

Lej



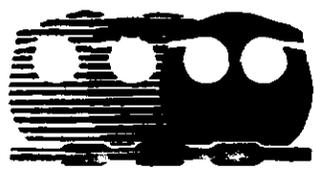
# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

ESTUDIO PARA EVALUAR EL EFECTO DE LA CONCENTRACION DE CALCIO PRESENTE, EN HARINAS EXTRUDIDAS Y NIXTAMALIZADAS DE MAIZ, BORGDO Y SUS MEZCLAS, EMPLEANDO RATAS WISTAR.

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA  
P R E S E N T A:

MARIA ELENA CAMACHO PARRA



TESIS CON FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D. F. EXAMENES PROFESIONALES 1999  
FAC. DE QUIMICA



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.

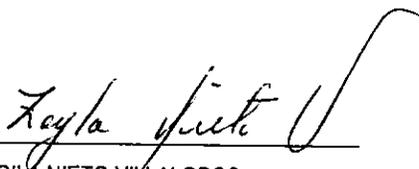
JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE	PROF: MARÍA DEL CARMEN DURÁN DE BAZÚA
VOCAL	PROF: ZOILA NIETO VILLALOBOS
SECRETARIO	PROF: JOSEFINA VIADES TREJO
1ER. SUPLENTE	PROF: FEDERICO GALDEANO BIENZOBAS
2O. SUPLENTE	PROF: MARÍA ELENA ARTEAGA CRUZ

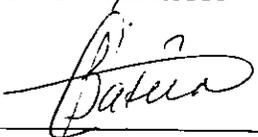
SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

UNAM, FACULTAD DE QUÍMICA, DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA,  
LABORATORIO 201, EDIF. "B" E  
INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN, LABORATORIO DE  
CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

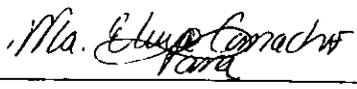
ASESOR DEL TEMA:

  
M. EN C. ZOILA NIETO VILLALOBOS

SUPERVISOR TÉCNICO:

  
DRA. ING. MA. DEL CARMEN DURÁN DE BAZÚA

SUSTENTANTE:

  
MARÍA ELENA CAMACHO PARRA

## **AGRADECIMIENTOS**

**A mis padres, por darme la oportunidad de terminar una carrera profesional y por todo el apoyo que me han brindado y su cariño.**

**A mis hermanos, por estar siempre en las buenas y en las malas.**

**A Fabián, por tenerme paciencia, su cariño y apoyarme en todo.**

**A mis sobrinos, por ser algo especial para mi.**

**A Josué, por ser un amigo además de cuñado.**

**A mis amigos, por todos los momentos que hemos compartido juntos.**

***A la Universidad Nacional Autónoma de México  
Por brindarme la oportunidad de ser un miembro  
de esta escuela y además ser un universitario***

A la Dra. Carmen Durán de Bazúa por sus valiosas aportaciones, su paciencia y por el tiempo que le dedicó a este trabajo para su revisión  
Gracias.

A la M. en C. Zoila Nieto Villalobos, por haberme dado la oportunidad de realizar este trabajo bajo su supervisión y por la paciencia que me tuvo  
Gracias.

A la M. en C. Josefina Viades Trejo, por las aportaciones valiosas que hizo al revisar el presente trabajo  
Gracias.

# ÍNDICE

## Agradecimientos

<b>Resumen</b>	i
<b>1. Generalidades</b>	1
1.1 INTRODUCCIÓN	
1.2 Objetivo	3
<b>2. ANTECEDENTES</b>	
<b>2.1 MAÍZ</b>	
2.1.1 Origen y descripción botánica	5
2.1.2 Estructura y morfología	6
2.1.3 Composición química	8
2.1.4 Producción	9
2.1.5 Usos	10
<b>2.2 SORGO</b>	
2.2.1 Origen y descripción botánica	12
2.2.2 Estructura y morfología	13
2.2.3 Composición química	15
2.2.4 Producción	16
2.2.5 Usos	17
2.2.6 Contenido de taninos y ácido fítico en cereales	18
<b>2.3 PROCESOS DE COCCIÓN</b>	
2.3.1 Nixtamalización	19
2.3.2 Extrusión	21
<b>2.4 CALCIO Y FÓSFORO</b>	
2.4.1 Introducción	26
2.4.2 Distribución y absorción intestinal	27
2.4.3 Funciones fisiológicas del calcio y fósforo	31
2.4.4 Fuentes naturales y requerimientos nutrimentales	32
2.4.5 Deficiencias y toxicidad	34

<b>2.5 PRUEBAS BIOLÓGICAS</b>	<b>38</b>
<b>3. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL</b>	
3.1 Caracterización física de los granos	40
3.2 Caracterización química de los granos	41
3.3 Procesamiento de los granos	42
3.3.1 Nixtamalización	43
3.3.2 Extrusión	44
3.4 Determinación del contenido de taninos	47
3.5 Determinación del contenido de ácido fítico	47
3.6 Determinación del contenido de calcio	47
3.7 Relación de eficiencia proteínica (REP)	47
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>55</b>
<b>5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	<b>73</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>75</b>
<b>Apéndice A. Determinación de calcio por absorción atómica</b>	<b>83</b>
Determinación de ácido fítico	
Determinación de taninos	
<b>Apéndice B. Análisis estadístico (variancia)</b>	<b>89</b>

## RESUMEN

En el presente trabajo se utilizaron los procesos de nixtamalización y extrusión en los cereales de maíz, sorgo y mezcla de ellos, en una relación de 60:40 respectivamente, con la finalidad de determinar el efecto de la variación de la concentración de calcio (100, 66, 33 y 0% de los requerimientos probados) en dietas que fueron suministradas a ratas Wistar. Se utilizaron lotes de 30 kg por cada tipo de cereal, los cuales fueron caracterizados físicamente midiendo peso hectolítrico, densidad relativa, defectos físicos y materia extraña. Se realizaron análisis químicos antes de ser sometidos a los procesos de extrusión y nixtamalización. Para ello, se tomaron muestras de cada cereal, las cuales fueron molidas en un molino CeCoCo, a malla 20; a las harinas resultantes se les determinó humedad, cenizas, fibra, grasa y proteína, así como hidratos de carbono asimilables. Asimismo, se determinó el contenido de calcio el cual se obtuvo por espectrofotometría de absorción atómica utilizando un equipo Perkin-Elmer, ácido fítico por el método de descrito por Haug y Lantzsch (1983) para la determinación colorimétrica, y contenido de taninos. Este último fue determinado como factor antifisiológico y por impartirle al producto un sabor astringente. A continuación se describen los procesos utilizados en el presente estudio. Para el proceso de extrusión se utilizó un extrusor Wenger X-5 facilitado por el Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la División Experimental del Instituto Nacional de Nutrición Salvador Zubirán. Las condiciones de operación fueron: Temperaturas en las diferentes zonas del extrusor (zona de alimentación, transición y extrusión, respectivamente) de 60, 110 y 115°C,  $w = 720$  rpm,  $L/D = 10:1$ , tiempo de residencia de 2 min (medidos desde la zona de alimentación de la muestra hasta que sale por la boquilla del extrusor). Las muestras a extrudir tuvieron las siguientes características: Harinas que pasaran por malla 20 acondicionadas a 20% de humedad y 5% de aceite vegetal, con el fin de facilitar el paso a través del barril del extrusor y con adición de 0.3% de hidróxido de calcio (en peso de harinas crudas). El proceso de nixtamalización se efectuó de la manera siguiente: En un recipiente se colocaron 15 L de agua hirviendo, 5 kg de cereal y  $\text{Ca(OH)}_2$  en la concentración idónea para cada grano (0.5 a 1.5% de  $\text{Ca(OH)}_2$ ), con tiempos de cocción de 20 min y tiempos de reposo de 16 h aproximadamente. Se lavó el grano dos veces

con 8 y 7 L de agua, se escurrieron y secaron en una estufa de secado al vacío a 60-70°C por 8 h. Los granos se molieron en un molino CeCoCo hasta la granulometría descrita por la NOM para harina de maíz nixtamalizada. Los resultados obtenidos en cuanto al contenido de taninos mostró una clara disminución de estos debida a los procesos de cocción comparadas con las muestras sin tratamiento en las cuales los valores fueron los más altos:

CONTENIDO DE TANINOS (eq. de catequina/100 g)			
MUESTRAS	MAÍZ	SORGO	MEZCLA MS (60:40)
Nixtamalizada	0.018	0.026	0.043
Extrudida	0.013	0.036	0.050
Sin tratamiento	0.048	0.045	0.064

Esta disminución pudo deberse, tanto al efecto destructivo que ejerce el proceso de cocción sobre este factor como a la adición de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ . En el caso de las muestras nixtamalizadas pueden haber contribuido también los lavados que se hicieron a los granos. Este tipo de compuestos pueden tener efectos tóxicos y de aceptación del producto, ya que imparten un sabor astringente. Tanto a los productos extrudidos como a los nixtamalizados se les determinó contenido de calcio y ácido fítico, así como la calidad proteínica (REP), en experimentos *in vivo*. Los valores obtenidos de la prueba biológica (REP) oscilaron entre 1.511 (muestra de maíz extrudido con adición de 100% de sus requerimientos de calcio) y -1.0474 (muestra de sorgo extrudido con adición de 33% de sus requerimientos de calcio). En general, se obtuvo un incremento en las muestras extrudidas, comparadas con las muestras nixtamalizadas en el valor de la relación de la eficiencia proteica, las cuales fueron significativamente diferentes (salvo en muestras de sorgo extrudido, las cuales presentaron valores de REP negativos). Al término de la prueba biológica se realizaron observaciones internas a las ratas, donde no se obtuvieron resultados semejantes entre los lotes (en cuanto a tamaño, peso, color de pelo y condiciones internas del animal observadas) comparando con el control. Las muestras en las cuales se obtuvieron los mejores resultados fueron las de maíz-sorgo extrudido y nixtamalizado con 100% de adición de calcio. En general, casi todas las ratas presentaron manchas en el cuerpo, pelo crespo y nerviosismo en diferentes grados. Las pruebas histológicas a los órganos internos no han sido realizadas, pero es recomendable que se efectúen. Todos los resultados fueron analizados estadísticamente (análisis de variancia)

donde se encontraron diferencias significativas entre los valores a niveles de significancia de 0.05% y 0.01% para todos los tratamientos (para el caso de REP o PER se tuvo un valor de  $F_{calc.}$  de 101.338 comparado con el  $F_{tablas}$  de 2.90 y 4.56 a niveles de significancia de 5% y 1% respectivamente; para la relación Ca/P se tuvo un valor de  $F_{calc.}$  de 3.98 comparado con el valor de  $F_{tablas}$  de 2.90 a un nivel de significancia de 5%), los cuales indican que la variación de calcio en las dietas afecta significativamente la REP (PER) conforme disminuye el aporte de este mineral. En cuanto al contenido de ácido fítico, éste se determinó para conocer el contenido real de fósforo en los cereales, ya que en estos, el fósforo presente en ellos se encuentra como ácido fítico y fitatos y también por la importancia que tiene, ya que una parte se liga con el calcio presente haciéndolo indisponible. A continuación se muestran los resultados del contenido de ácido fítico y fósforo en las muestras:

CONTENIDO DE ÁCIDO FÍTICO Y FÓSFORO			
MUESTRA	Absorción	Mg ÁC. FÍTICO/g MUESTRA	mg FÓSFORO/100 g MUESTRA
Maíz crudo	0.02	65.4	28.90
Sorgo crudo	0.04	67.5	37.47
Sorgo nixtamalizado	0.05	63.7	33.53
Sorgo extrudido	0.03	64.8	35.03
Maíz nixtamalizado	0.16	57.5	23.50
Maíz extrudido	0.11	60.3	27.40

De acuerdo a los resultados obtenidos en el desarrollo experimental se concluye lo siguiente:

- I. Los cereales no pueden sustituir a una fuente proteínica como la caseína. El sorgo sólo puede ser utilizado como un extensor del maíz, ya que los dos son cereales y no pueden complementarse, como puede verse de sus valores de REP (PER).
- II. En lo que respecta a los dos tipos de procesamiento de los granos, la extrusión es una alternativa para la nixtamalización, ya que presenta ventajas, tanto en ahorro de tiempo como de energía, según se ha demostrado en estudios anteriores. Respecto del valor nutritivo también presenta ventajas ya que, con excepción del sorgo, las demás muestras dan valores de REP (PER) mejores que sus contrapartes. En este

estudio se puede ver que el proceso de extrusión fue el que mejores resultados dió, ya que las dos mejores dietas fueron de cereales extrudidos. Esto confirma que el proceso de extrusión tiene mayores ventajas sobre el proceso tradicional de nixtamalización. La única excepción fue la del sorgo extrudido, pero este experimento será repetido ya que existe la probabilidad de que hubo un factor externo que dió estos resultados negativos.

III. Las observaciones cualitativas hechas a las ratas permiten inferir un posible efecto del calcio. Aparentemente una deficiencia de este mineral provoca reacciones tanto internas como externas nocivas en los animales, ya que presentaron una descalcificación muy marcada, tanto en el tamaño como en el comportamiento que tuvieron (nerviosidad y agresividad). Las observaciones indican daños, tanto en riñón como en hígado. La cantidad de grasa que acumularon también fue efímera, indicando una correlación con la cantidad de calcio que retienen las ratas. La fragilidad de los huesos habla de la descalcificación que presentaron.

IV. La relación Ca/P, cuando se tiene un valor por arriba del recomendado (0.5), no provoca efectos adversos como cuando la relación es menor de la recomendada. Estos efectos dañinos fueron los observados en hígado y riñón. Cuando la relación es menor, hay presencia de indicios de descalcificación generalizada en huesos y cráneo, además de los daños internos pensándose que hay presencia de osteoporosis. Esto fue claro al comparar con el patrón de referencia. No se puede concluir que realmente hubo daño en los órganos internos, ya que no se realizó el estudio histológico a los tejidos.

V. Con los resultados obtenidos en el presente trabajo no se puede recomendar una cantidad adecuada de Ca para que sea adicionada en las tortillerías, como hidróxido de calcio; sin embargo, se puede recomendar que esta adición no sea menor del porcentaje ya establecido que es de 1.5%. Se tienen que hacer estudios posteriores para realmente determinar el porcentaje recomendable.

# 1. GENERALIDADES

## 1.1 INTRODUCCIÓN

México ha sido, en los últimos 20 años, uno de los países con tasas de crecimiento de población más elevadas. Para la mayoría, la alimentación se basa en productos de maíz, principalmente en forma de tortilla.

Sin embargo, la producción del maíz no ha seguido la tendencia de aumento que ha seguido la población sino, al contrario, ha sufrido una disminución de la producción debida a un cambio de cultivo, prefiriendo actualmente el cultivo del sorgo, ya que presenta ventajas sobre el maíz (Euclides y col., 1983 a, b).

Dado que el sorgo representa el segundo cultivo más importante a nivel nacional, se han realizado estudios para determinar su viabilidad como alimento y su aceptación dentro de la población, debido a que presenta propiedades similares al maíz y al trigo tanto fisicoquímicas, como de composición (Euclides y col., 1983 a, b).

Dentro de las variedades de sorgo más utilizadas algunas de ellas presentan altos contenidos de taninos, ocasionando problemas digestivos en animales monogástricos. Esto es debido a la inhibición de enzimas y a la reducción de disponibilidad de proteína asimilable. Por este motivo, los fitomejoradores de sorgo han trabajado en la obtención de variedades de este cereal para la alimentación humana, enfocando su atención hacia los de bajo contenido o los que presentan ausencia de taninos o polifenoles (Peña-Silva y Martínez-Bustos, 1983).

Por esta razón, se han realizado estudios donde se resalta la utilización parcial y total del sorgo, en la obtención de harinas nixtamalizadas y extrudidas de mezclas de maíz con sorgo, evaluando las harinas en forma de tortillas, encontrándose que los resultados óptimos, desde el punto de vista sensorial, fueron las harinas elaboradas con una mezcla de 60% de maíz y 40% de sorgo, (Durán-de-Bazúa, 1988).

Como una alternativa del proceso de nixtamalización se han desarrollado estudios en torno al proceso de extrusión alcalina, donde los resultados obtenidos para esta tecnología presentan ventajas, tanto en tiempo de obtención de las harinas como

en la energía utilizada para este fin, ya que sus valores obtenidos experimentalmente son menores comparados con los obtenidos para la nixtamalización. Además, no presenta el problema de las aguas residuales (nejayote), que ocasionan una contaminación con los efluentes generados y que repercuten negativamente en el entorno (Almeida-Domínguez y Millán-León, 1986; Durán-de-Bazúa, 1987).

