpeño, Celaya x Tabloncillo y Mil granos, fue cercana a las reportadas por los autores antes mencionados para otros maíces comunes, en donde el contenido fue bajo (0.2 a 0.4 g/100 g proteína). No obstante, al cotejar los niveles de triptofano encontrado en las semillas QPM, con los reportados en publicaciones (Zarkadas *et al*, 1995 y 2000; Mendoza-Elos *et al*, 2006; Arévalo, 1979; Valdemiro *et al*, 1977; Del Ángel y Sotelo, 1987) para otras variedades QPM y maíz opaco-2, se aprecia que difieren un poco y son inferiores a los ahí reportados, donde el contenido de triptofano oscila entre 0.6 a 0.9 g /100 g proteína.

Existen publicaciones realizadas por investigadores del INIFAP (Sierra, 2001, 2003 y 2004; Gómez, 2003), donde reportan para los maíces mejorados aquí estudiados, contienen alrededor del 9 % de proteína, con porcentajes promedio de 0.9 y 4.3 % de triptofano y lisina, respectivamente. La discrepancia entre los valores de triptofano encontrados en este estudio, con el ya mencionado, se debió principalmente a la metodología utilizada para su hidrólisis y cuantificación. En el INIFAP, la digestión de la proteína la realizan mediante una hidrólisis enzimática con papaína (lo cual puede hacer más eficiente el proceso), y la cuantificación la llevan a cabo con un método colorimétrico, que podría ser no tan exacto y confiable (Vivek *et al*, 2008). En este estudio la hidrólisis se realizó con una hidrólisis alcalina, la cual no es tan específica y las condiciones son un poco drásticas mientras que, la determinación se llevó a cabo por CLAR, donde la cuantificación es más exacta, y no hay tantas interferencias que hagan sobreestimar el valor real.

Otros factores que pudieron haber influido en esta diferencia de valores, son: el clima y altura sobre el nivel del mar, la semilla usada para la siembra, el cuidado y control de que los cultivos no se contaminaran con semillas de cultivos cercanos, la temporada en la que se realizó la cosecha y la madurez del maíz al momento de la misma.



Por otro lado, es importante señalar que el contenido de lisina encontrado en los maíces QPM aquí estudiados (4.77-5.37 g /100 g proteína), fue mayor a los reportados en otras publicaciones (Sierra, 2001, 2003 y 2004; Gómez, 2003), en donde el nivel máximo de este aminoácido fue 4.8 g lisina/100 g de proteína.

Los valores anteriores indican que la calidad de la proteína no está en función de la cantidad encontrada en el grano puesto que, el porcentaje de proteína encontrado en las variedades e híbridos QPM, fue de los intermedio e incluso de los más bajos de todos los maíces estudiados, como es el caso del H-519 C, cuyo porcentaje fue de 8.52. Hay que recordar que la designación de QPM no se refiere al incremento en el porcentaje de proteína en el maíz, sino al incremento en el contenido de aminoácidos esenciales en la misma, principalmente lisina y triptofano, los cuales son deficientes en un maíz común, por ello, para poder evaluar la calidad de una proteína, es muy importante realizar la determinación del contenido de aminoácidos, concretamente el de los esenciales.

Por último, el perfil de aminoácidos del garbanzo reveló que tiene un mayor contenido de lisina y triptofano en comparación con un maíz, lo cual es congruente con la literatura pues se sabe que las leguminosas contienen cantidades importantes de ellos y justamente por esa razón son empleadas para suplementar la deficiencia de estos aminoácidos en los cereales. Por otro lado, los aminoácidos deficientes en esta leguminosa fueron metionina y cistina, los cuales se encuentran en mayores cantidades en los cereales. Con lo anteriormente expuesto, se puede ver claramente que al mezclar de estos dos alimentos (maíz y garbanzo), las deficiencias en estos serán suplementadas parcial o totalmente, dependiendo de la proporción en que se haga y cuál sea la óptima.

3.2 Calificación química

Una vez que se obtuvo el perfil de aminoácidos esenciales de cada semilla, se realizó el cálculo de calificación química (Tabla 9).



El incremento de triptofano y lisina en la proteína de los maíces QPM fue significativo e importante pues al ser comparado con los requerimientos de aminoácidos establecidos por la FAO/OMS, se observó que ésta, cubre de manera más completa dichos requerimientos. Así, la calificación química de los maíces QPM fue mayor a la de los maíces criollos, como se muestra en la Tabla 9.

Tabla 9. Calificación química del teocintle, 10 semillas de maíz y garbanzo

Semilla	Calificación Química	Aminoácido limitante
Teocintle	35.2	Lisina
Celaya	35.7	Triptofano
Cónico	38.4	Triptofano
Pepitilla	41.1	Triptofano
Tuxpeño	37.7	Triptofano
V- 537 C	54.4	Triptofano
V- 556 AC	52.5	Triptofano
H- 519 C	54.4	Triptofano
H- 553 C	50.5	Triptofano
Celaya x Tabloncillo	38.4	Triptofano
Mil granos	29.6	Triptofano
Garbanzo	49.4	Triptofano

De acuerdo a esta tabla, las calificaciones químicas más bajas correspondieron a las razas criollas y van de 29.6 (raza Mil granos) hasta 41.1 (raza Pepitilla); mientras que, como era de esperarse, las más altas pertenecieron a los maíces QPM, con calificaciones de entre 50.5 (H-553 C) y 54.4 (V-537 C y H-519 C). En todas las muestras de maíz el aminoácido limitante fue el triptófano.

Pese a que al parecer el contenido de triptofano no aumentó grandemente en los maíces mejorados cabe observar y señalar que el *score* en los QPM's fue mayor al de las razas criollas, precisamente debido al aumento en el contenido de este aminoácido en su proteína.



Por otro lado, aún cuando se observó un aumento en la calificación química en estos maíces mejorados, al comparar su *score* con el reportado por Zarkadas y *col.* (1995 y 2000) en otras variedades QPM cultivados en Canadá, se apreció que la calificación química en estos últimas fue mayor (58-79%), puesto que el contenido de triptofano encontrado por estos autores fue mayor (0.7-0.9 %) al encontrado en los maíces QPM aquí estudiados.

La calificación química del teocintle fue semejante a las razas Celaya y Tuxpeño, sin embargo, a diferencia de estos, el aminoácido limitante en su proteína fue la lisina debido a su alto contenido de triptofano.

Por otro lado, la calificación química de la leguminosa fue cercana a la de los maíces QPM, esto debido a que su contenido de lisina y triptofano no fue tan bajo como el encontrado en un maíz común. Aunque el aminoácido limitante en la proteína de esta leguminosa fue también el triptófano, su contenido de lisina y triptófano confirma que el garbanzo es una buena fuente de estos aminoácidos, por lo que puede ser utilizado en la suplementación de cualquier cereal, en específico, en el maíz común.

3.3 Ensayos biológicos

Si bien es cierto que el aumentar la calidad proteica de diversos tipos de maíz ha sido uno de los logros más importantes de los últimos años (maíz QPM), antes de que se diera este descubrimiento y avance tan trascendental, la técnica más empleada para aumentar la calidad proteica de un cereal, era y sigue siendo, la combinación de éste con leguminosas para obtener una complementación de los aminoácidos lisina y triptofano, puesto que estos aminoácidos están presentes en cantidades importantes en las leguminosas.

Numerosas publicaciones han demostrado que la suplementación de un maíz común con una leguminosa en ciertas proporciones resulta en un aumento en la calidad proteica de la mezcla, sin embargo, no se sabe si este mismo efecto ocurre en un maíz QPM en donde de por sí la calidad de la proteína ya esta aumentada por el incremento en el contenido de lisina y triptofano. Al respecto, podrían surgir dos



hipótesis, la primera es que la suplementación de un QPM, sea todavía mayor a la que pudiera alcanzar un maíz común presentando diferencia significativa, o bien, la segunda es que la suplementación del QPM sea igual o incluso menor que la del criollo, debido a que se ha alcanzado la mezcla óptima de aminoácidos y ya no importa un exceso de estos, o peor aún, que el exceso de estos diluya el contenido de otros aminoácidos esenciales, disminuyendo así la calidad proteica de la mezcla suplementada.

Como no existen estudios al respecto y no se sabe qué tan conveniente es la suplementación de un maíz QPM, ni los beneficios que esto pudiera traer en la alimentación de quien los consume, se decidió evaluar y comparar la suplementación con una leguminosa, de maíces QPM contra maíces criollos, mediante ensayos biológicos en ratas.

Entre las leguminosas más usadas para el estudio de la suplementación de un cereal se encuentran el frijol, la soya y el garbanzo. De estas tres quizás la más noble es el garbanzo pues es la que tiene más bajo contenido de factores antinutricionales (que pueden afectar la disponibilidad de la proteína y por tanto, influir en la evaluación del aumento de la calidad proteica debido a la suplementación), además de ser de las leguminosas de mayor valor nutricional (Sotelo *et al*, 1980 y 1987). Por estas razones, se eligió esta especie para realizar la evaluación de la suplementación de cuatro tipos de maíz de los 10 estudiados.

Para hacer la suplementación se eligieron dos maíces QPM y dos razas criollas, en donde el contenido de triptofano y lisina fuera de alto a intermedio o de bajo a intermedio, respectivamente. Las semillas elegidas fueron: V-537 C, V-556 AC, Celaya x Tabloncillo y Mil granos.

Una vez seleccionadas las semillas de maíz a utilizar en los ensayos biológicos, se elaboraron dietas simples (que tienen al maíz como única fuente de proteína), y dietas suplementadas maíz:garbanzo en una proporción 50:50, al 9 % de proteína. Las razones de trabajar con esta proporción son dos: 1) en un estudio realizado por Del Ángel y Sotelo (1982) donde se evaluaron mezclas de trigo, maíz común y maíz



opaco, con garbanzo en distintas proporciones, se encontró que para el maíz común y los opacos, la razón que presentó el *score químico* y valor de la REP más alto fue la de 50:50 de 10% de proteína y, 2) dado que no se cuenta con más información de estudios previos parecidos o relacionados al aquí propuesto, es conveniente empezar la suplementación en proporciones maíz:garbanzo intermedios.

Puesto que en los maíces QPM el contenido de triptofano y lisina fue mayor al de las variedades criollas y del resto en general, se esperaba que existiera diferencia significativa entre los valores de los bioensayos REP y RNP de las dietas de maíz QPM (simples y suplementadas) y los obtenidos para las dietas de los maíces criollos.

Los valores obtenidos de la REP, RNP y digestibilidad verdadera (DV) y el análisis estadístico de los mismos, para las mezclas de maíz simples y suplementadas se exponen en la Tabla 10.

Tabla 10. Valores de la REP, RNP y DV ajustados para las dietas simples y suplementadas de las variedades criollas y QPM seleccionadas.