Siendo la tortilla la base de la dieta del pueblo mexicano y considerando que la cantidad de  $\text{Ca(OH)}_2$  adicionado en el cocimiento del maíz se convierte en una fuente de calcio en la dieta mexicana, un déficit de calcio en la dieta puede manifestarse en el esqueleto. Por ejemplo, una deficiencia simple de calcio, en animales jóvenes, se manifiesta como raquitismo y en los animales adultos, se puede presentar la enfermedad que se denomina osteomalacia. En cada caso, los huesos se vuelven blandos y con frecuencia se deforman debido a una falla en la calcificación de la matriz cartilaginosa.

Los adultos sanos que reciben una dieta que cubre los requerimientos recomendados (Greger, 1987), absorben aproximadamente el 30% del calcio que contiene la dieta. Cuando se ingiere una gran cantidad de calcio el porcentaje que es absorbido disminuye. Las personas que, por costumbre, ingieren dietas bajas en calcio absorben una gran proporción de la ingestión total. Por otra parte, las sales de calcio son más solubles en solución ácida y, por tanto, la mayor parte de la absorción se presenta en el duodeno. Una vez que se han mezclado, la bilis y el jugo pancreático con el quimo, la solubilidad de las sales de calcio y, por tanto, la absorción, se reducen. La absorción de calcio aumenta con las dietas altas en proteínas, quizá debido a la influencia de aminoácidos específicos, especialmente lisina, serina y arginina (Ramos-Galván, 1985).

Una deficiencia de calcio o inclusive con cantidades normales de éste, ante la presencia de un exceso de fósforo, también produce anomalías óseas; pero en este caso, el fenómeno llamado de resorción ósea, trae como consecuencia una osteodistrofia fibrosa. Esta situación se caracteriza histológicamente por el reemplazo de tejido óseo por tejido conectivo fibroso.

La absorción de calcio va a depender de la etapa de vida del individuo. Ésta es mayor en la etapa de crecimiento, embarazo y lactancia, mientras que disminuye al avanzar los años hasta la edad adulta. Hacia los 40 años, especialmente en mujeres postmenopáusicas, hay desarrollo de osteoporosis generalizada. Para este efecto

concurrentes varios factores como una baja ingestión y absorción de calcio, manifestaciones óseas e hipocalcemia que pueden originar un cuadro de hiperexcitabilidad neuromuscular.

Una deficiencia severa de calcio puede producir una hipocalcemia que se manifiesta con tetania y convulsiones. La tetania por calcio se relaciona con la necesidad de calcio en la transmisión normal de los impulsos nerviosos y de la contracción muscular. Puede ser transitoria o culminar con la muerte súbita. Aparentemente, la muerte se presenta debido a una falla en las contracciones normales del músculo cardíaco (Belizán y col., 1982).

Por otro lado, un consumo de calcio arriba del normal, puede manifestarse como anomalías óseas que se pueden considerar como manifestaciones de intoxicación. La tendencia a la hipercalcemia se presenta como consecuencia de la absorción continua del exceso de calcio, la cual estimula la producción de calcitonina en la glándula tiroides, por lo que la secreción sostenida de calcitonina conduce a la formación de un exceso de material óseo como respuesta inadecuada a la resorción ósea. Este engrosamiento anormal de la corteza ósea se denomina osteopetrosis.

También un exceso de calcio en la dieta disminuye la absorción y la utilización de los otros minerales como son el zinc, magnesio, yodo, manganeso y cobre (Toma y Curtis, 1986).

## **1.2 Objetivo de este trabajo**

Con base en lo mencionado hasta aquí, el objetivo de esta investigación es estudiar el efecto de distintas concentraciones de calcio en la dieta, tomando en consideración la relación Ca/P, sobre el desarrollo de ratas Wistar. Este estudio se realizó con harinas de maíz, sorgo y sus mezclas, utilizando al sorgo como extensor del maíz en una relación de 40% sorgo-60% maíz, siendo estas harinas procesadas por el método tradicional de la nixtamalización y también utilizando como alternativa de cocción el proceso de extrusión alcalina. Las metas para alcanzar ese objetivo fueron las siguientes:

- **Determinar la concentración real de calcio en las dietas nixtamalizadas y extrudidas, de maíz, sorgo y sus mezclas, mediante la técnica de espectrometría por absorción atómica,**
- **Inferir el efecto que tienen distintas concentraciones de calcio y de Ca/P en dietas para animales de laboratorio, comparándolas con las características físicas observadas en los órganos internos y la apariencia externa de dichos animales.**

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Maíz

#### 2.1.1 Origen y descripción botánica

El maíz es originario de América y se cultivaba ya por los indígenas en la época de la llegada de los españoles a este continente. Sin embargo, se dice que fue llevado de Asia Menor a Italia en 1204 y que en 1819 se encontraron granos de maíz en las ruinas de Tebas. Se considera que el maíz se originó de la hibridación de la *Euchlaena luxurians* o *Teosinte* de la familia de las gramíneas, planta indígena del Centro de América. En México existe una planta silvestre más afín al maíz y del mismo género, que se llama maíz de coyote, especie de zacate con flores monoicas (Escobar, 1975).

El maíz es una planta de la subfamilia *mezdeas*, familia de las gramíneas. Según la clasificación de Sturtevant, el maíz se clasifica en las siguientes variedades botánicas (Anónimo, 1980):

<i>Zea mays</i> L. var. <i>Indendata</i>	Maíz dentado
<i>Zea mays</i> L. var. <i>Indurata</i>	Maíz duro
<i>Zea mays</i> L. var. <i>Amilácea</i>	Maíz harinoso o suave
<i>Zea mays</i> L. var. <i>everta</i> o <i>rostrata</i>	Maíz palomero o esquite
<i>Zea mays</i> L. var. <i>Tunicata</i>	Maíz envainado o tunicado
<i>Zea mays</i> L. var. <i>Ceratina</i>	Maíz ceroso

El maíz dentado, al madurarse los granos, presenta una concavidad pronunciada debido al encogimiento del endospermo a medida que se pierde humedad. Los granos son duros pero no tanto como los del maíz duro.

El maíz duro tiene granos muy duros. Esta característica se debe a que las capas de almidón duro y proteína, son bastante gruesas, justamente se encuentran debajo de

la cáscara. La mayoría de los granos de este tipo maduran pronto. Se cultiva principalmente en Argentina y África.

El maíz harinoso, presenta sus granos grandes y blandos y el endospermo se desmenuza con facilidad. Estas características permiten que el grano se mueva fácilmente, formando harina, lo que es ventajoso en los métodos de preparación domésticos.

El maíz dulce y el palomero contienen mayor cantidad de carbohidratos que el maíz dentado y duro, retienen su textura blanda y succulenta y su sabor dulce por un período más largo durante su desarrollo. Los granos al madurar y secarse, son tan duros como los del maíz dentado, aunque tienen una superficie arrugada.

El maíz ceroso no contiene cera, pero debe su textura a las grandes cantidades de la fracción de amilopectina del almidón que están presentes. Cada vez adquiere mayor importancia debido a los usos que se le han encontrado, tanto para alimentos como de uso industrial.

El maíz de vaina es quizá un tipo primitivo del maíz, en el que cada uno de sus granos está envuelto con una vaina fibrosa (Desrosier, 1986).

### **2.1.2 Estructura y morfología**

El maíz es una planta anual, con raíces fasciculadas y con numerosas raíces adventicias. El tallo es erecto, robusto y su altura oscila entre 0.5 a 5 m, con internodos llenos de médulas, las hojas son alternas, grandes, lanceoladas y ásperas en los bordes.

Son plantas monoicas, las flores masculinas están recogidas en una panícula terminal y las flores femeninas en espigas axilares (panochas o mazorcas) que tienen la raíz carnosas (carozo). Este fruto es de diferentes formas, dependiendo de la variedad (Anónimo, 1980).

Un grano de maíz común tiene la forma de un prisma rectangular (figura 1), terminado en una faceta oblonga con un ligero hundimiento en la cresta, está compuesto de un pericarpio muy delgado que encierra a una sola semilla.

El pericarpio es una pared del ovario maduro y comprende todas las capas exteriores de la célula hasta el recubrimiento de la semilla. A lo largo de su superficie interior se adhiere a la capa de la semilla.

El pericarpio encierra, a su vez, al germen y al endospermo. El germen o embrión, constituye aproximadamente el 11.5% del peso total del grano, está formado por un eje embrionario y el escutelo (cotiledón) (Desrosier, 1986).

Al endospermo lo forman esencialmente dos regiones:

- 1) El endospermo harinoso o suave que constituye el 34% en peso.
- 2) El endospermo vítreo o duro que forma el 66% en peso.

Dicha proporción varía dependiendo del tipo de maíz, suelo, clima, altitud y humedad. La capa terminal constituye el puente que une el grano al carozo y está constituido por células en forma de estrella acomodados en una estructura esponjosa adaptada para una rápida absorción de humedad (Wolf, 1951).

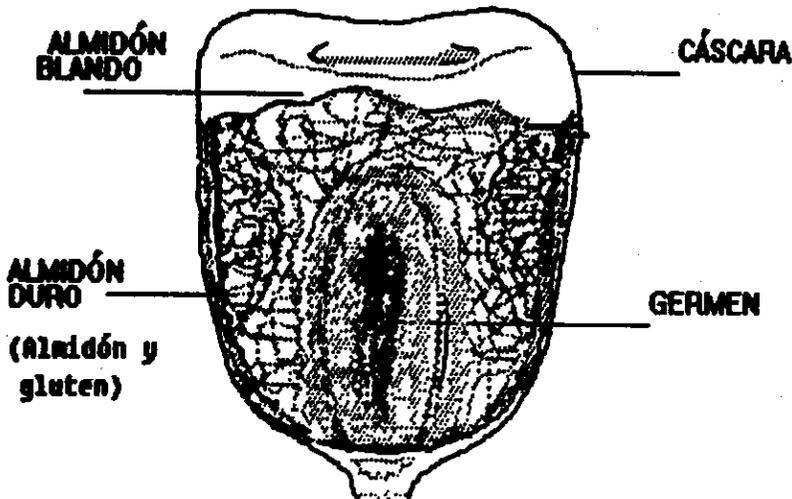


Fig.1 ESQUEMA DE UN GRANO DE MAÍZ

### 2.1.3 Composición química

El maíz se considera básicamente un alimento energético por su contenido de almidón y carbohidratos (aproximadamente 80%). Como todos los cereales, el maíz tiene un bajo contenido de proteínas, alrededor del 10%, estas proteínas se consideran de baja calidad ya que si se comparan con las proteínas del huevo y de la leche, su valor biológico es bajo. Esto se debe a que la proporción de las mismas no es equilibrada, pues su principal proteína es la zeína que contiene bajas concentraciones de los aminoácidos esenciales lisina y triptofano.

La mayor parte de la zeína se encuentra en el endospermo. Bressani y Mertz (1958), estudiaron la composición de las proteínas del maíz, la cual difiere de una variedad a otra. Estas variaciones se acentúan entre variedades genéticamente muy diferentes.

En la tabla 1 se muestra la composición química del maíz en base húmeda y base seca. Este es un promedio de las composiciones para el maíz duro, harinoso, híbrido y dentado, ya que para otras variedades de maíz varían considerablemente. Las tablas 2 y 3 presentan la distribución de las proteínas en el endospermo, así como la composición de aminoácidos en estas proteínas.

**Tabla 1. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL MAÍZ**

(Chávez y col., 1992)

Componentes	Base húmeda%	Base seca%
Humedad %	16.7	---
Proteína %	9.9	11.9
Grasa %	4.7	5.6
Carbohidratos totales %	71.5	85.8
Fibra cruda %	2.6	3.1
Cenizas %	1.4	1.7

**Tabla 2. DISTRIBUCIÓN DE PROTEÍNA EN EL GERMEN Y ENDOSPERMO DEL MAÍZ (Mertz y col., 1958)**

<b>FRACCIÓN DE PROTEÍNA</b>	<b>GERMEN %</b>	<b>ENDOSPERMO %</b>
Insoluble	0.9	1.09
Soluble en ácido	39.4	26.3
Soluble en álcali	54.0	28.0
Soluble en alcohol	5.7	43.8

(Proteína en el grano entero 8.2%, en el germen 16.1%, en el endospermo 7.2% en peso)

#### **2.1.4 Producción**

A pesar de que en el período comprendido entre las heladas no basta para el desarrollo total de la planta, en la República Mexicana se cultiva en todo su territorio, con excepción de las cumbres más elevadas, donde la altitud ejerce la misma influencia que la latitud.

Su producción no está limitada a determinadas regiones, como sucede con el trigo y otras cosechas. En cuanto a su conservación, se atribuye al maíz cosechado en las tierras bajas y húmedas menor aptitud para la conservación, que el de las tierras frías debido a que el primero llega a los graneros infestado, ya sea por gérmenes de hongos o insectos en forma más abundantes (Escobar, 1975).

Según datos de la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH, 1996), la producción de maíz desde 1991 a 1996 es la que se presenta en la tabla 4.

**Tabla 3. AMINOÁCIDOS DEL GERMEN Y ENDOSPERMO DEL MAÍZ**  
(Mertz y col., 1966)

<b>AMINOÁCIDOS</b>	<b>GERMEN g/100 g proteína</b>	<b>ENDOSPERMO g/100g proteína</b>
Lisina	6.1	2.0
Histidina	2.9	2.8
Arginina	9.1	3.8
Ácido aspártico	8.2	6.2
Ácido glutámico	13.1	21.3
Treonina	3.9	3.5
Serina	5.5	5.2
Prolina	4.8	9.2
Glicina	5.4	3.2
Alanina	6.0	8.1
Valina	5.3	4.7
Cistina	1.0	1.8
Metionina	1.7	2.8
Isoleucina	3.1	3.8
Leucina	6.5	14.3
Tirosina	2.9	5.3
Fenilalanina	4.1	5.3
Triptofano	1.3	0.5

### 2.1.5 Usos

Desde antes de la conquista, ha sido el maíz un grano básico en la alimentación del pueblo mexicano y probablemente no hay otro en el mundo con más diversos usos. En otros países donde también se consume este grano como alimento principal, frecuentemente la población sufre de una enfermedad llamada *pelagra*, caracterizada por llagas en los brazos y en las manos, la cual se cree que se deba al uso exclusivo de éste o a una alimentación deficiente en algunas vitaminas. En México, donde se consume en mayor cantidad, no se propaga, debido en parte, al uso de la cal que se agrega al grano en la preparación de las tortillas, al hacer el nixtamal y en parte al tipo de dieta nacional.

En otras regiones cálidas de nuestro país se apetecen más los productos obtenidos del maíz que los del trigo, lo que se debe tanto al uso como a la preparación que se hace de dicho grano.

**Tabla 4. PRODUCCIÓN DE MAÍZ EN MÉXICO (SARH, 1996)**

<b>AÑO</b>	<b>SUP.(ha) SEMBRADA</b>	<b>SUP.(ha) COSECHADA</b>	<b>RENDIM. (TON/ha)</b>	<b>PRODUC. (TON)</b>
<b>1991</b>	7'917,518	7'338,872	1.994	14'635,439
<b>1992</b>	7'106,114	6'358,101	1.963	12'544,136
<b>1993</b>	8'346,123	7'931,689	1.997	14'757,236
<b>1994</b>	8'674,063	8'031,924	1.853	11'054,230
<b>1995</b>	8'724,003	8'074,733	1.724	13'920,839
<b>1996*</b>	8'723,003	8'070,123	1.530	12'347,288

\* Valor estimado

Acerca de la manera de consumirlo en México para la alimentación humana, el maíz se usa para preparar tortillas, atole, pozole, pinole, tamales, esquites, tascalate y otros alimentos, sirve para la preparación de algunas bebidas refrescantes como la chicha, el tepache y el tesgüino. Se utiliza también en la fabricación de alcohol industrial.

Otro uso del maíz es su extracción del almidón que brinda una variedad de aplicaciones industriales. Convenientemente modificado, tanto física como químicamente, se utiliza en pegamentos, engomados y aprestos de textiles, fabricación de papel y cerveza, extracción de petróleo, fundición, empacado de carnes y vegetales, en tabletas de productos farmacéuticos, etc. Sin embargo, puede decirse que el principal campo de los almidones es en la industria alimentaria, empleándose en los siguientes, con propósitos más importantes:

- a) Agente espesante. Dando textura a mostazas, aderezos y sopas.
- b) Cervecería. Se emplea con la malta, para aumentar el rendimiento y la estabilidad.

- c) Antiapelmazador. Evitar la absorción de humedad y el apelmazamiento del azúcar pulverizada
- d) Gelatinizador. El empleo de almidones de cocción delgada en la fabricación de gomitas.
- e) Estabilizador. Impide el asentamiento de las materias sólidas en ciertos preparados.
- f) Emulsificador. Ayuda a la formación de la emulsión sobre todo en los aderezos de las ensaladas.
- g) Modificador de harinas. Reduce el contenido proteínico y la fuerza del gluten en la fabricación de galletas (Tejera-Quijano, 1970)

## 2.2 Sorgo

### 2.2.1 Origen y descripción botánica

El sorgo es un cultivo conocido desde el año 700 a.C., originario de Asia y África. El sorgo está clasificado como una planta monocotiledónea, monoica, perteneciente a la tribu de las andropogóneas. De la familia de las gramíneas, forman uno de los grupos más importantes desde el punto de vista agrícola, pertenecen al género *Sorghum* u *Holcus*.

Los sorgos (*Sorghum vulgare*) fueron introducidos a México en 1944, por la Oficina de Estudios Especiales de la S.A.G., utilizando variedades traídas de los Estados Unidos de América, con el fin de sustituir otros cultivos con rendimientos deficientes, que no prosperaban en áreas con precipitación pluvial errática o escasa.

En 1956, la investigación se enfocó a la formación de híbridos regionales de sorgo, contando actualmente con 480 sorgos híbridos experimentales. La evaluación de estos híbridos en comparación con variedades comerciales, permitió en 1972 la liberación, por parte del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), de los seis primeros sorgos para las diferentes zonas: Templadas, Cálidas húmedas y Cálidas secas. Actualmente se tienen programas nacionales para generar germoplasma tolerante al frío, con capacidad para germinar, crear y producir semilla a temperaturas bajas (Jambunathan, 1980). Se ha clasificado al sorgo por el tipo de uso al que se destina como se muestra en la tabla 5.

**Tabla 5. CLASIFICACIÓN DEL SORGO**

(Ibar, 1984)

<i>Sorghum bicolor</i>	Sorgos productores de granos	
<i>Sorghum saccharatum</i>	Sorgo dulce o de jarabe	
<i>Sorghum saccharatum</i> <i>var. technicum</i>	Sorgo para escobas	<b>SORGOS</b>  <b>FORRAJEROS</b>
<i>Sorghum sudanese</i>	Sorgo del Sudán	
<i>Sorghum virgatum</i>	Sorgo del Túnez	
<i>Sorghum halepense</i>	Sorgo de Alepo	
<i>Sorghum alimum</i>	Sorgo negro	

Los sorgos productores de grano tienen espigas largas y erguidas, semillas redondeadas; la variedad Milo Africano Grande produce granos de mayor tamaño. También son utilizados como plantas forrajeras.

Los sorgos dulces presentan un grano ligeramente descubierto por la abertura de las glumas, poco amacolladas y cañas generalmente no ramificadas; presenta glumas morenas o negras. Se utilizan para fabricar azúcar, mieles y también como plantas forrajeras.

Los sorgos para escobas se caracterizan por tener tallos ramificados y largas panojas que se utilizan para la fabricación de escobas y cepillos, dentro de éstas está la variedad típica o alta (Escobar, 1975).

### 2.2.2 Estructura y morfología

El sorgo es una planta anual de raíz fasciculada, el tallo es erecto, delgado y robusto, alcanza una altura variable entre 1 y 6 m. Sus hojas son alternas, lineares, lanceoladas. La inflorescencia terminal o panoja, puede estar colgante o erecta y presentar sus frutos compactos o laxos. Contiene flores hermafroditas.

El fruto del sorgo es una cariósida redondeada, de diversos colores, cuyo peso varía de 3 a 80 mg y su diámetro es de 3 a 6 mm (Anónimo, 1980).

El grano de sorgo está compuesto de una cubierta externa, la cual está constituida por celulosa y se divide en el pericarpio o epidermis, que contiene pigmentos y cera. La capa intermedia o mesocarpio, contiene pequeños gránulos de almidón embebidos en una densa red proteínica. La porción interior del pericarpio (endocarpio) está compuesto de células entrecruzadas (figura 2).

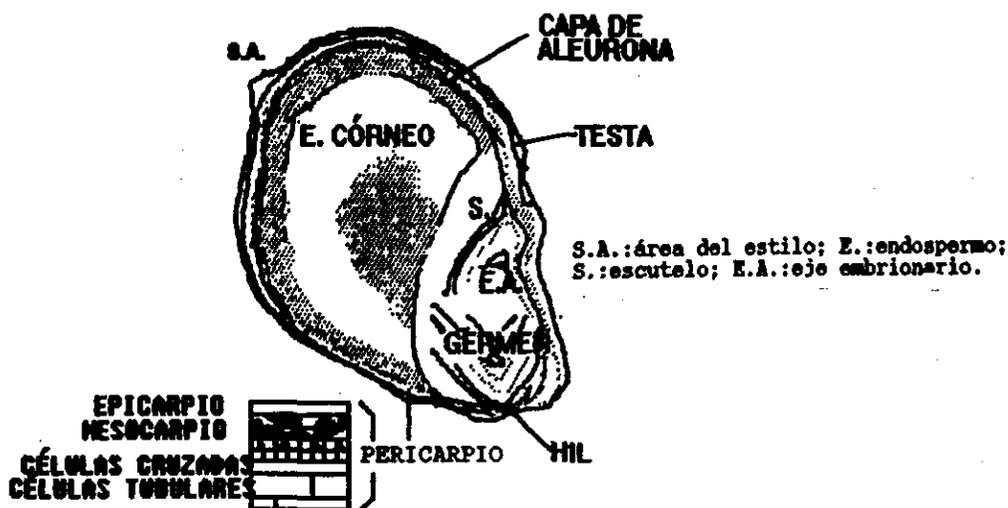
En la parte interna se encuentran el germen y el endospermo. El endospermo está compuesto de una capa de aleurona y de las porciones periféricas, córnea y harinosa. La capa de aleurona, localizada inmediatamente debajo del pericarpio, es una capa de células pequeñas y densas con alto contenido de aceite y proteína. El endospermo periférico, está localizado debajo de la capa de aleurona y consiste de una capa de células gruesas, las cuales se distinguen del resto.

El endospermo harinoso está localizado en el centro del grano y está rodeado por el endospermo córneo. El germen, formado por escutelo y embrión, contiene 70% de lípidos, 15% de proteína y 20% de cenizas. Está firmemente embebido en el grano y es muy difícil eliminarlo durante los procesos de molienda seca y húmeda (Deyoe y Roberts, 1979).

El grano de sorgo tiene, en promedio, la siguiente composición (Saldaña-Morales, 1987):

<b>PERICARPIO</b>	6 al 8% del grano
<b>ENDOSPERMO</b>	80 al 82% del grano
<b>GERMEN</b>	10 al 12% del grano

Figura 2. COMPOSICIÓN DEL GRANO DE SORGO



### 2.2.3 Composición química

La composición del sorgo es muy parecida a la del maíz, el sorgo en general tiene 1% menos de grasa aproximadamente, que el maíz. La proteína predominante en el grano de sorgo es la prolamina que representa el 83% de la proteína del endospermo, seguida de la glutenina. De las determinaciones del contenido de aminoácidos de fracciones proteicas (Chávez y col., 1992), la prolamina del sorgo es deficiente en lisina, aminoácidos azufrados y treonina, pero dispone de elevadas concentraciones de ácido glutámico, leucina, prolina y alanina.

En lo que se refiere a la composición de las gluteninas, que es la segunda fracción proteica en importancia, los niveles de lisina, arginina, treonina y metionina, son más altos que la glutenina. Las albúminas y globulinas son las fracciones que se encuentran en menor proporción (Euclides y col., 1983 a, b).

El análisis proximal y la composición de aminoácidos del grano de sorgo se presentan en las tablas 6 y 7, respectivamente.

**Tabla 6. COMPOSICIÓN PROXIMAL DEL GRANO DE SORGO (Ershow y Wong-Chen, 1990)**

<b>COMPONENTES</b>	<b>Base húmeda%</b>	<b>Base seca%</b>
<b>Humedad</b>	12.00	—
<b>Cenizas</b>	1.30	1.5
<b>Proteína</b>	7.20	8.2
<b>Hidratos de carbono</b>	75.60	85.9
<b>Extracto etéreo</b>	3.30	3.8
<b>Fibra cruda</b>	0.60	0.7

En lo que respecta a la composición de fibra y cenizas son similares a otros cereales con cariósipide desnudo.

#### **2.2.4 Producción**

El cultivo de sorgo ocupa los primeros lugares en la producción mundial de cereales. Esto debido, principalmente a su utilización en la preparación de alimentos balanceados para ganado vacuno, bovino, porcino y aves de corral, así como su uso en la alimentación humana. La producción mundial de sorgo se ha incrementado en más de un 50% desde 1960 a la fecha, así como los rendimientos por unidad de superficie.

A nivel nacional, el sorgo ocupa el segundo lugar en importancia. La mayor parte de la producción está concentrada en el norte de la República Mexicana (Tamaulipas), en el oeste en los estados de Jalisco, Michoacán y Sinaloa y en el área central en el estado de Guanajuato. Estos estados producen el 82% del total de la producción nacional.

En la tabla 8 se muestra la producción nacional de sorgo desde 1991 a 1996, según datos de la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH, 1996).

**Tabla 7. COMPARACIÓN DE AMINOÁCIDOS DE SORGO CON EL PATRÓN DE LA  
FAO, g/100 g de proteína (Pellet y Young, 1980)**

<b>AMINOÁCIDOS</b>	<b>SORGO</b>	<b>PATRÓN FAO</b>
<b>Histidina</b>	1.32	---
<b>Lisina</b>	1.25	5.44
<b>Treonina</b>	1.9	4.0
<b>Valina</b>	0.31	4.96
<b>Metionina</b>	0.86	1.69
<b>Isoleucina</b>	2.43	4.0
<b>Leucina</b>	8.23	7.04
<b>Fenilalanina</b>	3.03	2.88
<b>Triptofano</b>	0.75	0.96
<b>Aminoácidos azufrados</b>	1.79	3.52
<b>Aminoácidos aromáticos</b>	4.68	6.08
<b>Proteínas</b>	10.1	12.7

**Tabla 8. PRODUCCIÓN DE SORGO EN MÉXICO  
(SARH, 1996)**

<b>AÑO</b>	<b>SUP.(ha) SEMBRADA</b>	<b>SUP.(ha) COSECHADA</b>	<b>RENDIM. (TON/ha)</b>	<b>PRODUCC. (TON)</b>
<b>1991</b>	1'915,717	1'817,741	3.289	5'978,162
<b>1992</b>	1'509,361	1'380,912	3.120	4'307,792
<b>1993</b>	1'936,456	1'855,226	3.416	6'337,453
<b>1994</b>	1'904,023	1'745,139	3.201	5'586,190
<b>1995</b>	2'724,533	2'639,023	3.344	8'824,882
<b>1996*</b>	2'720,354	2'430,521	3.192	7'758,213

\*Valor estimado

### **2.2.5 Usos**

En América Central, Asia y África, el sorgo ha adquirido gran importancia, sustituyendo al maíz como fuente alimenticia tanto en la alimentación del hombre como en la de los animales domésticos y en la industria. Los usos más comunes que le asigna la industria es para la fabricación de papel, fabricación de cerveza, malta de sorgo y en la industria de la fermentación. En la alimentación se utiliza para la producción de homeados y en repostería, en la preparación de bebidas como el *ogi*, *ugali*, *chapati* y tortillas. Para la elaboración de tortillas de sorgo puede ser usado solo o mezclado con el maíz. Las tortillas hechas de sorgo y mezclas de sorgo-maíz no son muy aceptadas, por el color y la astringencia, pero cuando el suministro de maíz es bajo, éstas son consumidas por la población.

### **2.2.6 Contenido de taninos y ácido fítico en cereales**

Los taninos son un grupo heterogéneo de compuestos con núcleos polifenólicos y algunos de ellos pertenecen al grupo de las catequinas, ya que poseen esta molécula en su estructura. Tienen un peso molecular mayor a 500. Los taninos pueden ser hidrolizados por la acción de enzimas dando como resultado moléculas de azúcar y ácido fenolcarboxílico.

El sorgo tiene un alto contenido de taninos condensados (alrededor de 5%) y estos compuestos son responsables de la depresión en el crecimiento de animales alimentados con granos que contienen taninos. Se han encontrado evidencias, en animales, sobre el efecto de los taninos: 1) Depresión del crecimiento, directamente proporcional al contenido de taninos, 2) Indisponibilidad de la proteína por la presencia de taninos, 3) Los taninos tienen la habilidad de precipitar alcaloides y pueden combinarse con las proteínas formando un complejo tanino-proteína. Este efecto también puede deberse a que los taninos interfieren con la acción digestiva de la tripsina y  $\alpha$ -amilasa y 4) Los taninos pueden formar complejos con la vitamina B<sub>2</sub> causando un decremento en la absorción de dicha vitamina en las ratas (Liener, 1980).

Además, desde el punto de vista nutricional, se ha demostrado que la presencia de taninos en el grano de sorgo en las variedades *pajareras*, reduce considerablemente el valor biológico del cereal cuando se alimenta a animales monogástricos. Esta disminución del valor biológico se debe básicamente a que los taninos presentan las reacciones clásicas de los fenoles, teniendo como característica esencial, la capacidad de precipitar alcaloides, gelatinas y otras proteínas, incluyendo las de la saliva. La astringencia detectada en el paladar cuando se ingieren taninos es causada por la precipitación de las proteínas salivales, lo cual provoca una reducción en su propiedad lubricante. Sin embargo, se ha demostrado que el tratamiento alcalino elimina parte de los taninos y mejora la digestibilidad *in vitro* y, por ende, la calidad del sorgo con alto contenido de taninos (González y col., 1984). El diagrama 3 ilustra el proceso de nixtamalización (Durán-de-Bazúa, 1988).

El uso del sorgo se ve limitado por su contenido de taninos o polifenoles, relacionándose éste con la coloración que presenta el grano; es decir, que a mayor contenido de taninos se tiene una coloración mayor.

En cuanto al ácido fítico, es un compuesto cíclico, es el éter hexafosfórico del ciclohexanol (ácido inositol hexafosfórico). Es un constituyente común de los cereales, leguminosas y oleaginosas. La presencia de grupos ácidos en su molécula facilita la formación de diversas sales debido a su actividad quelante con los iones metálicos (II) y (III), como el calcio, magnesio, zinc, cobre y hierro, con los que forma complejos poco solubles, los cuales no son absorbidos en el tracto intestinal. El ácido fítico se encuentra en concentraciones de 2 a 5 g/kg en cereales, leguminosas y oleaginosas (Mitjavila, 1990; Liener, 1980).

## 2.3 PROCESOS DE COCCIÓN

### 2.3.1 Nixtamalización

El maíz para consumo humano se procesa en México siguiendo una técnica precolombina conocida con el nombre de nixtamalización (del náhuatl *nextli*, cenizas de cal y *tamalli*, masa de maíz cocido). Es un proceso de lixiviación alcalina en caliente, en la que el área superficial para la transferencia de masa y calor es el factor limitante. Por ende, mientras mayor sea el área de transferencia, más eficaces serán los fenómenos

de transporte de iones calcio e hidroxilo y, como consecuencia de estos fenómenos, aumentarán las velocidades de las reacciones químicas (Durán-de-Bazúa, 1988).

Este proceso fue descrito por primera vez, de manera científica, por Illescas, en 1943 (referida en Atarcón-Chávez, 1985). Se mezcla una parte de maíz por tres partes de agua, adicionando cal entre 1.5% a 3.5%, en relación al peso del grano, se calienta la mezcla hasta 80°C por un tiempo que va desde 25 a 45 minutos y se deja en reposo durante 15 horas aproximadamente. Estos tiempos y temperaturas variarán dependiendo del tipo de maíz a nixtamalizar y de la región de México. Realizada la nixtamalización, el grano cocido se separa y se lava con proporciones de agua de 3 a 1 para remover el exceso de álcali y quitar el pericarpio; se muele en húmedo, obteniéndose la masa; posteriormente, se toman porciones de 25 g aproximadamente y se elaboran las tortillas en forma manual o mecánica; por último se cuece la tortilla en un comal a una temperatura aproximada de 200°C.