Dieta	REP	RNP	DV
Celaya x Tabloncillo	1.24 ± 0.15 ^a	2.74 ± 0.16 ^a	86.1 ± 4.0 ^c
Celaya x Tabloncillo: Garbanzo	1.51 ± 0.16 ^b	3.01 ± 0.13 ^b	78.3 ± 2.1 ^{ab}
Mil granos	1.56 ± 0.08 ^b	2.99 ± 0.13 ^b	79.9 ± 4.2 ^{ab}
Mil granos: Garbanzo	1.72 ± 0.05 ^c	3.01 ± 0.05 ^b	78.1 ± 0.9 ^{ab}
V- 537 C	1.85 ± 0.08 ^{cd}	3.48 ± 0.18 ^c	80.7 ± 5.2 ^{ab}
V- 537 C: Garbanzo	1.94 ± 0.1 ^d	3.49 ± 0.12 ^c	76.4 ± 7.1 ^a
V- 556 AC	1.94 ± 0.06 ^d	3.46 ± 0.11 ^c	82.7 ± 3.8 ^{bc}
V- 556 AC: Garbanzo	1.77 ± 0.08 ^c	3.38 ± 0.22 ^c	76.2 ± 3.2 ^a

1. Promedio de cuadruplicado ± D. E., C.V. < 12 %

Diferentes letras dentro de una misma columna indican diferencia estadística significativa (p≤0.05)

Los valores de la REP variaron entre 1.24 a 1.94 y los de la RNP entre 2.74 y 3.49 (Tabla 10). Los valores de la REP y DV obtenidos, son similares a los reportados por Del Ángel y Sotelo (1982) y Valdemiro (1977) para un maíz común y opaco-2, sin embargo no se cuenta con datos reportados para maíces QPM.



Los valores de la REP y RNP demostraron que el valor nutritivo de los 4 maíces examinados fue inferior en comparación con la proteína control (caseína), cuyos valores fueron de 3.01 y 4.1 respectivamente. Pese a esto, puede verse que en general, los valores de la REP y la RNP en las dietas de maíz QPM fueron superiores a los obtenidos con las dietas de maíces criollos.

El análisis estadístico de la REP indica que existe diferencia significativa entre la dieta simple de maíz, Celaya x Tabloncillo y su suplementada. El aumento del valor de la REP en la dieta suplementada indica que la combinación de estas dos fuentes de proteína incrementó la calidad proteica de la mezcla. Esta hipótesis se confirmó con el valor de la RNP, el cual también presentó diferencia significativa entre ambas dietas, siendo mayor en la suplementada. No obstante, un factor que condiciona la utilización de las proteínas por el organismo, es la digestibilidad. Así, aunque una proteína sea de alta calidad, si su digestibilidad no es buena, no servirá de mucho pues los aminoácidos no estarán disponibles para ser absorbidos y aprovechados por el organismo. Esto es justamente lo que se observa entre las dietas Celaya x Tabloncillo simple y su suplementada, donde la digestibilidad en la dieta sin suplementar fue mayor a la suplementada, lo que habla de una mayor disponibilidad de aminoácidos en el maíz solo.

De acuerdo a la tabla 10, hubo diferencia significativa entre los valores de la REP de la dieta de maíz criollo Mil granos y su suplementada, pero no en los valores de la RNP y la digestibilidad verdadera (DV) respectivos. Esto puede indicar que el aumento en la calidad fue muy leve y por tanto no resultó ser significativo. A pesar de ello el análisis estadístico revela algo muy interesante y es que el valor de la REP de la dieta suplementada de este maíz no fue diferente al obtenido por la dieta de maíz QPM V-537. Este hecho sugiere que la suplementación de un maíz criollo puede incrementar la calidad proteica a niveles casi equiparables a la de un maíz QPM.

En relación a las dietas de maíz QPM, se observa que entre el maíz V-537 C y su dieta suplementada no hubo diferencia significativa en los parámetros evaluados, REP y RNP. También se aprecia que el porcentaje de digestibilidad en la dieta suplementada, disminuyó ligeramente aunque el cambio no fue estadísticamente



significativo. En cambio, para el maíz V-556 AC, sí hubo diferencia significativa para la REP y la digestibilidad, siendo menores los valores de estos parámetros en la dieta suplementada. Aunque de acuerdo a la RNP, no hubo diferencia significativa entre las dietas con este maíz, la disminución de los valores de REP y digestibilidad en la dieta suplementada puede hablar de una “dilución” (por así decirlo) y disminución en la disponibilidad de los aminoácidos esenciales. Si así fuera, la suplementación de maíces QPM no sería recomendable puesto que se disminuiría su calidad proteica.

Esta afirmación tiene reservas puesto que hay que recordar que aquí sólo se evaluó la suplementación de estas semillas a una sola proporción (50:50) sin embargo, esta pudo no haber sido la más adecuada o recomendable, pudiéndose obtener resultados más satisfactorios en la suplementación si se hubiera realizado en otras proporciones. Lo recomendable sería que se probaran otros niveles de suplementación con el fin de descubrir cuál sería el óptimo para ambos tipos de maíces (común y mejorado).

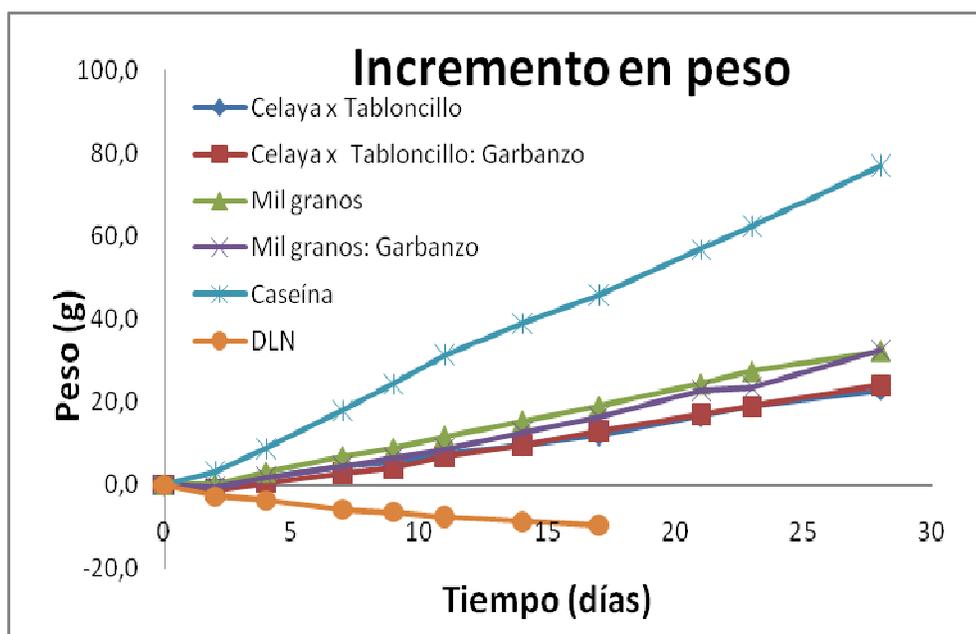


Figura 14. Incremento en peso del lote de animales alimentados con 4 diferentes dietas de maíz criollo, un control de caseína y una Dieta libre de Nitrógeno (primera parte del bioensayo)

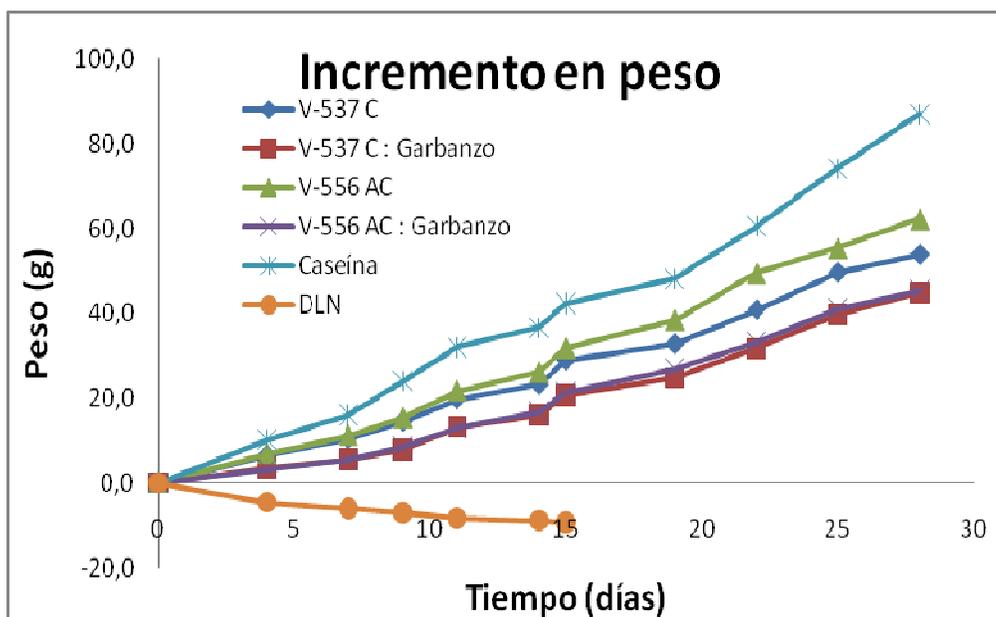


Figura 15. Incremento en peso del lote de animales alimentados con 4 diferentes dietas de maíz QPM, un control de caseína y una Dieta libre de Nitrógeno (primera parte del bioensayo)

En la Figura 14 se observa claramente que pese a que la suplementación de los maíces criollos aumentó la calidad proteica de la mezcla, este incremento no influyó en gran medida en el crecimiento de los animales, puesto que el aumento de peso de las ratas alimentadas con las dietas simples fue muy similar al obtenido con las dietas suplementadas, obteniendo un aumento desde 22 hasta 32 g. En esta misma gráfica también se puede apreciar la superioridad de la calidad proteica de la caseína, puesto que el incremento de peso obtenido por este lote de animales fue de más del doble del obtenido con las dietas de maíz (77 g).

Al comparar la Figura 15 con la 14, se observó claramente que el incremento de peso en las ratas alimentadas con las dietas de maíz QPM, fue del doble del obtenido por las ratas alimentadas con las semillas de maíz criollo, obteniendo un incremento de peso desde 46 g hasta 62 g. Este aumento de peso se acercó mucho más al observado en los animales alimentados con la dieta control de caseína (87 g), lo cual indica que hubo un aumento significativo en la calidad proteica de estos maíces en comparación con los maíces criollos, pues su proteína fue mejor aprovechada por las ratas para su desarrollo y crecimiento.



Por último, en la gráfica 15 se observó otro hecho interesante y fue que las ratas alimentadas con las dietas suplementadas presentaron un menor crecimiento (44-45 g) que aquellas que fueron alimentadas con las dietas de maíz simples (54-62 g), lo cual sugiere que la suplementación de un maíz QPM, puede no ser tan conveniente pues al parecer la calidad proteica de la mezcla disminuye tal vez por un efecto de dilución o bien debido a una disminución en su digestibilidad como se observó en la Tabla 10.

RESUMEN DE RESULTADOS

La composición química de un maíz QPM fue muy semejante a la de un maíz criollo, sin embargo, la composición del teocintle sí difirió significativamente con la de cualquier maíz; puesto que su contenido proteico fue ligeramente más bajo que el del resto de maíces estudiados; su proporción de lípidos e hidratos de carbono fue significativamente menor y el porcentaje de cenizas fue mayor en virtud de la gran cantidad de fibra insoluble que contiene. La calificación química de los maíces QPM, fue superior a la de los maíces criollos debido al incremento en su contenido de lisina y triptófano, mientras que la del teocintle fue semejante a la de un maíz común.

Se observó diferencia significativa entre la calidad proteica de los maíces criollos y QPM, siendo mayor en las semillas mejoradas. Para la proporción de maíz: leguminosa probada, sí hubo diferencia significativa en la calidad proteica entre las dietas simples de los maíces criollos Celaya x Tabloncillo y Mil granos y sus suplementadas, así como entre las suplementadas de cada uno de estos maíces. Pese a que no se observaron diferencias significativas en la calidad proteica entre las dietas de maíz QPM simples y sus suplementadas, en la curva de crecimiento (Fig. 15) se observó que hubo un menor incremento en peso en las ratas alimentadas con las dietas suplementadas, sugiriendo no ser tan conveniente la suplementación de estos maíces, pues la utilización y/o aprovechamiento de su proteína disminuye. Por último, sí hubo diferencias significativas entre las dietas de maíz QPM simples y suplementadas y las dietas de los maíces criollos y sus suplementadas, no obstante, al parecer la suplementación de un maíz común con una leguminosa casi logra alcanzar la misma calidad proteica que tiene un maíz mejorado (QPM).