La industria molinera actual ha modificado el proceso tradicional con la finalidad de minimizar costos, reduciendo los períodos de cocción y reposo y la relación agua:grano o aumentando la relación cal:grano. Todos estos cambios han sido empíricos.

Durante el proceso tradicional de la nixtamalización para la elaboración de tortillas se utilizan grandes volúmenes de agua para el cocimiento y lavado del grano. Aproximadamente se utiliza en volumen una relación de 3 a 5 veces el peso del grano a nixtamalizar. El agua residual (*nejayote*) contiene del 6 al 8% de los sólidos secos iniciales del grano, que incluye parte del pericarpio, endospermo y germen del grano. Estas aguas normalmente se desechan a los ríos contaminándolos, creando problemas al medio ambiente (Durán de Bazúa, 1987). A este respecto se han realizado estudios para utilizarlo como sustrato para la fermentación microbiana y deshidratarlo, como alimento para aves ponedoras, quienes requieren de un alto suministro de calcio para elaborar el cascarón del huevo. El nejayote presenta un contenido de cenizas elevado debido al contenido de cal. Sin embargo, como alimento para ganado requeriría de un tratamiento previo para disminuir su alcalinidad (Almeida-Domínguez y Millán-León, 1986).

Durante el proceso de nixtamalización ocurren algunas reacciones importantes:

- Desnaturalización de proteínas del maíz, particularmente las glutelinas
- El tratamiento alcalino aumenta la disponibilidad de lisina y triptofano, dado que la mayor parte de los aminoácidos esenciales, para el hombre, se encuentra en la fracción de las glutelinas (Alarcón y col., 1985).
- El contenido de calcio en el grano nixtamalizado aumenta aproximadamente 4 a 5 veces con respecto al grano no tratado (640 y 140 mg/kg, respectivamente), esto aporta más del 50% de las necesidades nutritivas del calcio (Gómez y Aguilera, 1983).
- Durante la cocción y el reposo del maíz tienen lugar cambios físicos y químicos en el grano. Los cambios físicos facilitan la molienda ya que los granos suaves permiten que los molinos consuman menos energía. Los cambios químicos, tales como la gelatinización parcial de los almidones del endospermo y la desnaturalización de las proteínas del germen y el endospermo, resultan en una masa moldeable y fácil de manejar.

En lo que respecta a la utilización del sorgo como alimento para humanos, en México se han realizado estudios sobre este tema, basándose en que este grano, junto con el maíz, forma parte de la dieta de la población de escasos recursos.

A partir de 1975 se empezaron a elaborar tortillas nixtamalizando mezclas de maíz y sorgo en diferentes proporciones y empleando variedades de sorgo más prometedoras, desde el punto de vista agronómico (Durán-de-Bazúa, 1988).

Uno de los problemas asociados con la aceptación sensorial de las tortillas "extendidas" con sorgo es el de que utilizando mezclas mayores de la relación 15:85 de sorgo:maíz, el color y las características reológicas de las tortillas no eran comparables a las tortillas que sólo contenían maíz y por lo tanto eran rechazadas por el consumidor, en otros estudios realizados con sorgo decortinado o perlado, se planteó el uso de proporciones hasta de 40:60 de sorgo perlado:maíz en la producción de masas y harinas para tortillas sin que presenten modificación en las características molineras y sensoriales de los productos finales (Nieto y col., 1986).

### 2.3.2. Extrusión

Últimamente se ha dado gran importancia al proceso de cocción-extrusión en alimentos debido a las múltiples ventajas que presenta. Entre éstas se incluyen versatilidad, alta productividad, bajo costo y capacidad para producir alimentos de alta calidad.

De acuerdo a Smith (referida en Dziezak, 1989), el proceso de extrusión puede definirse como el proceso por **el cual, materiales como el almidón y/o la proteína humedecidos y factibles de expandirse, son "plastificados" en un tubo mediante la combinación de presión, calor y roce mecánico. Esto se traduce en temperaturas elevadas del producto dentro del tubo, gelatinización de las proteínas, alargamiento o reestructuración de las componentes tráciles y expansión exotérmica del material extrudible.**

El proceso de extrusión-cocción viene utilizándose en el campo de la industria de alimentos desde 1935, particularmente en procedimientos de elaboración que requieren cocción o gelatinización al mismo tiempo, así como en la preparación de cereales, alimentos pastosos, productos de confitería y suplementos proteínicos.

De acuerdo a experiencias anteriores, el efecto benéfico del proceso de extrusión en cuanto a eliminar o inactivar las sustancias antinutricias presentes en algunas materias primas de origen vegetal y el efecto resultante de mantener o aumentar la disponibilidad de los nutrimentos en la misma, están íntimamente ligados a los principios físicos y mecánicos de dicho proceso. Por supuesto, estos afectan el valor nutritivo del producto, que es la resultante de la ausencia de los factores antifisiológicos y de la disponibilidad de los nutrimentos.

La extrusión se utiliza en la elaboración de diversos productos, tales como pastas, cereales para desayuno, pan de miga, biscuits, triquitraques, alimentos tipo bocadillo, confitería, goma de mascar, proteínas vegetales texturizadas, almidones modificados, alimentos tradicionales, sopas secas y bebidas secas (Conway y col., 1968).

Los extrusores se pueden catalogar en tres tipos principales: extrusor de pistón, extrusor de cilindro y extrusor de tornillo. El extrusor de pistón es simple en su diseño,

usado principalmente para dar forma, consiste en un simple pistón o batería de pistones, los cuales depositan cantidades precisas de material en lo ancho del transportador. El extrusor de cilindro sólo es usado como trazador de formas. El extrusor de tornillo está equipado con un tornillo sinfin rotatorio que gira dentro de un cilindro que lo envuelve estrechamente. La materia a transportarse tiende a atascarse dentro de los pasos de la rosca; por lo tanto, la materia a extrudir sólo es transportada hacia la placa del cabezal en el espacio intermedio constituido por el borde superior de los álabes de la rosca y la superficie inferior del cilindro.

En términos generales tienen tres zonas de trabajo que surten diferentes efectos sobre el material a extrudir y que se extienden a lo largo de toda la rosca. Empezando por la caída de la materia prima en la tolva de alimentación hasta llegar a la placa de salida, conocida como boquilla o *dado* (por *die*, en inglés), dispuesto en el extremo anterior del extrusor, el material a elaborar recorre las siguientes zonas (Guerra, 1978):

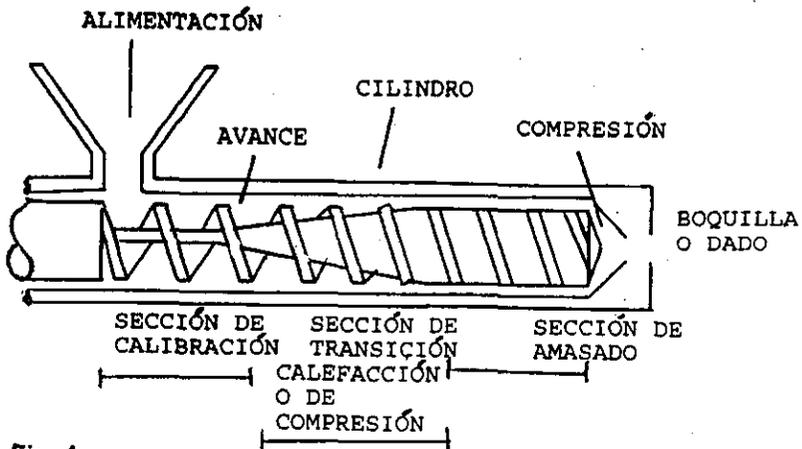
- a) Zona de alimentación de la materia prima, situada directamente debajo del depósito de abastecimiento.
- b) Zona de difusión o compresión, es el área en la cual la materia prima pasa a un estado plástico, creado por la combinación de la humedad de la materia prima sujeta a aumentos de presión considerables, debidos al aumento de la temperatura por el paso del material a través del espacio confinado entre los álabes del tornillo y la pared del tubo. La transferencia al estado fluidificado-plástico, da lugar a la gelatinización y/o desnaturalización de la materia amilácea y/o proteínica.
- c) Zona de bombeo o zona de dosificación. Se caracteriza en la primera parte por la disminución en la profundidad del espacio entre los alabes del tornillo y el tubo envolvente. La temperatura del material aumenta rápidamente por la fricción generada, alcanza un máximo, lo que promueve la cocción u otras modificaciones químicas del material y, finalmente, éste es forzado a bajar su temperatura en segundos al ponerse en contacto con el ambiente, lo que provoca la vaporización instantánea del agua que expande al material a la salida de la boquilla.

Este tipo de extrusor es el que se usará en la parte de metodología por lo que se describe más ampliamente.

Durante el proceso de cocción-extrusión, la fracción amilácea de los cereales sufre modificaciones en su estructura granular bajo ciertas condiciones. Estas manifestaciones son pérdida de birrefringencia, cambios de viscosidad, solubilidad y absorción de agua, cohesividad, susceptibilidad enzimática, afinidad a colorantes y otros, variando las propiedades del producto final (ver figura 4).

En lo que respecta a la extrusión del maíz y sorgo sobre la gelatinización del almidón, se encontraron diferencias en la absorción de agua, índice de solubilidad en agua y viscosidad de la pasta cocida (a 50°C), encontrándose valores menores para el sorgo con respecto al maíz, en condiciones similares de trabajo. Cheng (citada en Gutiérrez y Gómez, 1982) encontró que, durante la extrusión de sorgo, a medida que aumenta el contenido de humedad de alimentación, domina la reacción de gelatinización del almidón y que al disminuir el contenido de humedad, prevalece la reacción de dextrinización o de degradación del almidón.

En el diagrama 3 se muestra también el proceso de extrusión alcalina propuesto por Durán-de-Bazúa (1988).



**Fig. 4.**  
**ESQUEMA DE UN COCEDOR DE EXTRUSIÓN DE HUSILLO SIMPLE, ALTA TEMPERATURA Y ALTA VELOCIDAD**

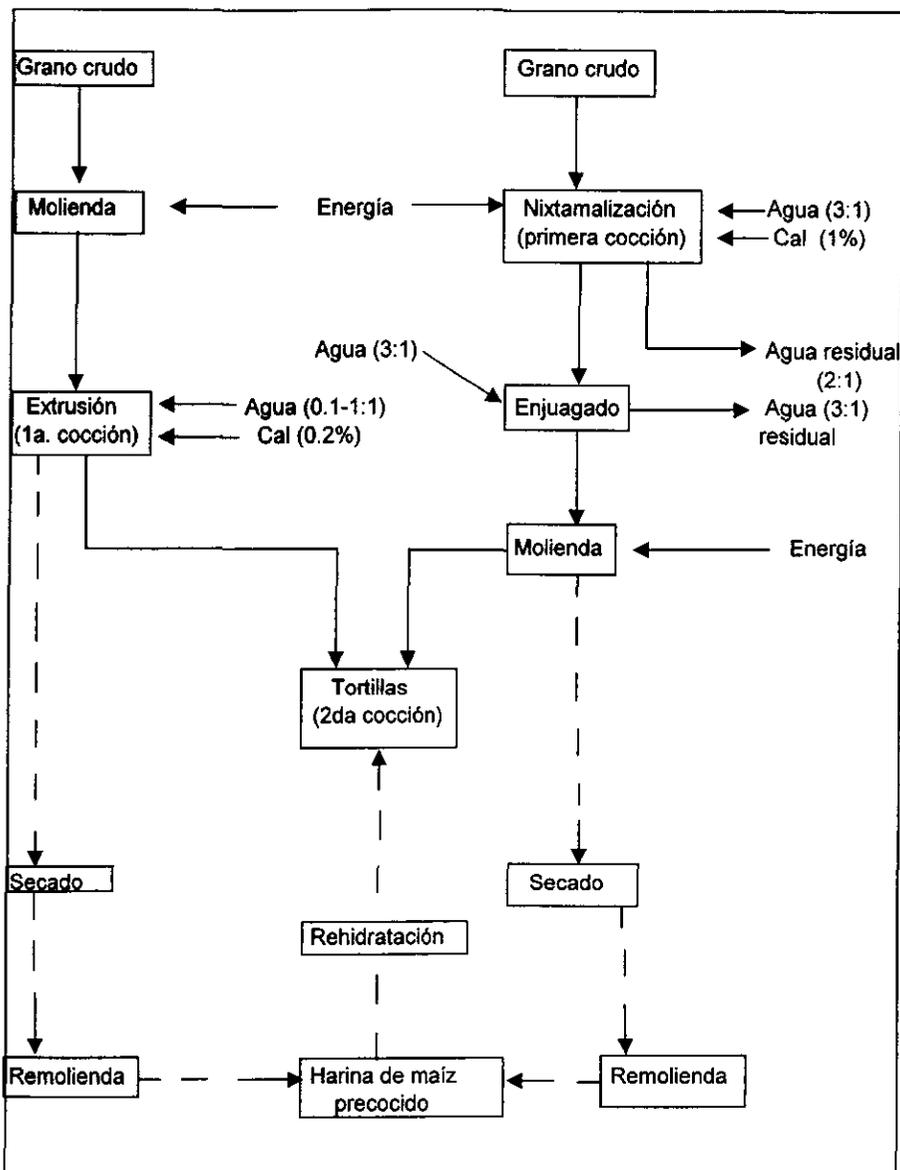


DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DE COMPARACIÓN DE LOS PROCESOS DE EXTRUSIÓN Y NIXTAMALIZACIÓN

## 2.4 CALCIO Y FÓSFORO

### 2.4.1 Introducción

Los elementos minerales de interés en nutrición y que constituyen una porción pequeña (4%) de los tejidos corporales (2.800 g) de un ser adulto, están distribuidos en los compartimentos extracelular (EC) e intracelular (IC). Estos minerales son esenciales como componentes formativos y se encuentran involucrados en muchos fenómenos vitales.

Si las necesidades del organismo son de 100 mg, o más, en cuanto a minerales se refiere, se les denomina macroelementos. En estas condiciones se encuentran el sodio, calcio, potasio, magnesio, cloro, fósforo y azufre. Los microminerales, oligoelementos o elementos traza son denominados así porque las necesidades del organismo humano están por debajo de 100 mg del peso corporal y entre estos están el hierro, yodo, zinc, cromo, selenio, cobre, manganeso, silicio, níquel y antimonio (Berthouly y Guerrier, 1980).

Una característica importante de los minerales y de sus compuestos, es que cuando se metabolizan liberan sus respectivos iones que son utilizados por el organismo. De esta manera, las necesidades son siempre iguales para la formación de tejidos nuevos o de crecimiento. Las recomendaciones para su ingestión tienen que tomar en cuenta también la biodisponibilidad, absorción intestinal e interacciones con otros nutrimentos que interfieren con su absorción (Roque-Carrazza, 1988).

En los alimentos naturales, los minerales se encuentran en varias formas, mezclados o combinados con proteínas, grasas y carbohidratos; los alimentos elaborados o refinados, como grasas, aceites, azúcar y almidón de maíz casi no contienen minerales.

La mayor parte de los alimentos que se han analizado con más frecuencia se refieren a sus contenidos de calcio, fósforo y hierro y, con fines terapéuticos los del sodio, potasio y magnesio, por ser minerales necesarios para el buen funcionamiento del cuerpo humano (Olson, 1985).

Las alteraciones en la concentración de minerales por pequeñas que sean, pueden ser mortales en algunos tipos de microorganismos. El mantenimiento de una concentración normal de minerales en los líquidos corporales es vital para el individuo.

Los minerales, por ejemplo el yodo, cobre y otros elementos minoritarios esenciales para la vida, pueden encontrarse abundantemente en el agua potable en algunas zonas o en alimentos cultivados en dichas áreas, en tanto que en el suelo y en el agua de otras partes se presentan en forma deficiente. Otros elementos minerales, como el sodio, potasio, cloro, azufre y magnesio, necesarios en la nutrición humana, se encuentran distribuidos en forma abundante en los alimentos y por ello sus deficiencias son poco probables (Anderson y Dibble, 1980).

En este capítulo se tratará de explicar las características principales del calcio y fósforo, sus recomendaciones y fuentes naturales.