CONCLUSIONES

- Debido a su gran diversidad genética, la composición química de los maíces estudiados en este trabajo no fue la misma, pero sí muy semejante entre sí.
- De acuerdo a los resultados obtenidos, se concluye que la composición química del teocintle es significativamente diferente a la de un maíz.
- El contenido de proteína de un maíz de alta calidad proteica (QPM) resultó muy similar al de un maíz común (alrededor del 9 %). Su alta calidad proteica se debió al incremento del contenido de lisina y triptofano en su proteína, debido a las mejoras genéticas implementadas y no al incremento de este nutrimento en el grano.
- La cantidad de fibra dietaria total encontrada en todos los maíces estudiados es considerable (9-13 %), por lo que el maíz es una fuente importante de fibra para la población mexicana, donde el consumo de este cereal es muy alto.
- El perfil de aminoácidos del teocintle resultó diferente al de un maíz. Dentro de los aminoácidos no esenciales, la cantidad de aspártico, glutámico y alanina, fue mayor en comparación con la de un maíz común mientras que, la de glicina, arginina, prolina, cistina y tirosina fue menor. Dentro del grupo de los aminoácidos esenciales, destacó el alto contenido de triptofano y leucina sin embargo, histidina y treonina, disminuyeron mientras que, el contenido de valina, metionina, isoleucina, fenilalanina y lisina fue similar a la cantidad encontrada en los maíces comunes.
- La composición de aminoácidos de los maíces QPM resultó diferente de la de las razas criollas, observándose un aumento en su contenido de aminoácidos no esenciales: aspártico, glicina, arginina y cistina es mayor, mientras que el del ácido glutámico, alanina y tirosina fue menor en comparación a éstas.
- En los maíces QPM se observó un aumento significativo en el contenido de los aminoácidos esenciales: histidina, valina, lisina y triptofano, y una disminución considerable de leucina, en comparación con los maíces criollos.



- El incremento de la cantidad de triptofano y lisina en el maíz QPM hace que su calidad proteica sea mayor a la de un maíz criollo. La calificación química de los maíces criollos varió de 29 a 41.1 %, mientras que la de los maíces QPM estuvo entre 50.5 y 54.4%.

- La suplementación de un maíz común con una leguminosa elevó la calidad proteínica de la mezcla, sin embargo, ésta no superó la calidad proteica de un maíz QPM.

- La suplementación de una maíz QPM con garbanzo en una proporción 50:50, no mejoró la calidad proteica de la mezcla. Sin embargo, la calidad proteica de un maíz QPM suplementado sí fue significativamente mayor a la de un maíz criollo sin suplementar y suplementado.



PERSPECTIVAS

- Es importante caracterizar a las diferentes razas criollas, híbridos e híbridos y variedades QPM existentes en nuestro país ya que sólo con esa información será posible definir su mejor utilización en las industria molinera-tortillera, almidonera o aceitera, así como en la producción de harinas nixtamalizadas, cereales y botanas.
- Debido a que la producción de estos maíces se destina a la elaboración de diferentes alimentos, para completar este estudio se recomienda: 1) realizar la cuantificación de almidón total, disponible y resistente en cada semilla, puesto que es un polisacárido que imparte propiedades reológicas importantes en los productos alimenticios y, 2) estudiar su calidad nixtamalera con el fin de darles el uso adecuado de acuerdo a sus propiedades intrínsecas.



BIBLIOGRAFÍA

AACC. (2003). En: Memorias del Curso Internacional "Almidón y Fibra Dietética: Química, Tecnología y Biodisponibilidad". Bello, L. A. P (Orgo), Yautepec. 102 p.

Allen, M. D. F. (1993). Nutrition and health, ingredient analysis table feedstuffs reference issue. Edit. Scheid J. and Muirhead. 65:24-35.

Anderson, J. W., Jones, A. E., Riddell-Mason, S. (1994). Ten different dietary fibers have significantly different effects on serum and liver lipids of cholesterol-fed rats. *J. Nutr.* 124: 78-83.

AOAC. 1995. Official Methods of Analysis of AOAC International, 16th Edition, Vol II, Section 45.4.07, Method 985.29.

AOAC. (2000). Official methods of analysis of AOAC International, Hoewitz, W. Ed., 17^a ed., Vol II (45.3.04), Gasthersburg.

Arévalo L., Ruiz, M., Ferreira, S., Riveros, G. 1979. Valoración de lisina y triptofano en diferentes variedades de maíz normal y opaco-2. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas.* 3 (3): 37-63.

Badui, S. (2006). Química de los Alimentos. Ed. PEARSON Addison Wesley. 4a. Edición. México, D. F. pp. 205-209.

Barrera, V. D. (2003). Efecto de dos tipos de fibra dietética en la excreción de lípidos y en los niveles plasmáticos de colesterol y triglicéridos en ratas. Tesis de Licenciatura. UNAM. México, D. F. pp. 9-15.

Bender, A., Doell B. (1957). Biological evaluation of protein: a new aspect. *Brit. J. Nutr.* 11: 140-147.

Bidlingmeyer, B. A., Cohen, S. A., Tarvin, T. L. 1984. Rapid Analysis of Amino Acids using Pre Column Derivatization. *J. Chromtogr.* 336: 93-104.



Bressani, R., Mertz, E. T. (1958). Studies on corn protein. IV. Protein and amino acid content of different corn varieties. *Cereal Chem.* 35: 227-235.

Bressani, R., Benavides, V., Acevedo, E., Ortiz, M. A. 1990. Changes in selected nutrient contents and in protein quality of common and quality-protein maize during rural tortilla preparation. *Cereal Chem.* 67 (6): 515-518.

Bressani, R. (1994). Opaque 2 corn in human nutrition and utilization. En: Quality protein maize. Proc of the international symposium on quality protein maize. Embrapa/CNPMS, Sete Lago.

Carreón, O. E. (2005). Contenido de fibra dietética y almidón resistente en cereales, leguminosas y tubérculos. Tesis de Licenciatura. UNAM. México, D. F. 120 p.

CIMMYT. (2001). The quality protein maize revolution. Improved nutrition and livelihoods for the poor. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (México, D. F. 7 p.

Cohen, S., Michaud, D. 1993. Synthesis of a Fluorescent Derivatizing Reagent, 6-Aminoquinolyl-N-Hydroxysuccinimidyl Carbamate, and its Application for the Analysis of Hydrolyzate Amino Acids Via High-Performance Liquid Chromatography. *Analytical Biochem.* 211: 271-287.

Del Angel, A. R., Sotelo, A. 1982. Nutritive value of mixtures using chickpea with wheat, triticale, normal and opaque 2 corns. *J Nutr* 112: 1474–1480.

Dendy, D. A. V., Dobraszczyk, B. J. (2001). Cereales y productos derivados. Química y Tecnología. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza, España. p. 389-395.

Domínguez, L. (2007). Una reserva para el maíz. *Zea diploperennis* y los teosintes. *Revista Matria*. Suplemento de La Jornada de Oriente. No. 4. Art. 8. (Consulta: 13-10-08; 4.30 pm). Disponible en:

<http://www.lajornadadeoriente.com.mx/2007/05/16/puebla/matria0507.pdf>



Espinosa, C. A., Gómez, N., Sierra, M., Betanzos, E., Caballero, F., Coutiño, B., Palafox, A., Rodríguez, F., García, A., Cano, O. (2003). Tecnología y producción de semillas de híbridos y variedades sobresalientes de maíz de calidad proteínica (QPM) en México. *Agronomía Mesoamericana*. 14(2): 223-228.

Espinosa, C.A., Gómez, N., Sierra, M., Caballero, F., Coutiño, B., Palafox, A., Rodríguez, F., García, A., Cano, O. y Betanzos, E. (2005). Los Maíces de calidad proteínica y la producción de semillas en México. *Ciencia y Desarrollo en Internet*. No. 184. (Consulta: 09-08-2007; 12:01 pm). Disponible en:
<http://www.conacyt.mx/Comunicacion/Revista/ArticulosCompletos/pdf/Maiz.pdf>

FAO. (1993). El Maíz en la nutrición humana. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia. Cap. 1, 2, 6, 7, 8.

FAO. (2001). EL MAÍZ EN LOS TRÓPICOS. Mejoramiento y producción. Organización de las Naciones Unidad para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia. Cap. 1, 3, 4, 6, 13, 14, 15.

FAO/OMS/ONU. 1985. Necesidades de energía y de proteínas. Informe de una reunión consultiva conjunta de expertos. Serie de Informes Técnicos 724, OMS.

FAO/WHO. (1990). Protein quality evaluation. Report of a joint FAO/WHO Expert Consultation, Rome.

Flores, N. I. (2003). Evaluación nutricional y toxicológica del ejote de colorín (*Erythrina americana*) después de ser sometido a un proceso de cocción. Tesis de Licenciatura. UNAM. México, D. F. pp. 25-30.

Gómez, N., Sierra, M., Cantú, M. A., Rodríguez, F. A., Manjarrez, M., González, M., Espinosa, A., Betanzos, E., Córdova, H., Caballero, F., Turrent, A., García, A., Ramírez, G., Sandoval, A., Coutiño, B., Cervantes, E., Reyes, C., Nava, L. (2003). V-537 C y V-538 C. Nuevas variedades de Maíz con alta calidad de proteína para el Trópico mexicano. *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 26 (3): 213-214.



Goodman, M. N., Brown, W. L. (1988). Races of Corn In: G. F. Sprague and Dudley (eds.). Corn and Corn Improvement. ASSA Monograph 18. ASA, Madison, Wisconsin. p. 33-79.

Hernández, E. (1985). Biología Agrícola. Los conocimientos biológicos y su aplicación a la agricultura. Compañía Editorial Continental, S. A. de C. V. México. 62 p.

Hernández, E. (1987). Xolocotzia. Revista de Geografía Agrícola. Tomo II. Universidad Autónoma de Chapingo, México. p. 609-732.

INNSZ. 1996. Tablas de composición de alimentos. Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán. México, D. F.

Kato, Y. A. (1976). Cytological studies of maize (*Zea mays* L) and teosinte (*Zea mexicana* Scharader Kuntze) in relation to their origin and evolution. Uni. Mass. Agric. Expt. Sta. Bull. 635 p.

Khalil, J. K., Chughtai M. I. D. 1984. Nutritional evaluation of wheat and maize breads supplemented with a mixture of peanut-chickpea flour. *Qual Plant Plant Foods Hum. Nutr.* 34: 285-296.

López y Parra R. (1908). El teozinte. Origen del maíz. Secretaría de Fomento. México.

Lucas, B., Sotelo, A. 1980. Effect of different alkalies, temperature and hydrolysis times on tryptophan determination of pure proteins and of foods. *Analytical Biochemistry*, 109. p. 192-197.

Martínez, A. I., Martínez, Y. 2009. Composición química y calidad nutricia de diez variedades de maíz. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. UNAM. México. 82 p.

Mauricio, R. A. (2001). Caracterización Físicoquímica, Térmica y Eléctrica de razas mexicanas de maíz y evaluación de sus posibles usos en la Industria Alimentaria. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Querétaro. Qro. 42 p.



Méndez-Motalvo, G., Solorza, F. J., Vázquez, V. M., Gómez, M. N., Paredes, L. O., Bello, L. A. (2005). Composición química y caracterización calorimétrica de híbridos y variedades cultivadas en México. *Agrociencia*. 39(3): 267-274.

Mendoza-Elos, M., Andrio-Enríquez, E., Juárez-Goriz, J.M., Mosqueda-Villagómez, C., Latournerie-Moreno, L., Castañón-Najera, G., López Benítez, A., Moreno-Martínez, E. 2006. Contenido de lisina y triptofano en genotipos de maíz de alta calidad proteica y normal. *Universidad y Ciencia*. 22 (2):153-161.

Mertz, E. T., Bates, L. S., Nelson, O. F. (1964). Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. *Science*. 145: 279-280.

Mertz, E. T., Jambunathan, R., Villegas, E., Bauer, R., Kies, C., McGinnis, J., Shenk, J. S. (1975). Use of small animals for evaluation of protein quality in cereals. En High-quality-protein maize,, CIMMYT-Purdue International Symposium on Protein Quality in Maize, 1972, El Batán, México, p. 306-329.

Mitchell, H., Block, E. J. (1946). Some Relationships between the Amino Acid Contents of Proteins and their Nutritive Value for the Rat. *J. Biol. Chem*. 163:599 – 620.

Muller, H. G., Tobin G. (1985). Nutrición y ciencia de los alimentos. Editorial Acribia, Zaragoza, España. p. 109- 141.

Muziani, V. (2005). El maíz: el cereal olvidado. Disponible en: www.nutrar.com. (Consulta: 28-10-2008, 12:02 am).

Oropeza, E., Ortiz, L. 1989. Evaluación nutricional de la proteína del grano de seis cultivares de maíz. *Rev. Fac. Agron*. 15: 225- 234.

Ortega, A., Cota, O., Vasal, S. K., Villegas, E., Córdova, H., Barrera, M. A., Wong, J. J., Reyes, C. A., Preciado, R. E., Terrón, A., Espinosa, A. (2001). H-441 C, H-442 C y H-469 C, Híbridos de maíz de calidad proteínica mejorada para el noroeste y



subtrópico de México. INIFAP, CIRNO, Campo experimental Valle del Yaqui. Folleto Técnico No. 41. Cd. Obregón, Sonora. 44 p.

Osborne, T. B. and Mendel, B. (1914). Nutritive properties of the maize kernel. *J. Biol. Chem.* 18:1-16.

Osborne, T. B., Mendel, L. B., Ferry, E. L. (1919). A method of expressing numerically the growth-promoting values of proteins. *J. Biol. Chem.* 37: 223.

Pellet, P.L., Young, V. R. (1980). Nutritional evaluation of proteins foods. The United Nations University, Tokio. p. 1-5, 103-117.

Pons, J. L. (2008). INIFAP Campo experimental del Bajío y Rodríguez, F. Campo experimental Cotaxtla, Veracruz.

Prasanna, B. M., Vasal, S. K., Kassahun, B., Singh, N.N. (2001). Quality Protein maize. *Current Sci.* 81(10): 1308-1319.

Primo, E. (1998). Química de Alimentos. Síntesis. Zaragoza, España. pp. 16-37.

Ramos, M. (2008). Contenido de fibra dietética total y almidón resistente en diferentes variedades de maíz crudos y cocidos. Tesis de Licenciatura. UNAM. México, D. F. 66 p.

Reyes, C. P. (1990). El Maíz y su cultivo. AGT Editor. Primera edición. México. 640 p.

Robinson, D. S. (1991). Bioquímica y valor nutritivo de los alimentos. Editorial Acribia, S. A. Zaragoza, España. p. 109-141.

Robinson, R., Sadler, M. 1993. Encyclopedia of Food Science and Nutrition. Wiley-Interscience Publication. U. S. A. Vol. 6. pp. 3801, 3806-3808, 3820-3826.

Rodríguez, F. A. (2008). INIFAP Campo experimental Cotaxtla, Veracruz.



Rojas, J. I. (2008). Relación del grado de fijación del calcio con la calidad de la proteína para maíz QPM H-368 sometido a un tratamiento térmico alcalino. Tesis doctoral. UNAM. México, D.F. 122 p.

Romero, C. J. 2003. Validación de un método para cuantificar aminoácidos en cereales y leguminosas por HPLC. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. UNAM. México. p. 20-23, 29-31, 35-44, 67-69, 156-163.

Sánchez, J.J. y Ordaz, L. (1987). Systematic and Ecogeographic Studies on Crop Genepools: 2. El Teocintle en México. Distribución y situación actual de las poblaciones. IBPGR, Rome. (Consulta: 09-08-2007; 10:51 am). Disponible en: http://www.biodiversityinternational.org/publications/Web_version/266/begin.htm#Contents

Sánchez, J.J., Kato, T. A., Aguilar, M., Hernández, J.M., López, A., Ruiz, J.A. (1998). Distribución y caracterización del teocintle. INIFAP. Libro Técnico No. 2. 149 p.

Sierra, M., Gómez, N., Rodríguez, F. A., Córdoba, H., Espinosa, A., Turrent, A., Avelaño, R., Palafox, A. (1999 a). H-519 C Híbrido trilineal de maíz con alta calidad de proteína para el Trópico mexicano. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Golfo Centro. Desplegable Técnica No. 3. México.

Sierra, M., Gómez, N., Rodríguez, F. A., Betanzos, E., Córdoba, H., Turrent, A., Espinosa, A., Avelaño, R., Caballero, F. (1999 b). H-553 C Híbrido trilineal de maíz con alta calidad de proteína para el Trópico mexicano. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Golfo Centro. Desplegable Técnica No. 2. México.

Sierra, M., Gómez, N., Rodríguez, F. A., Espinosa, A., Córdoba, H., Turrent, A., Avelaño, r., Sandoval, A., González, M. (1999 c). V-537 C Nueva variedad de maíz con alta calidad de proteína para el Trópico mexicano. Instituto Nacional de



Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Golfo Centro. Desplegable Técnica No. 1. México.

Sierra M., Palafox, A., Cano, O., Rodríguez, F. A., Espinosa, A., Turrent, A., Gómez, N., Córdova, H., Vergara, N., Aveldaño, R., Sandoval, J. A., Barrón, S., Romero, J., Caballero, F., González, M., Betanzos, E. (2001). Descripción varietal de H-519 C, H-553 C y V-537 C, maíces con alta calidad de proteína para el Trópico Húmedo de México. INIFAP, CIRGOC, Campo Experimental Cotaxtla, Folleto Técnico No. 30, Veracruz, Veracruz, 21 p.

Sierra, M., Palafox, A., Cano, O., Rodríguez, F., Espinosa, A., Turrent, A., Gómez, N., Córdova, H., Vergara, N., Aveldaño, R., Sandoval, J. A., Barrón, S., Romero, J., Caballero, F., González, M., Betanzos, E. (2003). H-519 C Híbrido de Maíz de calidad proteínica para el trópico húmedo de México. *Agric. Téc. Méx.* Vol. 29 (1): 81-84.

Sierra, M., Palafox, A., Cano, O., Rodríguez, F. A., Espinosa, A., Turrent, A., Gómez, N., Córdova, H., Vergara, N., Aveldaño, R., Sandoval, J. A., Barrón, S., Romero, J., Caballero, F., González, M., Betanzos, E. (2004). H-553C, híbrido de maíz de calidad proteínica para el trópico húmedo de México. *Fitotecnia Mexicana*. 27(1): 117-119.

Sotelo, A., Lucas, B., Uvalle, A., Giral, F. (1980). Chemical composition and toxic factors content of sixteen leguminous sedes. *Quart. J. Crude Drug Res.* 18:9-16.

Sotelo, A., Flores, F., Hernández, M. (1987). Chemical composition and nutritional value of Mexican varieties of chickpea (*Cicer arietinum* L). *Plants Foods for Human Nutrition*. 37:299-306.

Strydom, D., Cohen, S. 1994. Comparison of amino acid analyses by phenylisothiocyanate and 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate pre column derivatization. *Anal. Biochem.* 222: 19-28.



Valdemiro, S., da Silva, W. J., Antunes, P. L., Amaya-F, J. 1977. Chemical composition and nutritional properties of a sugary-1/opaque-2 (su1/o2) variety of maize (*Zea mays* L.). *J Agric Food Chem.* 25(5):1098-1101.

Vasal, S. K P., Villegas, E., Bjarnason, M., Gelaw, B., Goerts, P. (1980). Genetic Modifiers and Breeding Strategies in Developing Hard Endosperm Opaque-2 materials. In: Pollmer, W.G., and R. H. Phipps (editors). *Improvement of Quality Traits of Maize for Grain and Silage Use.* Martinus Mijhoff Publishers. Amsterdam, Holland. Pp: 37-73.

Vasal, S. K. (2001). High quality protein corn. Cap. 8. En: Specialty Corns. Ed. Hallauer, A. R. CRC Press. Boca Raton, FL USA. 85-129.

Vázquez, M. G., Guzmán, L., Andrés, J. L., Márquez, F., Castillo, J. (2003). Calidad de grano y tortillas de maíces criollos y sus retrocruzas. *Rev. Fitotec.* Vol. 26 (4): 231-238.

Velásquez, G. (2006). *Fundamentos de alimentación saludable.* Editorial Universidad de Antioquia. pp. 90-92.

Vivek, B. S., Krivanek, A. F., Palacios-Rojas, N., Twumasi-Afriyie, S., Diallo, A. O. 2008. *Mejoramiento de maíz con calidad de proteína (QPM): Protocolos para generar variedades QPM.* México, D.F. CIMMYT.

Watson, S. A. (1987). Structure and composition. En S.A. Watson y P.E. Ramstad. eds. *Corn: chemistry and technology.* St Paul, EE.UU., *Am. Assoc. Cereal Chem.* pp. 53-82.

Watson, S. A. (1987 b). Measurement and maintenance of quality. In: *Cor Chemistry and Technology.* Watson S. A. and P. E. Ramstad (ed). *Am. Assoc. Cereal Chem.* St Paul, MN. pp.125-183.

Wellhausen, E. J., Roberts, L. M., Hernández, X. E. (1951). *Races of Maize in México: Their Origin, Characteristics and Distribution.* 1ra. Edition. The Bussey Institution of Harvard University. pp. 23-44.



Wilkes, H. G. (1967). Teosinte: the closest relative of maize. Bussey Inst. Harvard Univ. 159 p.

Williams, S. 1989. Official Methods of Analysis of Association Official Analytical Chemists, AOAC, Washington D. D., Métodos: 14.004, 7.009, 7.063, 7.074, 2.055.

Yust, M., Predroche, J., Giron-Calle, J., Vioque, J., Millán, F., Alaiz, M. 2004. Determination of tryptophan by high performance liquid chromatography of alkaline hydrolysates with spectrometric detection Analytical Nutritional and Clinical Methods Section. Food Chemistry, 85. p. 317-320.

Zarkadas, C. G., Yu, Z., Hamilton, R. I., Pattison, P. L., Rose, N. G. W. 1995. Comparison between the protein quality of Northern adapted cultivars of common maize and quality protein maize. *J. Agric. Food Chem.* 43: 84-93.

Zarkadas, C. G., Hamilton, R. I., Yu, Z. R., Choi, V. K., Khanizadeh, S., Rose, N. G. W., Pattison, P. L. 2000. Assessment of the protein quality of 15 New Northern adapted cultivars of quality protein maize using amino acid analysis. *J. Agric. Food Chem.* 48: 5351-5361.