#### **2.4.2 Distribución y absorción intestinal**

Al lado del sodio y el cloro, el calcio y los fosfatos inorgánicos son los nutrientes minerales que el organismo humano requiere y consume en mayor cantidad. Ambos minerales ejercen a la vez las funciones plásticas y reguladoras.

De los 1,200 g de calcio que existen aproximadamente en el cuerpo adulto, el 99% está combinado en forma de sales que dan dureza a los huesos y a los dientes.

El 1% de calcio restante se distribuye en el espacio extracelular y dentro de las membranas de las células y sus organelos. En los individuos normales, la concentración de calcio en el plasma sanguíneo se mantiene dentro de los límites de 2.25 a 2.75 mmol/L o de 9 a 11 mg/dL. Aproximadamente el 40% del calcio sanguíneo se encuentra unido a proteínas, en particular a seroalbúmina y la mayor parte de la fracción ultrafiltrable restante se encuentra en estado iónico, que es la forma fisiológicamente activa y como complejo con ácidos orgánicos e inorgánicos como citrato, fosfato y sulfato cálcicos (Casanueva y col., 1995).

En el caso de los fosfatos, estos corresponden también al 1% del peso corporal o a 1/4 del contenido mineral del cuerpo. Cerca del 85% del fósforo se encuentra con el calcio en forma inorgánica como apatita insoluble en dientes y en huesos, por lo que su relación ideal con el calcio es de 2:1. En los demás tejidos, los fosfatos forman parte de moléculas complejas y éstas se ven involucradas en procesos básicos de metabolismo energético. En la sangre, los fosfatos existen en tres formas principales: inorgánica, esterificada y lipídica. Los fosfatos esterificados se encuentran principalmente confinados a los eritrocitos y la tercera fracción a los fosfolípidos (Anderson y Dibble, 1980; Ramos-Galván, 1985).

En lo que respecta a la absorción de calcio, como ya se mencionó en la introducción, ésta es mayor en la etapa de crecimiento, embarazo y lactancia. En las mujeres, después de los 40 años puede desarrollarse cierta osteoporosis debido a los factores ya antes mencionados.

Cuando hay una deficiencia severa de calcio se puede producir una hipocalcemia que se manifiesta con tetania y convulsiones, y cuando hay un consumo de calcio arriba del normal, se manifiesta con anomalías óseas que presenta una absorción continua del exceso de calcio, provocando un engrosamiento de la corteza ósea dando como resultado el fenómeno de osteopetrosis.

El principal factor en la regulación de la cantidad de calcio que se absorberá, es la necesidad del cuerpo. Los adultos, los cuales reciben una dieta que cubre los requerimientos que van de 450 a 500 mg/día, absorben aproximadamente el 30% del calcio que contiene su dieta. La absorción de alimentos individuales puede variar del 10 al 40%. Solo el 25 al 30% del calcio ingerido se absorbe en el intestino delgado, teniendo mayor absorción el de origen animal que el que proviene de fuentes vegetales, del que buena parte es insoluble. La presencia de lactosa favorece la absorción y un exceso de grasa la reduce.

En sujetos normales a medida que aumenta el aporte de calcio, disminuye la proporción que es absorbida, la cual aumenta cuando disminuye el aporte de calcio como efecto de adaptación. La fracción no absorbida, sumada al calcio secretado (calcio endógeno) se pierden en la materia fecal.

Las sales de calcio son más solubles en solución ácida y, por tanto, la mayor parte de la absorción se presenta en el duodeno. Una vez que se han mezclado la bilis y el jugo pancreático con el quimo, la solubilidad de las sales de calcio y por lo tanto su solubilidad se reducen considerablemente. En las personas mayores puede haber una absorción reducida a causa de la aclorhidria, ésta se produce cuando el estómago deja de secretar ácido clorhídrico. La ausencia de ácido clorhídrico significa que no hay acción de la pepsina y, por lo tanto, no hay digestión gástrica. Al aumentar la motilidad del tracto gastrointestinal, también disminuye el porcentaje de absorción (Casanueva y col., 1995).

En el transporte activo a través de la barrera mucosa del intestino, interviene una proteína específica que es la proteína ligadora de calcio (PLCa), que se encuentra en la superficie de las microvellosidades intestinales y debido a ésta se realiza el movimiento transcelular de calcio y fosfatos inorgánicos. La biosíntesis de la PLCa en la mucosa intestinal, que no tiene lugar en las variadas entidades en que prevalece una deficiencia de calciferol, constituye una etapa crítica para el paso de calcio desde el lado luminal de la célula de la mucosa intestinal a la superficie serosa, donde al parecer se intercambia por sodio. Este es naturalmente el prerrequisito para que pueda ocurrir la mineralización esquelética, o sea la principal función del 1,25-dihidroxicalciferol (Casanueva y col., 1995).

Muchos factores dietéticos promueven o interfieren la absorción de calcio. La vitamina D, por ejemplo, facilita la entrada de calcio a las células mucosas y también mejora la absorción en el duodeno. Cuando el organismo no recibe suficiente radiación solar puede obtener calciferol ingiriéndolo como vitamina D, ya sea la D<sub>3</sub> procedente casi siempre de peces (colecalfiferol) o la D<sub>2</sub> (ergocalciferol), de origen vegetal. La absorción de calcio aumenta con las dietas altas en proteínas, quizá debido a la influencia de aminoácidos específicos, especialmente *lisina, serina y arginina* (Norman, 1991).

En contraste con el calcio, la concentración de fosfatos en el plasma sanguíneo y en la orina varía con la ingestión. Por tanto, su absorción intestinal es más eficaz que la del calcio. Esto puede indicar que es mucho menor la proporción de fosfato que se excreta por heces y mucho mayor, en cambio, la fracción que se elimina por la orina. Debido a la difusibilidad casi total de los fosfatos inorgánicos del plasma sanguíneo, todos ellos son filtrados por el glomérulo renal; 90% se absorbe en los túbulos proximales. Cuando su concentración plasmática es inferior a 8 mmol/L (2.5 mg/dL),

virtualmente desaparece de la orina. Es ésta, la que en forma preponderante, se ve regulada por la hormona paratiroidea, ya que su retroabsorción de fosfatos permite que se excrete el 90% de la carga filtrada. Este mecanismo proporciona un excelente proceso de homeostasis, ya que permite que la ingestión de fosfatos varíe entre límites muy amplios, sin que se presenten hipo o hiperfosfatemia. En el recién nacido, particularmente en el prematuro, este proceso de regulación es incompleto, lo que explica en parte la tendencia de estos niños a presentar hiperfosfatemia y tetania cuando se les alimenta con leche de vaca, caracterizada por su gran contenido en fosfatos inorgánicos (Norman, 1991).

La regulación metabólica se realiza mediante un complejo sistema endócrino en el que intervienen tres hormonas, las glándulas paratiroides, la calcitonina y los metabolitos activos del calciferol. Se piensa que la absorción de los fosfatos acompaña en forma pasiva a la del calcio, la que opera en contra de un gradiente electroquímico y requiere de energía metabólica; es decir, que se trata de un transporte activo.

Los principales reguladores de la absorción del fósforo son los metabolitos hormonales que actúan independientemente de la parathormona; en cambio, esta misma hormona que también es capaz de activar la absorción de calcio en el intestino, si requiere de 1,25-dihidrocolecalciferol (Ramos Galván, 1985; Roque-Carrazza, 1988; Icaza y Béhar, 1981).

El ácido oxálico, el ácido fítico, el exceso de grasa y de fosfato, reducen la absorción de calcio a causa de la formación de complejos insolubles con este elemento. El exceso de calcio en la dieta disminuye la absorción y la utilización de los otros minerales como son el zinc, magnesio, yodo, manganeso y cobre. Por otro lado, el ácido fítico es un compuesto orgánico fosfatado, que se encuentra en las capas exteriores de los granos de los cereales, se enlaza al calcio formando un complejo insoluble y que no es absorbido, pero su efecto solamente sería importante si los cereales de grano entero constituyeran una de las partes principales de la dieta y también la ingestión de calcio fuera baja (Heaney, 1991; Norman, 1991)

### 2.4.3 Funciones fisiológicas del calcio y del fósforo

Por lo que se refiere a las funciones del calcio y el fósforo, las sales óseas o constituyentes inorgánicos del hueso están integradas por pequeños cristales de fosfato cálcico en forma de hidroxiapatita  $3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{Ca}(\text{OH})_2$  y fosfato de calcio no cristalino o amorfo.

Los cristales de hidroxiapatita son pequeños, lo que le permite tener una vasta área de superficie donde pueden intercambiar iones rápidamente. La fracción intercrystalina es más soluble y sus elementos pueden retornar a la sangre mediante el proceso de solución.

El tamaño de los cristales aumenta al llegar la edad madura igual que la proporción entre calcio y fósforo que, en condiciones normales, da una relación calcio-fósforo, en peso, que apenas se desvía de 2:1, respectivamente.

El mismo organismo sintetiza y resorbe hueso constantemente. En los niños, la síntesis ósea está controlada por la actividad de los osteoblastos (células productoras de la sustancia blanca del hueso). Ésta es mayor que la resorción (células destructoras del hueso), también regulada por los mismos osteoblastos.

Por otra parte, los cambios esqueléticos observados frecuentemente en la senectud se producen cuando prevalece la resorción y disminuye la cantidad absoluta del hueso (se presenta la osteoporosis). En el adulto normal ambos procesos se equilibran: la calcificación o mineralización y la desmineralización dependen de la concentración de calcio y fósforo en la sangre, de los líquidos extracelulares y del funcionamiento normal de las células de la matriz ósea, de las cuales entran y salen de 600 a 700 mg de calcio diariamente (Anderson y Dibble, 1980).

Los huesos también proporcionan las reservas de calcio a la circulación, de manera que la concentración en el plasma pueda mantenerse constante en todo momento. Los valores normales de calcio plasmático en el adulto es de 2.22 a 2.57 mmol/L (8.9 a 10.3 mg/dL). Aproximadamente, 40 a 45% del plasma total, constituye la fracción infiltrable unida a proteína; el 60% restante corresponde a la fracción ultrafiltrable. Ésta comprende el calcio ionizado que representa el 40 al 50% del calcio total. El restante 5 o 10%, está en forma de complejo con los citratos, sulfatos y oxalatos.

El 1% del calcio restante en el adulto está distribuido en los fluidos corporales donde lleva a cabo varias funciones como catalizador para la conversión de la protrombina a trombina, siendo éste uno de los varios pasos en la coagulación de la sangre; aumenta la permeabilidad de las membranas celulares; activa varias enzimas proteolíticas; tiene una función en la transmisión de los impulsos nerviosos y está relacionado directamente a la contracción muscular. En ausencia de calcio, los músculos pierden su capacidad de contraerse (Roque-Carrazza, 1988).

En el caso del fosfato, como ya se mencionó anteriormente, la mayor proporción se encuentra en huesos y dientes (88% en el adulto), en los demás tejidos, los fosfatos forman parte de moléculas complejas y principalmente se ve involucrado en los procesos básicos del metabolismo energético.

En la sangre, los fosfatos existen en tres formas principales: inorgánica, esterificada y lipídica. En contraste con la calcemia, los fosfatos inorgánicos del plasma sanguíneo varía entre límites amplios, su concentración basal es más elevada durante la niñez, particularmente en los dos primeros meses de vida, que en la edad adulta. Las concentraciones de fosfato inorgánico varían de acuerdo con su ingestión con los alimentos. Al parecer, los fosfatos hacen las veces de comodín dentro de los mecanismos que preservan el equilibrio electroquímico de los líquidos orgánicos. Es un componente esencial de los ácidos nucleicos, de los fosfolípidos que forman las membranas celulares, además de participar en varias enzimas (Ramos-Galván, 1985; Anderson y Dibble, 1980).

#### **2.4.4 Fuentes naturales y requerimientos nutricios**

Las principales fuentes de calcio son la leche de distintas especies, habitualmente empleada en la alimentación humana, el pescado seco y las pequeñas especies acuáticas que se ingieren con el esqueleto, como es el caso del charal, también los son los acociles y gusanos de maguey. En el grupo de los vegetales que contienen calcio se citan a los que se considera que cerca del 10% de su peso está formado por carbohidratos digeribles, hay algunos que tienen calcio en mayor cantidad que otros. Tal hecho ocurre con la malva, bleo, chipilín, epazote, hoja de chaya, papaloquelite, hierba mora y quelite. Otras semillas, como son el ajonjolí contienen 1,210 mg Ca/100 g; la avellana 285 mg Ca/100 g y la almendra, 325 mg Ca/100 g. También

son de importancia el frijol con 230 mg Ca/100 g, el maíz con 159 mg Ca/100 g, la tortilla con 100 a 125 mg Ca/100g y la yema de huevo con 137 mg Ca/100 g (Berthouly y Guerrier, 1980; Greger, 1986).

En lo que respecta a las necesidades alimenticias de calcio, se presentan en el último trimestre de gestación con una rápida mineralización del feto. Al nacer, el contenido de calcio en el esqueleto, es alrededor de 700 mmol (28 g). En los siguientes 20 años de crecimiento del ser humano, el hueso acumula cerca de 20,000 mmol (800 g) de calcio, cuya retención diaria es extremadamente variable.

Alrededor de los 25 años, el ser humano ha acumulado cerca de 1,300 g de calcio en su organismo. Posteriormente la cantidad promedio de calcio retenida por día hasta la edad adulta es de 150 mg. Después de los 35 años se inicia la desmineralización ósea, estimada en los primeros 5 años alrededor de 2 mmol/día. En esta fase hay un aumento significativo de la excreción urinaria de calcio y disminución de la absorción intestinal, llevando a un balance negativo de calcio (Berthouly y Guerrier, 1980).

Durante la gestación, según recomendaciones de la FAO la ingesta diaria de calcio debe ser de 1,200 mg/día. Los lactantes, niños y adolescentes presentan mayores necesidades por unidad de masa corporal.

En América Latina, la ingesta dietética recomendada de calcio se presenta en la tabla 9, ésta fue elaborada considerando las ingestas recomendadas para las poblaciones de Bolivia, Chile, Colombia, Guatemala, Panamá, México y Venezuela.

**Tabla 9. VARIACIÓN DE INGESTA DE CALCIO RECOMENDADAS PARA DIFERENTES GRUPOS ÉTNICOS DE PAÍSES SELECCIONADOS DE AMÉRICA LATINA (Roque-Carrazza, 1988)**

<b>GRUPOS (AÑOS)</b>	<b>INGESTA DIÉTETICA RECOMENDADA (mg/día)</b>
<b>Niños (1 a 2)</b>	450 a 600
<b>Adolescentes (13 a 17)</b>	600 a 700
<b>Adultos (26 a 29)</b>	450 a 500
<b>Mujeres (65 a 69)</b>	450 a 500
<b>Gestación (23 a 30)</b>	+300 a 500
<b>Lactación (23 a 30)</b>	400 a 750

FUENTE: Nutr. Abstr. Reviews, 53:1075-1098, 1983.

PAÍSES: Bolivia, Chile, Colombia, INCAP, México, Venezuela.

Los fosfatos son un componente tan común en los órganos y tejidos animales y vegetales que su carencia en la alimentación prácticamente no se observa. Los principales alimentos con alto contenido de fósforo son las aves, carnes, huevos y peces. Las carnes y pescados, presentan un contenido de fósforo de 15 a 20 veces mayor comparado con el contenido de calcio en estos dos alimentos; el huevo, granos y frijoles presentan un buen contenido de fósforo, con una relación de calcio/fósforo = 0.5; la leche y sus derivados, legumbres, cereales y granos, conforme a su contenido de fitatos puede perjudicar la absorción de calcio, hierro, zinc y cobre. La mayor parte del fósforo de la leche es inorgánico, en los vegetales y en la carne la forma más común en que se encuentra el fósforo es en forma orgánica (Roque-Carrazza, 1988; Ramos-Galván, 1985).

Las necesidades de fósforo, excepcionalmente son mencionadas en las dietas normales. Las ingestiones diarias de fósforo, estimadas para niños de la región de Sao Paulo, Brasil, mostraron ser adecuadas para diferentes edades y diferentes grupos socioeconómicos, variando de 800 a 1,380 mg/día. Las cantidades de fósforo recomendadas para lactantes debe estar basada en la ingestión de leche humana con una relación de calcio:fósforo = 2. Evidencias de orden práctico soportan hasta una relación de Ca/P de 1.5, hasta el final del primer año de vida y posteriormente de 1:1.2 (Roque-Carrazza, 1988).

#### **2.4.5 Deficiencias y toxicidad**

El organismo absorbe, en promedio de 20 a 40% del calcio y 70% del fósforo que recibe. Estas se absorben en el intestino para después pasar a la sangre y de esta manera, quedar en forma utilizable. Las concentraciones absorbidas pueden aumentar durante periodos de crecimiento rápido, en que las necesidades de minerales son muy altas.

En las regiones donde la ingesta de calcio es baja, provoca deficiencia de calcio con hipocalcemia, que generalmente se manifiesta en el esqueleto, acompañado con alteraciones óseas tales como la osteoporosis, raquitismo, osteomalasia. En los jóvenes se manifiesta como raquitismo y en los adultos, la enfermedad se denomina

osteomalasia. En ambos casos, los huesos se vuelven blandos y con frecuencia se deforman debido a una falla en la calcificación de la matriz cartilaginosa.

La condición clínica más común que provoca estados de deficiencia de calcio e hipocalcemia, es la falta de vitamina D, que trae como consecuencia la utilización deficiente del calcio dietético, aún cuando el nivel de calcio en la dieta sea el apropiado. La deficiencia aguda de calcio no puede observarse a menos que también exista una falta de fósforo. Esta deficiencia conduce a un crecimiento deforme y al raquitismo, como se evidencia por el arqueamiento de las piernas, el engrosamiento de los tobillos, de las muñecas y el pecho hundido, en los humanos.

Una ingestión alta en fósforo también crea problemas, aunque se mantengan los niveles de calcio al nivel normal, ya que produce anomalías óseas, aparición de tetania en lactantes durante la primera semana de vida debido a la ingestión de leche de vaca con alto contenido de fósforo. Éste puede ser uno de los principales factores para que se presente la osteoporosis.

Greger y Krystofiak (1982), observaron en estudios hechos a roedores, perros y caballos, que los altos niveles de fósforo, especialmente en dietas con bajos niveles de calcio, presentan un efecto adverso en el esqueleto y en el metabolismo del calcio. También observaron que aumentan los niveles de la hormona paratiroides en suero e incremento de la excreción de AMP cíclico en la orina.

La osteoporosis es una enfermedad relacionada con la nutrición y la salud que afectan a personas de edad madura; ésta es más común en mujeres que en hombres y está caracterizada por la reducción en la densidad del hueso. El esqueleto humano tiene su máxima densidad de hueso durante la mitad de la tercera década de la vida y mantiene estos niveles por aproximadamente 20 años. En las mujeres comienza a disminuir la densidad del hueso en la menopausia y continúa a una razón de 0.5 a 1.0% por año hasta el final de la vida. Esta disminución de la densidad del hueso afecta tanto a los huesos trabeculares como a los huesos corticales. La frecuencia de fracturas de la vértebra, fémur proximal y radio distal, es proporcional a la rápida disminución de la densidad del hueso trabecular (Heaney, 1991).

Esta disminución de la densidad del hueso ocurre como resultado del incremento de la resorción de éste (actividad osteoclástica). La primera anomalía en la osteoporosis aparece cuando se incrementa la resorción del hueso. La etiología de esta

anormalidad es desconocida, pero los factores de riesgo pueden ser identificables. Los factores de riesgo pueden ser los siguientes:

- Deficiencia de calcio.
- Deficiencia de estrógeno ocasionado por la menopausia normal o quirúrgica.
- Inadecuada cantidad de vitamina D.
- Falta de ejercicio.
- Delgadez (los lipocitos pueden producir estrógenos).
- Consumo de alcohol.
- *Excesivo consumo de café.*
- Alta ingesta de fibra.
- Alta ingesta de proteína.

En vista de que el estrógeno está involucrado en la homeostasis del calcio, el decremento en la síntesis de estrógeno después de la menopausia contribuye a la rápida disminución de calcio en el hueso (Bidlack y col., 1986).

La absorción de calcio disminuye al avanzar los años hasta la edad adulta; parece que este fenómeno está relacionado con la disminución de 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D, debido a la falta de actividad de la enzima 1- $\alpha$ -hidrolasa, provocando manifestaciones óseas. La hipocalcemia puede originar un cuadro de hiperexcitabilidad neuromuscular, representada por el espasmo carpopodal, espasmo de laringe, dolores musculares, tumores, tetania y convulsiones (Roque-Carrazza, 1988).

Toma y Curtis (1986), encontraron en estudios realizados en humanos y animales, que una dieta alta en fibra provoca una disminución en la absorción del calcio. Observaron que el factor calcio-proteína, es esencial para el transporte del calcio dentro del intestino, obstruyéndose la absorción de calcio por la erosión parcial de la superficie epitelial, debida a la ingesta alta de fibra. Este estudio se realizó utilizando ratas Wistar y administrándoles dietas con un contenido de fibra hasta de un 10%, y con una duración de 7 a 8 semanas. Se encontró en un estudio post-mortem, un significativo decremento del contenido de calcio en el hueso, mientras que en el suero de la sangre los niveles de calcio disminuyeron ligeramente.

Belizán y col. (1982), en observaciones epidemiológicas experimentales que realizaron en animales de laboratorio, encontraron una asociación inversa entre la ingesta de calcio y las cifras de la tensión arterial. Se determinó que el aumento de la permeabilidad al calcio en las células del músculo liso, se traduce en un aumento en la concentración intracelular del mismo y produce un aumento en la respuesta de dichas células. El ingreso del calcio estimularía la liberación del calcio del retículo sarcoplásmico al sarcoplasma, aumentando así su concentración e iniciando la respuesta mecánica. Por lo tanto, en situaciones que llevan a una disminución de calcio del organismo, se produce un aumento de la secreción de la paratohormona con el consiguiente aumento del calcio intracelular e incremento de la reactividad vascular. Lo inverso sucedería al aumentar la ingesta de calcio.

Por otra parte, el tiempo de coagulación sanguínea se encuentra influenciado por el calcio. Sustancias como el oxalato, el citrato y la EDTA, se utilizan comúnmente para prevenir la coagulación de la sangre *in vitro* y estos mismos compuestos, si se administran en grandes cantidades forman sales con el calcio *in vivo* e interfieren con la coagulación sanguínea.

Estudios realizados con perros y ratas alimentados con dietas deficientes en calcio, presentaron hemorragias masivas (Church y Pond, 1987).

En lo que respecta a la toxicidad de calcio, no existen informes de intoxicación aguda por este elemento, pero su ingestión crónica en exceso de las necesidades metabólicas se manifiesta con anomalías óseas que se pueden considerar manifestaciones de intoxicación. La tendencia hacia la hipercalcemia se presenta como consecuencia de la absorción continua del exceso de calcio, la cual estimula la producción de calcitonina en la glándula tiroides. Esto conduce a la formación de un exceso de material óseo conocido como osteopetrosis.

El exceso de fósforo en la dieta trae como resultado un hiperparatiroidismo secundario nutricional, que se manifiesta por una resorción ósea excesiva, que puede producir cojera y fractura espontánea de los huesos largos. Las dietas ricas en fósforo disminuyen la absorción intestinal de calcio, del calcio plasmático y retención de calcio en caballos (Greger y Krystofiak, 1982).

Las relaciones de calcio-fósforo, que se encuentran encima de 1:2, pueden producir una osteodistrofia fibrosa en los animales adultos y en crecimiento. El fósforo en cantidades altas tiene un efecto laxante, de modo que los excesos en la dieta producen diarrea, acompañada de una pérdida fecal elevada de fosfato, lo mismo que otros nutrimentos (Church y Pond, 1987).

## **2.5 PRUEBAS BIOLÓGICAS**

La calidad de las proteínas de un alimento depende del patrón de aminoácidos presentes en el alimento y la biodisponibilidad de éstos. Los aminoácidos esenciales tienen que ser ingeridos en la dieta o por otras fuentes. Estos son necesarios desde el crecimiento hasta la edad adulta, aunque son más necesarios en las etapas de anabolismo como son los años de infancia hasta la etapa preescolar, durante el embarazo, la lactancia y en la recuperación de alguna enfermedad. Considerando todos los métodos biológicos que pueden ser usados para la evaluación de la calidad de las proteínas, que se basan en mediciones directas o indirectas de la retención de nitrógeno en el organismo, estos se pueden agrupar en dos categorías:

- Métodos de crecimiento como son: Relación de eficiencia proteica (REP), Relación neta de proteína (RNP) y Valor proteico relativo (VPR).
- Métodos de balance de nitrógeno: Digestibilidad aparente (DA), Digestibilidad verdadera (DV), Utilización neta proteica (UNP) y Valor biológico (VB).

Los ensayos más ampliamente usados han sido el valor biológico, utilización neta de proteínas y la relación de eficiencia proteica. En general, todos los métodos biológicos miden la calidad de las proteínas, controlando la cantidad de éstas, ya que son un factor limitante.

El método REP fue introducido por Osborne y col. (1919), como un método numérico que expresa el aumento de peso en animales experimentales. Este método ha sido severamente criticado como medidor de la calidad de la proteína, debido a que la estimación del valor nutritivo obtenido depende de la calidad del alimento consumido y no toma en consideración otros nutrimentos o las necesidades proteicas para el mantenimiento de las células. Los factores que afectan el método son: la edad inicial del

animal, peso, raza y sexo, así como el nivel de proteína de la dieta y tiempo de experimentación. Sin embargo, dada la simplicidad, se sigue usando.

Con base en estos fundamentos, a continuación se presenta el procedimiento experimental seguido para alcanzar el objetivo y las metas planteados, en el primer capítulo.

### 3. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

#### **Muestras:**

El presente trabajo se realizó con un lote de maíz blanco de variedad desconocida, ya que se adquirió en una bodega de la "Central de Abastos" de la Ciudad de México, D.F., y un lote de sorgo blanco de genotipo Istmeño donado por ICRISAT y LASIP (International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics and the Latin American Sorghum Improvement Program). Este último se seleccionó de color blanco, ya que se sabe que tiene un contenido de taninos casi nulo. Los lotes fueron almacenados hasta su uso en refrigeración a 5°C, aproximadamente.

El tamaño de los lotes fue de 30 kg de muestra. A los granos mencionados se procedió a caracterizarlos física y químicamente en las instalaciones de la Facultad de Química de la UNAM, edificio B, en el laboratorio 201, al igual que el proceso de nixtamalización, determinación de taninos y contenido de ácido fítico. El proceso de extrusión se realizó en las instalaciones del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos del Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán".

La determinación del contenido de calcio, se realizó por el método de absorción atómica, en las instalaciones de la Facultad de Química de la UNAM, en el Departamento de Química Analítica de la División de Estudios de Posgrado.

#### **3.1 Caracterización física de los granos**

La finalidad de esta caracterización es la de determinar las características morfológicas y pruebas que determinan la calidad del grano.

Durante el almacenamiento y transporte, los granos y semillas están expuestos a sufrir daños causados por insectos, hongos y roedores, ya que éstos se encuentran en el estado óptimo de humedad, temperatura y alimentación para su desarrollo. Por ello es necesario conocer las condiciones en que se encuentran los granos y semillas efectuando análisis físicos, los cuales permiten conocer los factores que intervienen en la conservación y calidad de los granos almacenados.

Para la caracterización de los granos, se procedió a homogenizar todo el lote (en este caso 30 kg de maíz blanco y 30 kg de sorgo blanco), después de lo cual se tomaron muestras en diferentes puntos de cada uno de los lotes, en total 3 muestras representativas de cada lote de aproximadamente 2 kg. Las tres muestras se homogenizaron y se colocaron en una superficie plana para efectuar el método del cuarteo, el cual consiste en trazar una línea y dividirla en 4/4, de los cuales se eliminan los 2/4 opuestos. Se repite la operación mezclando los dos cuartos restantes hasta obtener una muestra de 1 kg de grano como muestra representativa. Esta muestra representativa es utilizada para hacer las pruebas físicas y químicas de los granos.

A continuación se dan las referencias de las técnicas utilizadas para la caracterización física del grano (Tabla 10).

**Tabla 10. TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN FÍSICA DE GRANOS**

<b>DETERMINACIÓN</b>	<b>REFERENCIA</b>
<b>Peso hectolítrico</b>	S.A.R.H./I.N.I.A., Td-17, 1985
<b>Densidad relativa</b>	S.A.R.H./I.N.I.A., Td-17, 1985,
<b>Peso del grano</b>	S.A.R.H./I.N.I.A., Td-17, 1985
<b>% de granos dañados</b>	D.G.N.-F-362-1988 y NOM-FF-38-1982
<b>% de impurezas</b>	D.G.N.-F-362-1988 y NOM-FF-38-1982

S.A.R.H. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos  
 I.N.I.A. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas  
 D.G.N. Dirección General de Normas

### 3.2 Caracterización química de los granos

Como los alimentos se manejan en grandes cantidades, requieren para su análisis métodos sencillos y baratos. Generalmente se emplea una marcha analítica que cumple con estos requisitos y que logra cuantificar de manera aproximada los principales grupos de nutrimentos que componen un alimento.

Estos grupos son: humedad, cenizas, proteína cruda, grasa cruda o extracto etéreo y fibra cruda. Los carbohidratos se calculan por diferencia.

Para este análisis se siguieron las técnicas recomendadas por la A.O.A.C. y cuyas referencias se enuncian a continuación.

**Humedad.-** Es indispensable conocer la humedad de la muestra para darle un valor real a la cantidad de los otros componentes; por otro lado, el dato de humedad está relacionado con la edad y el estado de conservación de la muestra. Según A.O.A.C. Proc. 930.15 (1990).

**Cenizas.-** Las cenizas incluyen todos los compuestos inorgánicos fijos de la muestra, tanto los originales como los de contaminación. El valor de las cenizas puede considerarse como una medida general de la calidad y a menudo es un criterio útil para determinar el índice de adulteración. Ref. del A.O.A.C. Proc. 942.05 (1990).

**Proteína cruda.-** Las proteínas y demás materia orgánica son oxidadas por el ácido sulfúrico, el nitrógeno que se encuentra en forma orgánica se fija como sulfato de amonio. Al hacer reaccionar esta sal con una base fuerte se desprende amoníaco que se destila y se recibe en ácido, el cual es titulado. Ref. del A.O.A.C. Proc. 954.01 (1990).

**Grasa cruda o extracto etéreo.-** La grasa cruda se obtiene por extracción de los lípidos con éter etílico, por lo que también se denomina extracto etéreo. Ref. del A.O.A.C. Proc. 920.39c (1990).

**Fibra cruda.-** La fibra cruda es la fracción orgánica de la muestra que resiste un tratamiento alternado de  $H_2SO_4$  y NaOH hirvientes al 1.25%. El compuesto más abundante de este residuo es la celulosa y, en menores cantidades, hemicelulosas, ligninas y pentosanos. Ref. del A.O.A.C. Proc. 962.09 (1990).

### 3.3 Procesamiento de los granos

Después de la homogenización y selección que se les aplicó a los granos, se procedió a someterlos a los procesos de nixtamalización y extrusión, para después proceder a la elaboración de las dietas (diagramas 5 y 6).

Se tomaron 5 kg del grano en cuestión o mezcla de estos para cada proceso efectuado, posteriormente fueron secados en un secador de charolas al vacío (J:P: Devine Co.) bajo las siguientes condiciones: presión de vapor (103.4 kPa), vacío de la cámara 20 kgf/cm<sup>2</sup> y una temperatura máxima en el interior de la cámara de 70°C por un lapso de tiempo de 7 h en el caso de los granos nixtamalizados y de 2 h en el caso de los granos extrudidos, hasta reducir su contenido de humedad de 16 hasta un 10%, aproximadamente. Los lotes a procesar fueron: harinas de maíz 100% (M 100%), sorgo 100% (S 100%) de los procesos de extrusión y nixtamalización y dietas de las mezclas de harinas sorgo-maíz (40%-60% respectivamente) nixtamalizadas y extrudidas. Las harinas obtenidas se estandarizaron a una humedad de  $\pm 10\%$ .

### 3.3.1 Nixtamalización

Para el proceso de nixtamalización, se tomó en cuenta el descrito por Durán-de-Bazúa (1988), diagrama 5, utilizando las siguientes condiciones: una proporción de agua-grano de 3:1, tiempos de cocción de 20 minutos, tiempos de reposo de 16 h aproximadamente y un porcentaje de Ca(OH)<sub>2</sub> entre 0.5 y 1.5% siendo estos porcentajes los óptimos descritos por Saldaña-Morales (1987), tanto para sorgo, maíz y mezclas de los dos granos, dependiendo de su dureza.