ANEXOS. MATERIALES Y MÉTODOS

I. **Determinación de humedad analítica.** AOAC, 14.004, 1989

Material

- Estufa de vacío Lab-Line Duo Vac Oven Mod. 3620
- Balanza analítica Sartorius analytic
- Charolas de aluminio
- Desecador de vidrio

Procedimiento

Las charolas de aluminio se colocaron en la estufa de vacío hasta alcanzar el peso constante. Posteriormente, se pesaron en ellas aproximadamente 3 g de muestra y se introdujeron en la estufa de vacío a las siguientes condiciones: Presión no menor a 15 mm Hg y temperatura de 60-65 °C.

La muestra se secó por espacio de 2 h, después de este tiempo se retiró de la estufa y se dejó enfriar en un desecador de vidrio. La charola con la muestra fue pesada tan pronto como se equilibró con la temperatura ambiente (aproximadamente 30 min). Este procedimiento se repitió hasta alcanzar peso constante.

Cálculos

Contenido de humedad = peso_{muestra húmeda} – peso_{muestra seca}

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{contenido de humedad (g)}}{\text{peso muestra húmeda (g)}} \times 100$$

II. **Determinación de grasa cruda.** AOAC, 7.063, 1989

Material y reactivos

- Aparato de extracción Goldfish Labconco Mod. 35001-00CV
- Porta dedales de vidrio



- Anillos metálicos para extracción Goldfish
- Vasos de borde esmerilado, Labconco 35051
- Cartuchos de celulosa de 22 x 80 mm
- Tubos recuperadores de disolvente
- Balanza analítica Sartorius analytic
- Estufa de vacío Lab-Line Duo Vac Oven Mod. 3620
- Bomba de recirculación Little Grant pump Mod. 1
- Éter de petróleo

Procedimiento

Los vasos esmerilados se introdujeron en la estufa de vacío hasta alcanzar peso constante.

Se pesó aproximadamente 2 g de muestra en cada cartucho de celulosa, tapando la entrada inmediatamente después con un trozo de algodón. A continuación, los cartuchos se introdujeron en los porta dedales de vidrio y se colocaron en el compartimiento de extracción de Goldfish.

En los vasos esmerilados se añadieron 40 mL de éter de petróleo y con ayuda del anillo metálico se colocaron en el aparato de extracción, el cual estaba conectado a una bomba de recirculación de agua helada.

Finalmente se subieron las parrillas de calentamiento del equipo, se abrió la llave del agua para que ésta circulara sobre los refrigerantes y se trabajó con el control de calentamiento en la posición de LOW durante 2 horas. Después de este tiempo se bajaron las parrillas de calentamiento y se verificó la completa extracción de la grasa, para ello dejar caer una gota de la descarga sobre un trozo de papel filtro; al evaporarse el éter no debe dejar residuo de grasa.

Un vez finalizada la extracción, se sacaron los porta dedales y se sustituyeron por los tubos recuperadores de disolvente. Se volvieron a colocar los vasos esmerilados y subieron nuevamente las parrillas para iniciar el calentamiento. Cuando los vasos se encontraron casi libres de disolvente, se retiraron del equipo y fueron colocados por



unos minutos en una campana de extracción, para asegurar la completa evaporación del disolvente. Posteriormente, los vasos fueron conservados en la estufa de vacío hasta alcanzar peso constante.

Cálculos

Cantidad de grasa = peso_(vaso + grasa) – peso_{vaso}

$$\% \text{ Grasa} = \frac{\text{cantidad de grasa (g)}}{\text{peso muestra (g)}} \times 100$$

III. **Determinación de proteína total por el método de MicroKjeldahl.** AOAC, 2.055, Con modificaciones, 1989.

Material y reactivos

- Digestor TECATOR Mod. a-b, 20/40
- Balanza analítica Sartorius analytic
- Equipo de microdestilación: Kjeltex Auto Analyzer Tecator Mod. 1030
- Tubos de digestión de 75 mL, TECATOR
- Mezcla digestiva (Disolver 3 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en 20 mL de agua destilada, añadir 50 mL de H_3PO_4 y ya disuelta la sal, adicionar 430 mL de H_2SO_4 concentrado. Agitar por 30 min.)
- Peróxido de hidrógeno al 30 %
- Sulfato de potasio (R.A.)
- Solución de NaOH al 40 % (p/v)
- Solución de ácido bórico al 1 % con indicadores (Pesar 20 g de ácido bórico y disolver en 1.8 L de agua destilada. Anadir 20 mL de verde de bromocresol (al 0.1 % en metanol) y 14 mL de rojo de metilo (al 0.1 % en metanol). Agitar vigorosamente y llevar al aforo con agua destilada a un volumen de 2 L. De ser necesario ajustar con NaOH 0.1 N hasta que el color sea de un tono rojo grisáceo.)
- Solución de HCl 0.01 N valorada



Procedimiento

Se pesaron aproximadamente 100 mg de muestra en un trozo de papel calca, se depositaron dentro de un tubo de digestión y se añadieron 0.5 g de sulfato de potasio y 3 mL de mezcla digestiva. Los tubos así preparados se colocaron en el digestor a 340 °C durante 15 minutos. Después de este tiempo, se retiraron del digestor, se dejaron enfriar a temperatura ambiente por 10 minutos y se les añadió 1.5 mL de H₂O₂ al 30 %. A continuación, se colocaron nuevamente en el digestor a 370 °C hasta la total destrucción de la materia orgánica, es decir, hasta que la mezcla fuese transparente y de color azul verdosa.

Una vez realizada la digestión, se dejaron enfriar los tubos y se destilaron recibiendo el amoniaco liberado en ácido bórico con indicadores. Finalmente, los destilados fueron valorados con HCl 0.01 N.

El objetivo de modificar la mezcla digestiva y utilizar peróxido de hidrógeno es lograr la completa oxidación de la materia orgánica y reducir la pérdida de nitrógeno por formación de aminas volátiles o nitrógeno libre, favoreciendo la formación de sulfato de amonio. Se realizó el mismo tratamiento con caseína (88.88% de proteína) para corregir el valor obtenido. Paralelamente se corre un experimento utilizando un blanco de dextrosa para corregir el probable error de lectura que pudiera aportar el papel calca.

Cálculos

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{(M - B) \times N \times meq}{m} \times 100$$

$$\% \text{ Proteína} = \% \text{ nitrógeno} \times F$$

Donde:

M = mL de reactivo de titulación de la muestra

B = mL de reactivo de titulación del blanco

N = Normalidad del la solución de HCl



meq = miliequivalentes de nitrógeno (0.014)

m = peso de la muestra en gramos

F = factor de conversión de proteína que en el caso del residuo se empleó el valor de 6.25.

IV. **Determinación de cenizas.** AOAC, 7.009, 1989

Material

- Mufla Heraew Hanau
- Balanza analítica Sartorius analytic
- Mechero Bunsen
- Campana de extracción
- Crisoles de porcelana
- Desecador de vidrio

Procedimiento

Los crisoles se colocaron en la mufla a una temperatura de 500 °C hasta alcanzar peso constante. Se pesaron 3 g de muestra en cada uno de ellos y se calcinaron a fuego directo en la flama de un mechero, dentro de la campana de extracción hasta que el desprendimiento de humo fue nulo o mínimo. Posteriormente, los crisoles se introdujeron en la mufla por 3 horas a una temperatura constante de 500 °C.

Transcurrido el tiempo se dejaron enfriar en un desecador por 45 minutos y se pesaron. Posteriormente, se volvieron a introducir en la mufla y se realizaron pesadas periódicas hasta alcanzar el peso constante. Si después de la incineración se obtienen cenizas no homogéneas (con manchas negras), es conveniente adicionar a las cenizas frías unas gotas de agua destilada y volver a calcinar en la mufla hasta conseguir cenizas blancas o ligeramente grises, homogéneas.

Cálculos

$$\text{Cantidad de ceniza} = \text{peso}_{(\text{crisol} + \text{ceniza})} - \text{peso}_{\text{crisol}}$$



$$\% \text{ Cenizas} = \frac{\text{cantidad de ceniza (g)}}{\text{peso muestra (g)}} \times 100$$

V. **Determinación de fibra cruda.** AOAC, 7.074, 1989

Material y reactivos

- Aparato de digestión Labconco
- Vasos de Berzelius de 600 mL, Kimax
- Balanza analítica Sartorius analytic
- Mufla Heraew Hanau
- Mechero Bunsen
- Estufa de vacío Lab-Line Duo Vac Oven Mod. 3620
- Crisoles de porcelana
- Matraces de vidrio Kitasato, Kimax
- Embudos Buchner con alargadera
- Silicato de aluminio
- Filtro de lino
- Solución de H₂SO₄ al 1.25 % (m/v)
- Solución de NaOH al 1.25 % (m/v)
- Solución antiespumante
- Alcohol etílico

Procedimiento

Se pesaron 3 g de muestra desengrasada (obtenida en la determinación de grasa cruda), en un vaso Berzelius que contenía 0.5 g de de silicato de aluminio y unas perlas de ebullición.

A continuación, se adicionaron 100 mL de H₂SO₄ al 1.25 % (m/v) hirviendo, así como unas gotas de antiespumante para controlar la ebullición. Los vasos se colocaron inmediatamente en el aparato de digestión previamente calentado y se dejó digerir la muestra por exactamente 30 minutos. Al término de este tiempo se vació el contenido sobre un embudo california con filtro de lino y se filtró con ayuda de vacío, lavando el residuo con agua (destilada) caliente hasta eliminar el ácido (aproximadamente 500 mL).



Una vez lavado el residuo se transfirió nuevamente al vaso Berzelius de forma cuantitativa y se adicionaron 100 mL de NaOH al 1.25% (m/v) hirviendo y unas gotas de antiespumante. Se dejó digerir por 30 minutos exactos y transcurrido el tiempo, se vertió nuevamente el contenido de cada vaso sobre el embudo con filtro de lino y se filtró al vacío, lavando el residuo con agua destilada caliente (aprox. 500 mL), hasta eliminar el álcali. Las perlas de ebullición se lavaron ahí mismo para recuperar el material adherido y retirarlas del residuo. Finalmente se agregaron 12.5 mL de alcohol etílico.

El residuo se transfirió a un crisol de porcelana a peso constante y se colocó en la estufa de vacío para su secado hasta que alcanzó peso constante.

Posteriormente, se carbonizó el residuo seco en la flama de un mechero y se introdujo en la mufla para su incineración. Los crisoles fueron pesados periódicamente hasta que alcanzaron peso constante.

Cálculos

$$\% \text{ Fibra cruda} = \frac{\text{peso}_{\text{crisol con residuo seco}} (g) - \text{peso}_{\text{crisol+cenizas}} (g)}{\text{peso muestra} (g)} \times 100$$

VI. Hidratos de carbono digeribles

El porcentaje de hidratos de carbono se calculó por diferencias restando al 100 % la suma de los porcentajes de humedad, grasa cruda, proteína cruda, cenizas y fibra.