Los lotes de granos ya nixtamalizados (5 kg del grano o mezcla de estos) se lavaron, se dejaron escurrir por 90 minutos aproximadamente y se deshidrataron en un secador de charolas al vacío por aproximadamente 8 h o hasta obtener un 8 o 10% de humedad aproximadamente. Después se procedió a la molienda de cada muestra en un molino tipo CeCoCo. para laboratorio. Las harinas resultantes se estandarizaron a una humedad de  $\pm 10\%$ , para evitar problemas de contaminación durante su almacenamiento, ya que no fueron utilizadas inmediatamente después de ser elaboradas. Los lotes se etiquetaron y almacenaron en el refrigerador, a 4°C para la posterior elaboración de las dietas.

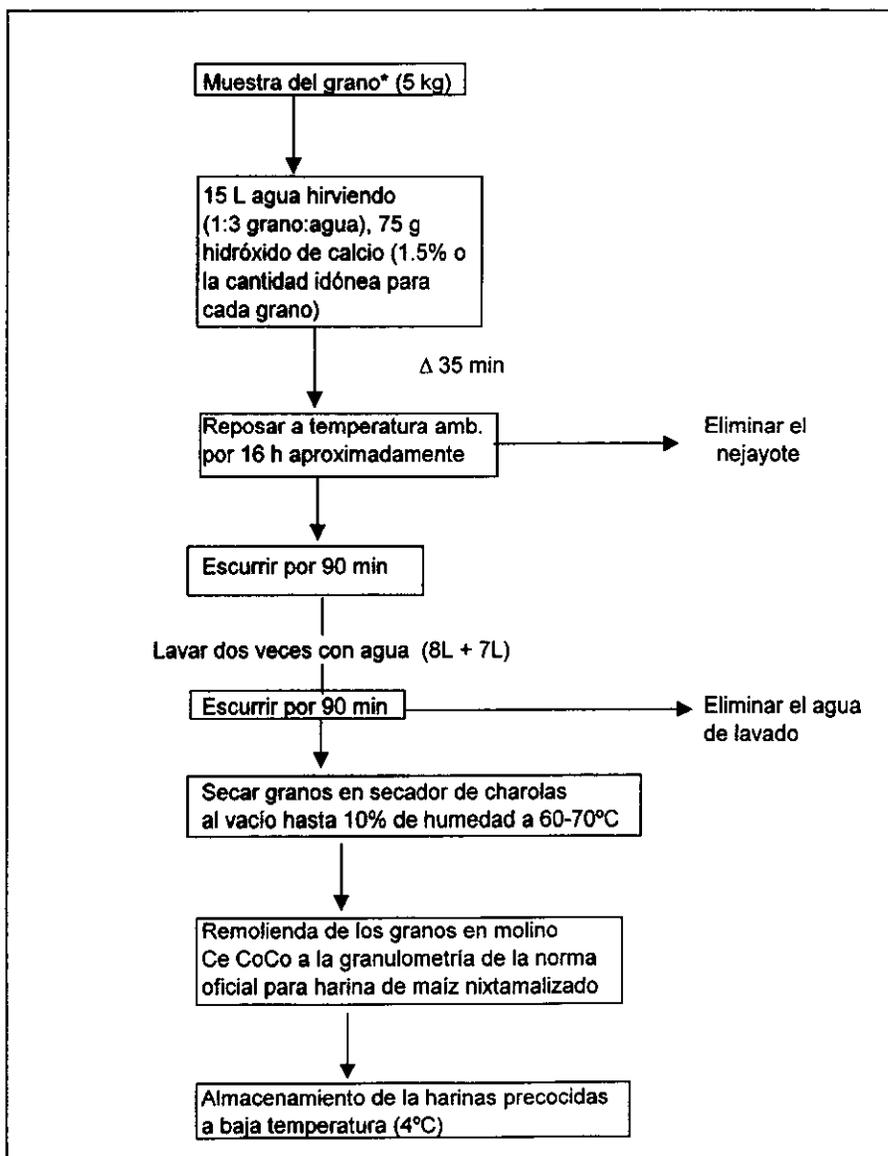
### **3.3.2 Extrusión**

Los granos a procesar, primero, fueron molidos en un molino CeCoCo, hasta una granulometría de malla 20. Las harinas obtenidas fueron acondicionadas con un 5% (p/p) de aceite comestible, se ajustó el contenido de humedad entre 18 a 20% con ayuda de un aspersor y se homogenizó perfectamente con un mezclador de polvos en forma cúbica construido para el laboratorio del Departamento de Alimentos y Biotecnología. A estas harinas además se les adicionó 0.3% de hidróxido de calcio (p/p) para una relación 0.2:1 de cal-grano.

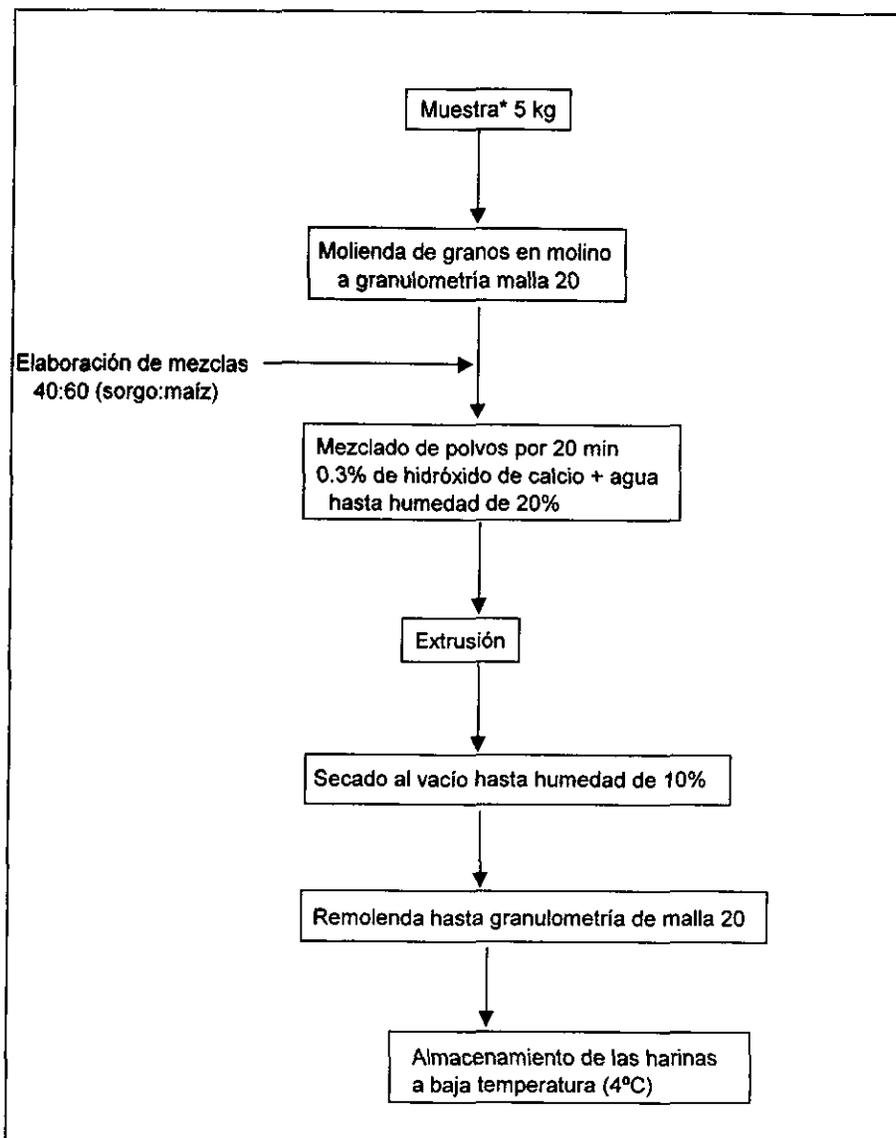
Posteriormente, las harinas obtenidas, fueron refrigeradas a 4°C para no alterar el contenido de humedad y que mantuviesen las mismas condiciones hasta que fueran extrudidas. El equipo que se utilizó para este proceso, fue un extrusor Wenger, modelo No. 65100-1 para laboratorio, el cual está dividido en 7 secciones y tiene un sistema externo de intercambio de calor, que consiste en una cámara de agua caliente y fría alrededor del barril para controlar la temperatura del extrusor, con una relación longitud-diámetro de 10:1 y un tornillo de álabes combinados. La velocidad del tornillo fue de 720 rpm, la temperatura a la salida del extrusor fue de 120 a 140°C y con una humedad final del 13 al 15% aproximadamente. El tiempo de residencia de la harina dentro del extrusor fue de aproximadamente 2 minutos medidos desde la alimentación hasta la salida del producto a través de la boquilla del extrusor.

El producto extrudido obtenido se sometió a una remolienda en un molino CeCoCo. hasta granulometría de malla 20, posteriormente estas harinas fueron secadas hasta una humedad del 10% para evitar problemas de contaminación posteriores. En el diagrama 6 se esquematizan los pasos seguidos en el proceso de extrusión.

Diagrama 5 **DIAGRAMA DE FLUJO DEL PROCESO DE NIXTAMALIZACIÓN**



\* Muestras: Maíz, sorgo, mezcla maíz-sorgo



\* Muestras: Maíz, sorgo, mezcla sorgo-maíz

### **3.4 Determinación del contenido de taninos**

Esta determinación se realizó para saber el contenido real de taninos, ya que imparten astringencia a los alimentos como ya se mencionó en la introducción. La determinación del contenido de taninos en las muestras, se realizó por el método de formación del complejo azul de Prusia. Los taninos son capaces de reducir el cloruro férrico a cloruro ferroso y éste reacciona con el ferricianuro de potasio formando el complejo ferricianuro férrico de potasio, conocido como azul de Prusia soluble. La determinación se realizó según el método de Price and Butler (1977). Los resultados se presentan en equivalentes de catequina (ver apéndice A).

### **3.5 Determinación del contenido de ácido fítico**

El contenido de ácido fítico se determinó utilizando el método descrito para la determinación colorimétrica que permite cuantificar concentraciones de hasta 3 mg/mL de ácido fítico en el extracto. El ácido fítico es precipitado con una solución ácida de Fe (III) de concentración conocida. El decremento de hierro (determinado colorimétricamente con 2,2'-bipiridina) en el sobrenadante, es una medida indirecta del contenido del ácido fítico en la muestra. Este método es una modificación del método original descrito por Young en 1936 (en Haug y Lantzsch, 1983) (ver apéndice A).

### **3.6 Determinación de calcio por el método de absorción atómica**

Esta determinación fue realizada en el Departamento de Química Analítica de la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Química. Los análisis se efectuaron en un equipo Perkin-Elmer y las técnicas utilizadas son las descritas en el manual *Analytical Methods for Atomic Absorption Spectrophotometry* (Perkin-Elmer, 1982); de acuerdo al apéndice A.

### **3.7 Relación de eficiencia proteínica (REP)**

Para la prueba biológica de la REP se utilizaron ratas blancas Wistar, machos, recién destetadas, de 21 días de nacidas, con un peso entre 40 a 50 g, obtenidas de la colonia del Bioterio de la Facultad de Química de la UNAM.

Cada lote estaba formado por grupos de 6 ratas, las ratas se agruparon por el método de la "Culebra Japonesa" y la suma de sus pesos no fue mayor de 5 g entre

lotes (Osborne y col., 1919). Posteriormente, los animales se colocaron en jaulas individuales, de piso levantado, en un cuarto con temperatura controlada de 16 a 24°C y humedad relativa de 45 a 65%, períodos de iluminación de 12 horas y oscuridad de 12 horas. El experimento duró 4 semanas (28 días) durante los cuales se registró el alimento ingerido diariamente y el peso de los animales se registró cada tercer día. Las ratas fueron alimentadas con las dietas y agua en cantidades ad libitum.

### **Dietas**

Las dietas fueron preparadas con base en los requerimientos necesarios para obtener una dieta isoproteica e isocalórica que proporcione los nutrimentos y las cantidades apropiadas de éstos, para el buen funcionamiento y desarrollo del organismo animal (NAS/NRC, 1995)[tabla 11]. Éstas fueron preparadas tanto con las muestras nixtamalizadas como con las muestras extrudidas, de los dos cereales y las mezclas de estos. Para la elaboración de las dietas, se tomaron en consideración los resultados obtenidos en el análisis proximal, dándonos un máximo de proteína en las dietas del 8%.

El nivel de proteína que se utiliza para la REP es de 10%, pero en este trabajo debido al contenido de proteína de los cereales, las dietas tenían en promedio 8% de proteína; por ello se introdujo otra dieta control de caseína con un porcentaje de proteína del 8% (Nieto y Durán-de-Bazúa, 1988).

La variable a estudiar en este trabajo fue la del efecto de la variación de los requerimientos de calcio en las harinas experimentales después de un tratamiento térmico alcalino (extrusión y nixtamalización). Para tal fin, se elaboraron dietas experimentales con 100% de sorgo y maíz respectivamente y mezclas de ellos, en una relación de 60:40 maíz:sorgo. Las variaciones de concentración de calcio, estudiadas fueron de 0, 33, 66 y 100% de los requerimientos de Ca probados para las ratas. Para el caso del sorgo no se elaboraron dietas con 0% de concentración de calcio, por lo que no se tienen resultados para esta concentración. Esto obedeció al hecho de que se esperaba tener resultados negativos a priori, debido a experimentos previos realizados (Alarcón-Chávez, 1985).

Tanto la cantidad de hidróxido de calcio adicionada para el tratamiento térmico alcalino como la cantidad de calcio que se manejó a la adición de las dietas, no fueron exactas por lo que se determinó la cantidad real de calcio que se tuvo al final de las dietas ya preparadas. Este parámetro se determinó por absorción atómica, con el fin de

poder realizar una verdadera comparación de la relación Ca/P y su efecto en las ratas con los diferentes tipos de dietas tanto de maíz, como de sorgo y mezclas de estos dos cereales, tratando de mantener constante el contenido de fósforo. En la tabla 11 se presentan las dietas a preparar y las proporciones de calcio agregadas teóricamente.

**Tabla 11. PROPORCIONES TEÓRICAS DE CALCIO  
A ADICIONAR A LAS DIETAS**

<b>DIETAS</b>	<b>% de Ca, calculado y adicionado con respecto a sus requerimientos en las dietas después del tratamamiento térmico alcalino</b>
<b>Maíz nixtamalizado (MN)</b>	
MN (cocido con agua solamente)	0
MN	33
MN	66
MN	100
<b>Maíz extrudido (ME)</b>	
ME (extrudido sin cal)	0
ME	33
ME	66
ME	100
<b>Sorgo extrudido (SE)</b>	
SE (extrudido sin cal)*	0
SE	33
SE	66
SE	100
<b>Sorgo nixtamalizado (SN)</b>	
SN (cocido con agua solamente)*	0
SN	33
SN	66
SN	100
<b>Maíz60-40 sorgo nixtamalizado (MSN)</b>	
MSN (cocido con agua solamente)	0
MSN	33
MSN	66
MSN	100
<b>Maíz60-40 sorgo extrudido(MSE)</b>	
MSE (extrudido sin cal)	0
MSE	33
MSE	66
MSE	100

\*Es necesario mencionar que no se realizaron estudios de sorgo extrudido y nixtamalizado con 0% de adición de Ca, ya que se tiene antecedentes que el sorgo no es suficiente como alimento y de acuerdo a resultados, antes de terminar la prueba biológica los animales en estudio, la mayoría mueren

En la tabla 12 se ejemplifica la formulación de las dietas de prueba y control para obtenerlas isocalóricas e isoproteicas.