Cálculos

$$\text{HC} = 100 - (\% \text{ humedad} + \% \text{ grasa cruda} + \% \text{ proteína} + \% \text{ fibra cruda} + \% \text{ cenizas})$$

**VII. Fibra dietaria total.** AOAC, 1995*Material y reactivos*

- Crisol Gooch de porosidad # 2 (grueso 40-60 micrones)
- Estufa de vacío Lab-Line Duo Vac Oven Mod. 3620
- Desecador
- Mufla Heraew Hanau
- Baño de agua hirviendo
- Baño de agua a 60 °C con agitación constante
- Vasos de precipitados de 100 mL de forma alta
- Balanza analítica Sartorius analytic
- Potenciómetro CORNING Mod. 10: Estandarizado a pH 4.0 y pH 7.0
- Matraces Kitasato de 500 mL
- Alargadera de hule para crisol Gooch
- Barras magnéticas 22 x 8 mm
- Pipeta automática de 50-200 μ L
- Termómetro (-10 a 100 °C)
- Acetona Q. P.
- Etanol al 96 %
- Etanol al 78 %
- Etanol al 41 %.
- Amortiguador de fosfatos, 0.08 M, pH 6.0. Disolver 1.4 g de Na_2HPO_4 , anhidro y 8.4 g de NaH_2PO_4 anhidro en aproximadamente 700 mL de agua. Diluir sin llevar a aforo con agua. Verificar el pH y ajustar si es necesario con NaOH o H_3PO_4 ; aforar a un litro y mezclar.
- Solución de hidróxido de sodio, 0.275 N.
- Solución de Ácido clorhídrico, 0.325 N. Kit Total Dietary Fiber Assay (SIGMA TDF-100A). Este equipo contiene los reactivos:
 - ∞ - Amilasa, estable al calor (10mL); (Sigma A 3306)
 - Proteasa de *Bacillus licheniformis* (500mg); (Sigma P 3910)
 - Amiloglucosidasa de *Aspergillus niger* (10mL); (Sigma A 9913)
 - Celita TM, lavada con ácido (50g); (Sigma C 8656)



Procedimiento

Correr un blanco de reactivos junto con las muestras a lo largo de todo el procedimiento para corregir cualquier contribución de proteína o cenizas (proveniente de los reactivos o de la muestra) al residuo. La determinación de fibra dietética tanto para las muestras como para el blanco, debe realizarse al menos por cuadruplicado para tener duplicados tanto para la determinación de proteína y como para la determinación de cenizas, y con esto, corregir el peso del residuo en caso de ser necesario.

Preparación de los crisoles: Los crisoles fueron lavados hasta asegurarse que estuvieran bien limpios (de ser necesario colocarlos en la mufla una hora para eliminar probables residuos). A cada crisol se les agregó 0.5 g de celita y posteriormente, fueron introducidos en la estufa para su secado a 130 °C por aproximadamente dos horas. Cumplido el tiempo, se dejaron enfriar en desecador y pesaron. Este procedimiento se repitió hasta tener 0.1 mg de diferencia entre pesadas. Los crisoles fueron conservados en desecador hasta ser utilizados.

Este peso fue registrado como “Peso del crisol + celita (**P₁**)”.

Preparación de la muestra:

Las muestras secas y desengrasadas fueron molidas en un molino de cuchillas con una malla de 0.3-0.5 mm y conservadas en un desecador hasta la realización del análisis.

NOTA:

-Si el contenido de grasa de la muestra es mayor al 10%, desengrasar con éter de petróleo siguiendo el procedimiento de la AOAC anteriormente descrito.

-Si es necesario, secar la muestra durante la noche en una estufa con corriente de aire a 105 °C (55 °C en estufa de vacío).

Determinación de fibra dietética



Hidrólisis enzimática

Se pesaron cuatro muestras de 0.5 g de cada material por analizar y se colocaron en vasos de precipitado de 100 mL de forma alta. NOTA: Los pesos de las muestras entre sí, no deben tener una diferencia mayor de 20 mg.

A cada vaso se agregaron 25 mL de amortiguador de fosfatos pH 6.0 y 0.05 mL de α -Amilasa (Sigma A 3306); después de esto, los vasos fueron agitados manualmente para mezclar muy bien su contenido. Los vasos cubiertos con papel aluminio, se colocaron en un baño de agua hirviendo y se incubaron por 15 minutos después de que la temperatura dentro de los vasos alcanzó 95 °C, agitándolos suavemente a intervalos de 5 minutos.

Transcurrido el tiempo, se dejaron enfriar las soluciones a temperatura ambiente y el pH fue ajustado a 7.5 ± 0.2 agregando inicialmente 5 mL de solución de hidróxido de sodio 0.275N a cada vaso. Se verificó el pH y si fue necesario, se ajustó con NaOH o con HCl.

Una vez ajustado el pH, se preparó una solución de proteasa (Sigma P3910) de 25 mg/mL con amortiguador de fosfatos pH 6.0, inmediatamente antes de ser utilizada. Se pipetearon 0.1 mL (2.5 mg de proteasa) dentro de cada vaso y se cubrieron nuevamente con papel aluminio. Se introdujeron en un baño de agua con agitación continua a 60 °C y se incubaron por 30 minutos, después de que la temperatura en las soluciones alcanzó 60 °C.

Se dejaron enfriar las soluciones a temperatura ambiente y se les ajustó el pH entre 4.0 y 4.6 agregando aproximadamente 5 mL de HCl 0.325 N a cada vaso. Se verificó el pH y si fue necesario, se ajustó con NaOH o con HCl.

Ajustado el pH, se añadieron 0.05 mL de amiloglucosidasa (Sigma A9913) a cada vaso, se cubrieron con papel aluminio y se colocaron nuevamente en el baño de agua con agitación continua a 60 °C. Se incubaron por 30 minutos después de que la temperatura en las soluciones alcanzó los 60 °C.



Transcurrido el tiempo, se agregaron 125 mL de etanol al 41 %* y se dejó el residuo en la solución durante toda la noche a temperatura ambiente para permitir la precipitación completa de la fibra dietética soluble.

*En el caso de muestras que se conoce que tienen mucha fibra dietética soluble se modifica la técnica y se adiciona etanol al 96 %.

Filtración

Se montó un sistema de filtración al vacío para cada crisol Gooch. Se humedeció y se redistribuyó la cama de Celita aplicada con anterioridad en cada crisol usando etanol al 78 %. Se aplicó succión suave por medio de vacío para atraer la Celita al filtro y formar una superficie lisa. Posteriormente, los precipitados de la muestra fueron pasados cuantitativamente a su respectivo crisol, a través del sistema de filtración, manteniendo la succión suave.

Cada residuo se lavó con tres porciones de 10 mL de etanol al 78 %, dos porciones de 5 mL de etanol al 96 % y dos porciones de 5 mL de acetona. Los crisoles con residuo fueron secados durante la noche en una estufa con aire a 105 °C o en estufa con vacío a 70 °C.

Los crisoles fueron enfriados en un desecador, y posteriormente pesados, anotando hasta la cuarta cifra decimal. Este peso se registró como “Residuo + celita + peso del crisol o P_2 ”.

Determinación de cenizas

Se calcinaron dos crisoles de cada muestra y dos del blanco por 5 horas a 450 °C hasta peso constante. Se dejaron enfriar en desecador y se pesaron hasta la cuarta cifra decimal. Este peso se registró como “Cenizas + celita + peso del Crisol. o P_3 ”.

Cuando los residuos presentaron cenizas, se calculó el peso promedio de éstas y con este valor se corrigió el peso del residuo.

Determinación de Proteína

Se recuperó, con ayuda de una espátula, el residuo + celita de los dos crisoles restantes de cada muestra y del blanco, se pesaron y registraron como peso “Residuo



+ celita o P_4 ". El residuo se molió en un mortero y se pesaron 100 mg de este polvo por duplicado para hacer la determinación de proteína por el método de Kjeldahl, como se especificó en el procedimiento del AOAC descrito anteriormente. Con este dato, calculó el contenido de proteína en el residuo de cada crisol, usando el factor de 6.25. Si los residuos contuvieron proteína, se calculó el peso promedio y con este valor se corrigió el peso del residuo.

Cálculos

Contenido de cenizas en el residuo de cada crisol

$$C = P_3 - P_1$$

Donde:

C = g de cenizas en el crisol

P_1 = Celita + peso del crisol

P_3 = Cenizas + Celita + peso del crisol

Contenido de proteína en el residuo de cada crisol

$$N = \frac{(V_m - V_b) \times meq \times N_{HCl} \times M}{m}$$

$$P = N \times F$$

Donde:

N = g de nitrógeno en el residuo + celita o (P_4)

P = g de proteína en el residuo + celita o (P_4)

V_m = Volumen de HCl gastado en la titulación de la muestra

V_b = Volumen de HCl gastado en la titulación del blanco

meq = Miliequivalentes del N (Peso molecular/1000 = 0.014)

N_{HCl} = Normalidad de la solución valorada de HCl

M = Peso del residuo + celita o " P_4 "

m = g de muestra (residuo + celita) utilizada en la determinación de proteína



F = Factor de conversión a proteína (6.25)

Contenido de fibra dietética total

$$\%FDT = \frac{(R - P - C - B)}{pm} \times 100$$

Donde:

B = R blanco – P blanco – C blanco

FDT = fibra dietética total

R = peso del residuo que corresponde a la definición de $P_2 - P_1$ (mg)

P = peso promedio de proteína en el crisol (mg)

C = peso promedio de cenizas en el crisol (mg) o ($P_3 - P_1$)

pm = peso de la muestra (mg)

VIII. Cuantificación de aminoácidos por CLAR de fase reversa, previa

hidrólisis con HCl 6 N a reflujo. Romero, 2003; Bidlingmeyer *et al*, 1984; Cohen *et al*, 1993; Strydom y

Cohen, 1994

Materiales y reactivos

- Digestor TECATOR Mod. a-b, 20/40
- Balanza analítica Sartorius analytic
- Potenciómetro CORNING Mod. 10
- Rotavapor BUCHI modelo R
- Sistema CLAR (o HPLC, por sus siglas en inglés), Agilent Technology, Mod. 1100
- Horno y unidad de control de temperatura modelo 111, WATERS
- Columna cromatográfica AccQ Tag Nova Pack C_{18} tamaño de partícula 4 μm , de 3.9 mm x 150 mm, WATERS
- Parrilla de calentamiento, Stirrer/Hot Plate CORNING, con baño de agua a 55 °C
- Sistema de filtración a vacío y filtros de 0.45 (tipo HA) y 0.22 (tipo (GV) μm de tamaño de poro, MILLIPORE



- Vórtex Lab-Line Mod. 1290 super mixer
- Tubos de cultivo de pared gruesa con tapón de rosca y cubierta de teflón, PYREX
- Matraces bola de 100 mL
- Matraces aforados de 25 mL
- Matraces de vidrio Kitasato, Kimax
- Embudos Buchner con alargadera
- Vasos de precipitados de 25 mL
- Pipetas Pasteur
- Jeringas de 10 mL
- Agitadores magnéticos
- Acrodiscos de nylon, 0.2 μm de tamaño de poro y 13 mm de diámetro, GELMAN
- Papel WHATMAN 542
- Micro pipeta y puntas con capacidad de 50- 200 μL , FINNPIPETTE
- Micro pipeta y puntas con capacidad de 200- 1000 μL , FINNPIPETTE
- Micro pipeta y puntas con capacidad de 5- 50 μL , FINNPIPETTE
- Agua purificada: destilada y desionizada^a
- Acetonitrilo grado HPLC, JT-BAKER
- Solución lavadora (Agua:Etanol 3:1, v/v con 0.01 % de hidroquinona como antioxidante)
- Nitrógeno gaseoso de alta pureza (99.997%), INFRA
- HCl 6 N, 0.1 % de fenol
- NaOH 5 N
- Norleucina 5 mM- HCl 10 mM
- Estándar de aminoácidos H: 2.5 mM, Cistina: 1.25 mM, PIERCE
- Acetonitrilo (AccQ Fluor reagent diluent, vial 2B), 6-aminoquinolil-N-hidroxisuccinimidilcarbamato (AccQ Fluor reagent, vial 2A) y Buffer de boratos (AccQ Fluor Borate Buffer, reactivo 1), WATERS^b
- AccQ Tag concentrado A (buffer acuoso de acetatos y fosfatos) WATERS
- Viales Agilent

^a Utilizar agua destilada y desionizada pasada por un filtro de 0.22 μm o agua purificada de 18 Mohm de resistividad.

^b AccQ Fluor Reagent Kit de WATERS



Procedimiento

Hidrólisis de la muestra

Se pesó un tubo de vidrio con tapón de rosca y cubierta de teflón la cantidad de muestra desengrasada de acuerdo al contenido de proteína ($g_{\text{muestra}} = 0.05 \times 100 / \% \text{ proteína}$). A continuación, se adicionó 25 mL de HCl 6N, 0.1 % fenol y se burbujeó un poco de nitrógeno dentro del tubo con el fin de crear una atmósfera inerte. Cada tubo con muestra a hidrolizar se mantuvo en el digestor por 4 horas a 145 °C.

Transcurrido el tiempo, se dejó enfriar los tubos hasta alcanzar temperatura ambiente. El contenido del tubo se transvasó en un matraz bola de 100 mL, enjuagando el tubo con la mínima cantidad posible de solución lavadora. Se adicionaron después 5 mL de norleucina 5 mM- HCl 10 mM y llevó a casi sequedad en el rotavapor (70-75 °C), para eliminar el exceso de HCl.

Se retiró el matraz bola del rotavapor y se añadió solución lavadora para resuspender los sólidos (alrededor de 5 mL). Posteriormente, se filtró el hidrolizado con ayuda de vacío a través de papel WHATMAN 542, recibiendo el filtrado en un vaso de precipitados de 25 mL. Se continuó lavando el matraz con pequeñas cantidades de solución lavadora hasta asegurarse de haber transvasado todo el hidrolizado. Se ajustó el pH a 6.8 ± 0.2 con NaOH 5 N y se aforó a 25 mL con agua destilada.

Los hidrolizados se transvasaron en frascos de plástico, donde se les burbujeó nitrógeno y fueron conservados en congelación hasta su inyección.

- *Preparación de las muestras para su inyección en el cromatógrafo de líquidos*

Con ayuda de una jeringa se purificó la muestra, inyectándola a través de un acrodisco de nylon de 0.2 μm de tamaño de poro, desechando las 5 primeras gotas y recuperando el resto en un tubo eppendorf o un vial.



Derivatización del estándar de aminoácidos y de los hidrolizados de la muestra

- *Reconstitución de AQC*

Se precalentó la parrilla con baño de agua a 55 °C. Una vez que todo el reactivo de derivatización AQC (vial 2A) se encontró en la parte inferior del vial, se enjuagó la punta de una micro pipeta tomando 1000 µL del reactivo de dilución de AQC (vial 2B) y desechándolos para volver a tomar el mismo volumen y transferirlo al vial 2A y reconstituir el reactivo de derivatización AQC. Una vez añadido el reactivo de dilución, el vial 2A fue cerrado herméticamente y agitado (con vórtex) por 10 s. Para facilitar la disolución, el vial fue calentado (no más de 10 minutos) en la parrilla hasta la completa disolución del reactivo de derivatización AQC. El reactivo se almacenó en refrigeración cuando no fue utilizado, cuidando de exponerlo lo menos posible a la humedad del ambiente para evitar su degradación.

- *Preparación de un estándar de aminoácidos*

Se mezclaron 80 µL de la solución stock de aminoácidos (2.5 mM) con 20 µL de norleucina 5 mM-HCl 10 mM y 900 µL de agua purificada para obtener un estándar de 16 aminoácidos (Asp, Ser, Glu, Gly, Hys, Arg, Thr, Ala, Pro, Tyr, Val, Met, Lys, Ile, Leu y Phe) de concentración 0.2 mM; cistina, 0.1 mM y norleucina 0.1 mM (como estándar interno).

- *Derivatización de aminoácidos*

En un vial para CLAR se depositaron 10 µL del estándar de aminoácidos (procurando que la punta de la pipeta no tocará las paredes del vial) y 80 µL del buffer de boratos (vial 2B). El contenido del vial se mezcló en un vórtex por 10 s y a continuación, se añadieron 10 µL del reactivo de derivatización ya reconstituido (vial 2A) y el contenido del vial se agitó nuevamente en el vórtex durante un minuto (tiempo durante el cual se lleva a cabo la reacción y se hidroliza el exceso de AQC). Se selló la tapa del vial con parafilm y se introdujo en el baño de agua a 55 °C durante 10 minutos.

La derivatización de los hidrolizados se realizó siguiendo el mismo procedimiento. Una vez obtenidos los derivatizados, se inyectaron en el sistema cromatográfico como se describe a continuación.



Análisis cromatográfico

- *Preparación de la fase móvil*

Buffer de acetatos-ácido fosfórico (fase A), pH 5.02 ± 0.02 .

Se diluyeron 100 mL de concentrado A (AccQ Tag concentrado A) hasta 1000 mL con agua purificada utilizando un matraz volumétrico de 1000 mL. La fase fue pasada a través de un sistema de filtración a vacío con un filtro de tamaño de poro de $0.45 \mu\text{m}$ tipo HA y almacenada en refrigeración, filtrándola y desgasificándola cuando no fue utilizada por más de dos días. El pH de la fase debió ser de 5.02, ajustándolo con ácido fosfórico concentrado o hidróxido de sodio 5 N, cuando fue necesario.

Acetonitrilo grado HPLC (fase B)

- *Acondicionamiento del equipo*

Una vez estabilizado el sistema y acondicionada la columna a flujo de 1 mL, se inició el programa de elución el cual fue ajustado previamente a 254 nm. El volumen de inyección de la solución estándar de aminoácidos y los hidrolizados de aminoácidos ya derivatizados fue de 10 μL .

La determinación del perfil de aminoácidos de cada muestra se realizó por triplicado.

- *Gradiente de separación y cuantificación de aminoácidos*

El programa de gradiente usado en la técnica, tuvo que ser modificado y optimizado debido a que los tiempos de retención de algunos aminoácidos son muy cercanos, lo que no permitía su separación y cuantificación. A continuación, se presenta el programa de gradiente empleado en esta determinación.



Programa de gradiente			
Tiempo	% A	% B	Flujo (mL/min)
0	100	0	1
0.5	99	1	1
5	99	1	1
10	98	2	1
12	98	2	1
15.5	96	4	1
19	94.5	5.5	0.7
23	77	23	0.7
26.1	77	23	0.4
26.6	80	20	0.4
27.7	77	23	0.4
30	77	23	0.4
35	60	40	0.7
40	40	60	1
45	40	60	1
50	60	40	1
60	100	0	1
70	100	0	1

Con este programa establecido, el orden de elución de los aminoácidos es el siguiente:

1. Aminoquinolina (AMQ)	11. Prolina
2. Aspártico	12. Cistina
3. Serina	13. Tirosina
4. Glutámico	14. Valina
5. Glicina	15. Metionina
6. Histidina	16. Lisina
7. Amoniaco	17. Isoleucina
8. Arginina	18. Leucina
9. Treonina	19. Norleucina
10. Alanina	20. Fenilalanina



Cálculos

Previamente a las muestras, se debe de correr el triplicado del estándar de aminoácidos para obtener de los aminogramas tanto el área de cada uno de los aminoácidos como el área de la norleucina (estándar interno) y así poder hacer los cálculos con base a los llamados equivalentes de norleucina de cada uno de los aminoácidos en las muestras y el estándar. Para obtener el contenido en gramos de cada aminoácido por 100 gramos de proteína en la muestra, se realizó el cálculo siguiente:

$$g \text{ aminoácido}/100 g \text{ proteína} = \frac{\text{Respuesta}_{\text{muestra}} \times (1/\text{Respuesta}_{\text{estándar}}) \times C_{aa}^{\text{estándar}} \times P.M. \times V \times C_{norl}^{\text{muestra}}}{pm \times C_{norl}^{\text{estándar}} \times \% P_{\text{muestra}}} \times 10000$$

Donde:

Respuesta_{muestra} = relación de áreas aminoácido a norleucina en la muestra

Respuesta_{estándar} = relación de áreas aminoácido a norleucina en el estándar

C_{aa estándar} = concentración del aminoácido en el estándar

PM. = peso molecular del aminoácido

A = volumen de aforo

C_{norl muestra} = concentración de la norleucina en la muestra

pm = peso de la muestra en mg

C_{norl estándar} = concentración de la norleucina en el estándar

%P_{muestra} = porcentaje de proteína en la muestra

10000 = Factor de conversión a 100 g de proteína en la muestra

IX. Cuantificación de triptofano por CLAR. Lucas y Sotelo, 1980; Yust *et al*, 2004

Material y reactivos

- Balanza analítica Sartorius analytic
- Digestor TECATOR Mod. a-b, 20/40
- Sistema CLAR, Agilent Technology, Mod. 1100



- Columna cromatográfica AccQ Tag Nova Pack C₁₈ tamaño de partícula 4 µm, de 3.9 mm x 150 mm, WATERS
- Centrífuga Eppendorf Mod. 5702
- Potenciómetro CORNING, Mod. 10
- Vórtex Lab-Line mod. 1290 super mixer
- Tubos de cultivo de pared gruesa con tapón de rosca y cubierta de teflón, PIREX
- Matraz de vidrio Kitasato, Kimax
- Embudo Buchner con alargadera
- Vaso de precipitado de 25 mL
- Matraz aforado de 10 mL
- Matraz aforado de 25 mL
- Pipetas Pasteur
- Agitador magnético
- Jeringas de 10 mL
- Termómetro (-10 a 100 °C)
- Acrodiscos de nylon, 0.45 µm de tamaño de poro, MILLIPORE
- Viales Agilent
- Tubos de centrifuga de 50 mL
- Solución estándar de triptofano (0.51 mg/mL). (Pesar 12.75 mg de triptofano, disolver y aforar a un volumen de 25 mL con buffer de boratos pH 9)
- Buffer de borato de sodio 0.06 N (pH 9) (Pesar 6 g de borato de sodio y disolver en 80 mL de agua desionizada caliente, posteriormente ajustar el pH a 9 y aforar a 100 mL)
- Ácido clorhídrico 12 N
- Hidróxido de Litio 4 N
- Agua desionizada
- Nitrógeno gaseoso de alta pureza (99.997 %), INFRA
- Acetonitrilo grado HPLC
- Buffer de acetato de sodio 25 mM pH 6 (Pesar 3.402 g de CH₃COONa·3H₂O, disolver en agua desionizada y ajustar el pH a 6. Posteriormente, añadir 0.2 g de azida de sodio como conservador y llevar a un volumen de 1L con agua desionizada previamente filtrada a través de una membrana de 0.45 micras, con ayuda de vacío. Filtrar esta solución dos veces).



Procedimiento

- **Elaboración de la curva estándar**

Se realizó una curva estándar a partir de una solución estándar de triptofano de 0.51 mg/mL. Para ello se midieron 10, 20, 30, 40 y 50 μL y cada punto se llevó a un volumen de 10 mL con buffer de boratos 0.06 N (pH 9). Cada punto de la curva se inyectó por triplicado.

- **Hidrólisis de la muestra**

Se pesaron 0.2 g de muestra desengrasada dentro de un tubo de vidrio de cultivo de pared gruesa y se adicionaron 6 mL de LiOH 4 N procurando que la muestra quedara humedecida con el álcali antes de iniciar la hidrólisis. Los tubos se insuflaron con nitrógeno de alta pureza y posteriormente, se colocaron en el digestor para llevar a cabo la hidrólisis por 6 horas manteniendo la temperatura en 100 °C.

Transcurrido el tiempo, los hidrolizados se transvasaron a vasos de precipitados de 25 mL para ser neutralizados con HCl 12 N, hasta pH 7 y aforados a 25 mL con buffer de borato de sodio 0.06 N. Los hidrolizados fueron guardados en recipientes de plástico, en una atmósfera de nitrógeno gaseoso y mantenidos en congelación hasta su inyección.

- ***Purificación de la muestra***

Debido a que los hidrolizados de maíz forman una especie de gel, fue necesario vaciarlos a tubos de centrifuga y centrifugarlos a 4000 rpm, 40 minutos. Cumplido el tiempo, se decantó el sobrenadante y se purificó la muestra a través de un acrodisco de nylon de 0.45 μm de tamaño de poro, desechando las 5 primeras gotas y recuperando el resto en un tubo eppendorf o un vial.

- **Análisis cromatográfico**

Se inyectaron 20 μL de muestra hidrolizada en el cromatógrafo, manteniendo la temperatura de la columna a 18 °C. Se utilizó un sistema isocrático con una fase móvil de buffer de acetato de sodio 25 mM y acetonitrilo en una proporción de 95:5 a un flujo de 1 mL/min. La lectura se hizo a 280 nm con un detector UV.



Cálculos

El valor interpolado en la curva estándar está dado en mg/mL de triptofano por lo que se debió tomar en cuenta el aforo, el peso de la muestra y el porcentaje de proteína de la muestra desengrasada para expresarlo en gramos de triptofano por 100 g de proteína (o 16 g de nitrógeno).

$$\text{mg Trp}/100 \text{ g proteína} = \frac{A * V * B}{pm * C} * 100$$

Donde:

A = mg Trp / mL interpolado en la curva

V = volumen de aforo (mL)

B = gramos de sólidos no grasos en 100 g de muestra

C = gramos de proteína verdadera en 100 g de muestra

pm = peso de la muestra (g)

100 = factor conversión a 100 g de proteína

X. Calificación química

La calificación química se calculo comparando el perfil de aminoácidos esenciales de cada material con el reportado de la FAO/WHO (1985), para niños de preescolar de 2 a 5 años, de la siguiente manera:

Cálculos:

Calificación química

$$= \frac{\text{mg aa's esencial/g de proteína en el alimento}}{\text{mg aa's esencial/g proteína en el patrón de referencia}} * 100$$

XI. Pruebas biológicas. FAO/WHO, 1990; AOAC, 2000

Materiales y reactivos

- Rack de jaulas individuales



- Balanza granataria para animales de laboratorio
- Balanza granataria de un platillo
- Balanza analítica Sartorius analytic
- Comederos para ratas
- Bebederos
- Charolas de papel
- Caseína
- Dextrosa
- Dextrina
- Sacarosa
- Mezcla de sales
- Mezcla de Vitaminas
- Cernidor (de 2 ± 0.05 mm de abertura)
- Equipo y reactivos para Micro-Kjeldahl
- Envases de plástico de boca ancha con tapa de 200 mL aprox.
- Mortero con pistilo
- Estufa con circulación forzada, LAB-LINE, Mod. Impereal III

Condiciones experimentales:

- ✓ Temperatura. 20-25 °C
- ✓ Iluminación. 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad
- ✓ Alimentación: Dieta respectiva a cada lote y agua *ad libitum*
- ✓ Tiempo de experimentación: 28 días para el bioensayo REP, 14 días para el bioensayo RNP y 5 días para la Digestibilidad Verdadera.

Procedimiento

Se emplearon 72 ratas hembra, de la cepa Sprague Dowley con una edad de 21 días, recién destetadas y con un peso inicial de 40 ± 10 g. Cabe mencionar que por el alto número de animales a manejar, el bioensayo se realizó en dos partes. El primer ensayo se realizó con las dietas de los maíces criollos seleccionados mientras que, el segundo bioensayo se realizó con dietas a base de maíces QPM elegidos.



Para realizar ambos bioensayos, los animales fueron pesados y distribuidos en seis lotes de seis ratas cada uno por el método de culebra japonesa, el cual consiste en ordenar los pesos de menor a mayor y posteriormente distribuirlos en forma de zigzag entre los grupos (Nota: La diferencia del peso promedio entre los lotes no debe ser mayor a 1 g). Una vez distribuidas y acomodadas de acuerdo a su peso, se llevó a cabo un registro del alimento consumido así como del incremento de peso de cada animal de experimentación cada tercer día durante el tiempo indicado para los bioensayos REP y RNP.

Las dietas que se utilizaron fueron isoproteínicas e isocalóricas a una dieta control de caseína con 9 % de proteína y aproximadamente 369 kcal/100 g de dieta. En las Tablas 11 y 12 se muestra la composición de las dietas para el primer y segundo bioensayo, respectivamente.

Tabla 11. Composición de las dietas con 9 % de proteína (primer bioensayo)

Ingrediente	Composición de las dietas (g)					
	Control ¹	A ²	B ³	C ⁴	D ⁵	DLN ⁶
Caseína (86.5 % de proteína)	10.40	-	-	-	-	-
Harina de garbanzo	-	-	-	21.82	21.82	-
Harina de maíz Celaya xTabloncillo	-	83.30	-	42.13	-	-
Harina de maíz Mil granos	-	-	89.11	-	45.05	-
Glucosa	20.70	3.56	1.57	8.06	7.06	31.1
Sacarosa	24.00	4.12	1.82	9.33	8.17	24.00
Dextrina	27.30	4.68	2.07	10.61	9.28	27.30
Manteca vegetal	2.86	0.44	0.71	1.12	1.25	2.86
Aceite vegetal	2.14	0.34	0.53	0.84	0.94	2.14
Mezcla de sales	4.00	2.75	2.46	2.76	2.62	4.00
Mezcla de vitaminas	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Celulosa	6.60	0.00	0.00	1.33	1.81	6.60

1. Control = Dieta de referencia de caseína

2. Dieta A = Fuente de proteína de maíz Celaya xTabloncillo

3. Dieta B = Fuente de proteína de maíz Mil granos

4. Dieta C = Fuente de proteína de maíz Cel x Tab:Garbanzo (50:50)

5. Dieta D = Fuente de proteína de maíz Mil granos:Garbanzo (50:50)

6. Dieta DLN = Dieta Libre de Nitrógeno



Tabla 12. Composición de las dietas con 9 % de proteína (segundo bioensayo)

Ingrediente	Composición de las dietas (g)					
	Control ¹	A ²	B ³	C ⁴	D ⁵	DLN ⁶
Caseína (86.5 % de proteína)	10.40	-	-	-	-	-
Harina de garbanzo	-	-	-	21.82	21.82	-
Harina de maíz V- 537C	-	96.67	-	48.34	-	-
Harina de maíz V- 556AC	-	-	95.44	-	47.72	-
Glucosa	20.70	0.24	0.36	6.50	6.56	31.1
Sacarosa	24.00	0.28	0.42	7.52	7.60	24.00
Dextrina	27.30	0.32	0.48	8.55	8.63	27.30
Manteca vegetal	2.86	0.35	0.53	1.08	1.17	2.86
Aceite vegetal	2.14	0.27	0.40	0.81	0.88	2.14
Mezcla de sales	4.00	2.52	2.58	2.65	2.68	4.00
Mezcla de vitaminas	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Celulosa	6.60	-	-	0.73	0.94	6.60

1. Control = Dieta de referencia de caseína

2. Dieta A = Fuente de proteína de maíz V-537C

3. Dieta B = Fuente de proteína de maíz V-556

4. Dieta C = Fuente de proteína de maíz V-537C:Garbanzo (50:50)

5. Dieta D = Fuente de proteína de maíz V-556C:Garbanzo (50:50)

6. Dieta DLN = Dieta Libre de Nitrógeno

La Digestibilidad Verdadera se realizó a la par con los bioensayos REP y RNP. Una vez que las ratas se adaptaron a las dietas a evaluar (aproximadamente 11 días después de haber iniciado el bioensayo), se realizó la recolección de heces y registro de alimento de 3 ratas de cada lote, incluyendo el lote alimentado con dieta libre de nitrógeno (nitrógeno fecal metabólico), durante 7 días seguidos.

El total de heces de cada animal recolectado en el periodo indicado, fue secado, pesado y molido para obtener un material lo más homogéneo posible. De este polvo se tomó una muestra para determinar la concentración de nitrógeno total por el método de Kjeldahl.

Al final de los bioensayos, se determinó la concentración de nitrógeno de las dietas evaluadas y de las heces de los animales experimentales con el fin de contar con los datos necesarios para hacer los cálculos de cada bioensayo.



Cálculos

BIOENSAYO RELACIÓN DE LA EFICIENCIA PROTEICA

Calcular la REP para cada una de las ratas de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$REP = \frac{\Delta P}{\sum AI * F}$$

Donde:

ΔP = Incremento de peso total del lote con la dieta de prueba (g)

$\sum AI$ = Alimento ingerido total (g)

F = % de proteína en la dieta / 100

Posteriormente calcular el promedio, desviación estándar y coeficiente de variación (C.V. en %) de cada lote en estudio. Si el C.V. es mayor a 25 %, se elimina el valor más bajo y el más alto y se vuelve a recalcular el promedio, desviación estándar y C.V.

Trazar una gráfica de curva de crecimiento (tiempo vs. Incremento en peso acumulado) para observar el crecimiento de los lotes en estudio con respecto al control de caseína.

BIOENSAYO RELACIÓN NETA DE LA PROTEÍNA

Calcular la RNP para cada una de las ratas de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$RNP = \frac{[\Delta P_{prueba} - \Delta P_{DLN}]}{\sum AI * F}$$

Donde:

ΔP_{prueba} = Incremento de peso total del lote con la dieta de prueba (g)

ΔP_{DLN} = Decremento de peso promedio del lote alimentado con la DLN (g)

$\sum AI$ = alimento ingerido total (g)

F = % de proteína en la dieta / 100



Posteriormente calcular el promedio, desviación estándar y coeficiente de variación (C.V. en %) de cada lote en estudio. Si el C.V. es mayor a 25 %, se elimina el valor más bajo y el más alto y se vuelve a recalcular el promedio, desviación estándar y C.V.

Trazar una gráfica de curva de crecimiento (tiempo vs. Incremento en peso acumulado) para observar el crecimiento de los lotes en estudio con respecto al control de caseína.

DIGESTIBILIDAD VERDADERA

Calcular el contenido de nitrógeno ingerido (NI) y el nitrógeno fecal (NF) de cada animal de acuerdo a las siguientes fórmulas:

$$NI = (\% \text{ Nitrógeno}_{\text{dieta}} * \text{Dieta ingerida}) / 100$$
$$NF = (\% \text{ Nitrógeno}_{\text{heces}} * \text{Total de heces}) / 100$$

Calcular el nitrógeno endógeno o nitrógeno fecal metabólico (NFM) de las ratas del lote alimentado con DLN:

$$NFM = (\% \text{ Nitrógeno}_{\text{heces}} * \text{Total de heces}) / 100$$

La fórmula para calcular la Digestibilidad Verdadera es la siguiente:

$$DV = \frac{[NI - (NF - NFM)]}{NI} \times 100$$