**Tabla 12. DIETA PURIFICADA PARA LAS RATAS NAS/NRC (1995)**

<b>MATERIALES</b>	<b>PORCENTAJE (p/p)</b>
Mezcla de vitaminas <sup>1</sup>	1
Mezcla de minerales <sup>2</sup>	4
Aceite de maíz <sup>3</sup>	5
Fibra cruda (celulosa) <sup>4</sup>	2
Harinas experimentales	88 (para dar 8% de proteína)

(1) La mezcla de vitaminas (Teklad test diet, Madison, EEUUA), proporciona las vitaminas activas necesarias para las ratas, cuando se añaden en una proporción del 1% a las dietas (tabla 13). (2) La mezcla de minerales de Roger y Harper (NAS/NRC, 1995), se describe en la tabla 14. Sin embargo, para estos experimentos se modificó, adicionando cada sal en forma individual para cada dieta, tomado en cuenta que se iba a variar la cantidad de calcio añadida a un 0, 33, 66 y 100% de sus requerimientos y adicionar una fuente diferente de fósforo que no contuviera calcio en la formulación (tablas 14a y 14b). (3) La adición de aceite de maíz, con una fuente natural, se hizo para proporcionar las calorías requeridas (de 4 a 4.5 Mcal/kg) y así obtener una dieta isocalórica de acuerdo a los requerimientos de las ratas (NAS/NRC, 1995) (4) La adición de fibra, en este caso como celulosa, se hizo para tener una dieta equilibrada, ya que debe contener un porcentaje adecuado (en este caso del 2%) de este nutrimento (NAS/NRC, 1995).

Las tablas 13, 14, 14a y 14b, presentan la composición de vitaminas, los requerimientos esenciales, composición de los minerales para el crecimiento y reproducción de las ratas, respectivamente, además de las diferentes concentraciones de Ca que se realizaron para elaborar las dietas.

**Tabla 13. COMPOSICIÓN DE VITAMINAS**

(Mezcla de vitaminas "Teklad Test Diet", NAS/NRC, 1995)

<b>VITAMINAS</b>	<b>CANTIDAD</b>
Mg/kg de dieta	
Ácido p-aminobenzoico	110.229
Ácido ascórbico	1017.520
Pantotenato de calcio	66.137
Vitamina B (0.1% en metanol).	29.762
Citrato de colina	3715.123
Ácido fólico	1.984
i-inositol	110.229
Menadiona	49.603
Ácido nicotínico	99.206
Clorhidrato de piridoxina	22.045
Riboflavina	22.045
Clorhidrato de tiamina	22.045 UI
Vitamina A seca (500 000 U/g)	1984.100 UI
Vitamina D seca (500 000 U/g)	220.400 UI
Acetato de vitamina E	12.120 UI

**Tabla 14. REQUERIMIENTOS DE NUTRIMENTOS ESTIMADOS PARA EL CRECIMIENTO Y REPRODUCCION DE LAS RATAS (NAS/NRC, 1995)**

Nutriemento	Crecimiento	Reproducción
<b>Minerales</b>		
Calcio g	5.0	6.3
Magnesio g	0.5	0.6
Fósforo g	3.0	3.7
Potasio g	3.6	3.6
Sodio g	0.5	0.5
Cobre mg	5.0	8.0
Hierro mg	35.0	75.0
Manganeso mg	10.0	10.0
Zinc mg	12.0	25.0
Iodo mg	150.0	150.0
Molibdeno mg	150.0	150.0
Selenio mg	150.0	400.0
<b>Vitaminas</b>		
A (retinol) mg	0.7	0.7
D (colecalciferol) mg	0.025	0.025
E (RRR- $\alpha$ -Tcoferol) mg	18.0	18.0
K mg	1.0	1.0
Biotina (d-biotina) mg	0.2	0.2
Colina (base libre) mg	750.0	750.0
Ácido fólico mg	1.0	1.0
Niacina (ácido nicotínico) mg	15.0	15.0
Pantotenato mg	10.0	10.0
Rivoflavina mg	3.0	4.0
Tiamina mg	4.0	4.0
B <sub>6</sub> (piridoxina) mg	6.0	6.0
B <sub>12</sub> mg	50.0	50.0

**Tabla 14a. COMPOSICIÓN DE MINERALES**

MINERAL	27g/kg de DIETA
Fosfato bicálcico	5.72
Cloruro de sodio	7.14
Cloruro de potasio	3.72
Sulfato de magnesio	4.50
Fosfato monobásico de potasio	3.03
Sulfato ferroso	1.64
Sulfato de manganeso	0.019
Sulfato de cobre	0.010
Óxido de zinc	0.030
Sulfato de cobalto	0.020
Yoduro de potasio	1.200
Total	27.00
se adicionan los 27 g a 1 kg de dieta para cubrir los requerimientos de las ratas	

**Tabla. 14b MINERALES PESADOS EN g/kg dieta PARA LAS DIFERENTES CONCENTRACIONES DE LOS REQUERIMIENTOS DE Ca**

	100% req. Ca	66% req. Ca	33% req. Ca	0% req. Ca
Fosfato bicálcico	5.72	3.79	1.88	---
Cloruro de sodio	7.14	7.14	7.14	7.14
Sulfato de magnesio	4.50	4.50	4.50	4.50
Sulfato de manganeso	0.019	0.019	0.019	0.019
Sulfato de cobre	0.010	0.010	0.010	0.010
Óxido de zinc	0.030	0.030	0.030	0.030
Sulfato de cobalto	0.020	0.020	0.020	0.020
Ioduro de potasio	1.20	1.20	1.20	1.20
Fosfato de Na monobásico	-----	1.92	3.83	5.72
Cloruro de potasio	3.72	3.72	3.72	3.72
Sulfato ferroso	1.64	1.64	1.64	1.64
Fosfato de K monobásico	3.03	3.03	3.03	3.03
Total de minerales	27	27	27	27

Como ya se mencionó, de acuerdo al análisis proximal de las harinas se formularon las dietas, quedando como se muestra en la tabla 15.

**Tabla 15. DIETAS FINALES EXPERIMENTALES**

Celulosa	1.83% para dar 2%.
Vitaminas	1.0% para dar 1.0%
Aceite de maíz	4.43% para dar 5.0%
Harina del cereal problema	La necesaria para dar 8.0% de proteína en la dieta
Minerales	Se varió el % de Ca, según la dieta (tabla 13b).

Las dietas de referencia o control se prepararon de acuerdo a la formulación presentada en el tabla 16, como ya se mencionó. Todas las dietas y el agua, se proporcionaron a los animales *ad libitum*.

**Tabla 16. COMPOSICIÓN DE LAS DIETAS PURIFICADAS O CONTROL (CASEÍNA)**  
(NAS/NRC, 1995)

<b>MATERIAL</b>	<b>8% Proteína</b>	<b>10% Proteína</b>
<b>Mezcla de vitaminas</b>	1.0	1.0
<b>Mezcla de minerales</b>	4.0	4.0
<b>Aceite de maíz</b>	5.0	5.0
<b>Proteína (caseína)</b>	la necesaria para dar 8% de proteína	la necesaria para dar 10% de proteína
<b>Celulosa</b>	2.0	2.0
<b>Almidón</b>	Requerido para ajustar al 100%	

Los datos registrados durante el experimento fueron: peso del alimento consumido diariamente, peso de los animales en forma individual, cada tercer día. Al final del ensayo biológico (28 días) se determinó la REP experimental para cada uno de los lotes, lo que permitió obtener los valores promedio. La REP experimental se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\text{REP experimental} = \text{Peso ganado en gramos} / \text{Proteína ingerida en gramos}$$

Además se obtuvo el valor de REP ajustado al 2.5 para caseína para poder comparar los resultados experimentales con los reportados en la literatura. Este valor se calculó de la siguiente manera:

$$\text{REP ajustado} = \text{REP exp.} \times \text{REPcaseína (referencia)} / \text{REPcaseína(experimental)}.$$

El valor de REP reportado en la literatura (N.A.S./N.R.C., 1995) para caseína es igual a 2.5, en nuestros estudios, tanto el valor de la REP para caseína al 8% de proteína como al 10%, nos dan valores mayores, es por eso que se ajusta para poder comparar con los datos de la literatura.

Todos los resultados fueron analizados estadísticamente por los métodos de t de student y variancia. Este último es una técnica estadística que, con base al principio de t de student, permite estudiar si existe diferencia significativa entre la media de las calificaciones asignadas a más de dos muestras. En este caso se realizó para el nivel de dos vías, donde se explica la diferencia entre dos variables. Además se aplicó la prueba de diferencia mínima de Fisher (DMS), la cual calcula un factor equivalente a la distancia mínima permisible que una muestra puede alejarse de otra (Daniel, 1982; Pedrero y Pangborn, 1989).

En el siguiente capítulo se presentan los resultados obtenidos en este trabajo y se discuten los resultados para establecer el posible efecto del ión calcio adicionado, en ocasiones, en exceso durante la preparación de tortillas, tanto en México como en Centroamérica.

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se presentan los resultados y discusión de los mismos de los experimentos realizados.

Como se mencionaba en el capítulo anterior, las siglas utilizadas en este trabajo para cada lote de granos o mezcla de granos estudiado y los contenidos reales de Ca se presentan en la tabla 4-1.

**Tabla 4-1 CONTENIDO DE CALCIO EN LAS MUESTRAS DE CADA DIETA**  
(g Ca/100 g muestra)

Muestras	Ca inicial antes del tratamiento térmico-alkalino	Ca después del tratamiento térmico-alkalino	Ca final en las harinas usadas en las dietas	% de Ca real en las dietas elaboradas
<b>Maíz crudo</b>	<b>0.027</b>	--	--	<b>6.58</b>
<b>ME 100% Ca</b>			<b>0.806</b>	<b>196.58</b>
ME 66% Ca			0.219	53.41
ME 33% Ca			0.193	47.07
ME 0% Ca		0.152	0.152	37.07
<b>MN 100% Ca</b>			<b>0.952</b>	<b>232.19</b>
MN 66% Ca			0.302	73.65
MN 33% Ca			0.256	62.44
MN 0% Ca		0.222	0.222	54.14
<b>Sorgo crudo</b>	<b>0.057</b>	--	--	<b>13.90</b>
<b>SE 100% Ca</b>			<b>0.411</b>	<b>100.24</b>
SE 66% Ca			0.297	72.43
SE 33% Ca			0.214	52.19
SE 0% Ca**		0.200	0.200	48.78
<b>SN 100% Ca</b>			<b>0.845</b>	<b>206.00</b>
SN 66% Ca			0.670	163.41
SN 33% Ca			0.646	157.56
SN 0% Ca**		0.314	0.314	76.58
<b>MSE 100% Ca</b>			<b>0.824</b>	<b>200.97</b>
MSE 66% Ca			0.710	173.17
MSE 33% Ca			0.207	50.48
MSE 0% Ca		0.185	0.185	45.12
<b>MSN 100% Ca</b>			<b>0.864</b>	<b>210.70</b>
MSN 66% Ca			0.560	136.58
MSN 33% Ca			0.485	118.29
MSN 0% Ca		0.361	0.361	88.05
<b>Requerimientos de Ca en ratas*</b>		-----	<b>0.410*</b>	<b>100</b>

\* FUENTE: Fundamentos de nutrición alimentación de animales (Church y Pond, 1987)

\*\*Estas dietas no fueron introducidas en la prueba PER, ya que el sorgo como única fuente de alimentación no es suficiente por los factores antifisiológicos que contiene el grano, tales como los taninos y también a que se sabe que las ratas mueren antes de terminar el experimento (Alarcón-Chávez, 1985)

En el tabla 4-2 se muestran los resultados correspondientes al análisis físico de los granos.

**Tabla 4-2 CARACTERIZACIÓN FÍSICA DE LOS GRANOS DE MAÍZ BLANCO CRIOLLO Y SORGO BLANCO TIPO ITSMEÑO**

	<b>MAÍZ BLANCO</b>	<b>SORGO BLANCO</b>
<b>Granos rotos %</b>	1.3	0.3
<b>Granos dañados %</b>	14.6	2.3
<b>Granos extraños %</b>	-----	---
<b>Impurezas %</b>	27.6	0.6
<b>Peso hectolítrico (kg/100 L)</b>	78.5	85.42
<b>Peso grano (g/100 granos)</b>	329.3	27.3
<b>Densidad relativa (g/mL)</b>	1.71	1.02

Se obtuvo para el maíz blanco un índice de granos rotos relativamente bajo, como se observa en el cuadro, lo que habla que se tuvo un buen manejo dentro del intervalo de la post-cosecha. En lo que respecta a las impurezas y granos dañados, estos presentaron un porcentaje elevado, lo cual indica que los granos durante su cultivo tuvieron daños causados por factores climatológicos, ya sea por presencia de lluvias, viento, heladas, granizo o cualquier otro factor climático, que impidieron que el grano se desarrollara adecuadamente, además de un mal tratamiento en la selección del grano. No se presentaron granos de otra variedad ni de otra especie. En el caso del sorgo blanco se obtuvieron valores menores, indicando un sorgo mejor tratado y de mejor calidad.

El peso hectolítrico y densidad relativa están definidas por una relación peso/volumen, cuyo cociente depende directamente del peso del grano; esto es, a mayor peso del grano, mayor será el cociente que defina la relación. Las densidades relativas están sujetas a variaciones, según el modo en que el grano se asiente dentro del envase. En lo que respecta a los resultados obtenidos del peso hectolítrico, en el caso del maíz al igual que el sorgo, el valor menor indica que el grano tuvo un tiempo mayor de almacenamiento.

El peso del grano contenido en un volumen dado (densidad relativa o en masa) es una propiedad importante en relación con el almacenamiento. La densidad relativa a sus valores comerciales son de 0.65 a 0.78 g/mL para el sorgo y de 0.64 a 0.75 g/mL para el maíz. Los valores experimentales fueron arriba de los reportados comercialmente. Este valor da un índice del rendimiento harinero de los cereales que,

para este trabajo, como los dos valores fueron mayores, indica la presencia de granos de la misma especie pero de diferente variedad.

En lo que respecta al porcentaje de granos dañados, los resultados indican que el tratamiento y almacenamiento llevado en cada cereal fue distinto, ya que para el maíz este valor es alto. Al contrario con el valor del sorgo, que fue menor, indica una mejor selección del grano y un buen tratamiento post-cosecha.

En general, puede decirse que los granos en estudio presentaron para el maíz, una baja calidad en términos de comercialización. Para el caso del sorgo, se observa una mejor calidad, debido a que es una variedad cosechada y manejada por expertos de ICRISAT-LASIP.

En el tabla 4-3 se presentan los resultados correspondientes a la composición química de los dos cereales (los valores están reportados en base seca).

Para el caso del maíz crudo, el valor de proteína obtenido fue de 9.67% Para las muestras nixtamalizadas y extrudidas, se observa una pérdida de proteína mayor, en el caso de la harina nixtamalizada que en la extrudida (8.32 y 9.3% respectivamente). Se observa el mismo comportamiento para el sorgo.

El valor obtenido de grasa cruda fue ligeramente mayor comparado con el valor de la bibliografía (en ambos casos, crudo). Esto puede deberse al tipo de variedad de maíz de que se trate, ya que siendo de origen desconocido, su composición química varía. En el caso de las muestras de maíz y sorgo extrudidos, se observa un ligero aumento en el valor obtenido, debido a la adición de aceite antes de ser extrudida la muestra.

Los resultados de carbohidratos, en ambos cereales, están dentro de los reportados en la bibliografía.

De acuerdo a los resultados obtenidos para el sorgo referente a la composición química, los valores obtenidos en cenizas y fibra cruda fueron mayores al valor reportado bibliográficamente, debido quizá a la variedad de sorgo estudiada, ya que lo reportado en la literatura son promedios de variedades, a excepción del sorgo nixtamalizado.

La proteína presenta un valor experimental mayor comparado con el valor de la bibliografía. Para la humedad, el valor experimental fue ligeramente menor, lo que indica que el sorgo estuvo por algún tiempo en almacenamiento.

Para los dos cereales se tiene que, en el tratamiento de extrusión hubo menor pérdida de nutrimentos que en el tratamiento de nixtamalización.

Una vez que se caracterizaron los granos, tanto física como químicamente, se procedió a nixtamalizar y extrudir los granos. Para determinar el efecto de la cocción, tanto en la extrusión como en la nixtamalización, sobre algunas sustancias tóxicas presentes en el sorgo y presumiblemente en el maíz, se determinó el contenido de taninos antes y después de los diferentes tratamientos térmico-alkalino.

**Tabla 4-3. ANÁLISIS QUÍMICO DEL MAÍZ Y SORGO (BASE SECA)**

	<b>MAÍZ %</b>				<b>SORGO %</b>			
	Crudo	nixtam.	ext.	Bibliog.* crudo	Crudo	nixtam.	ext.	Bibliog.** crudo
<b>Cenizas</b>	1.11	1.03	1.82	1.7	2.09	1.48	1.78	1.5
<b>Proteína cruda</b>	9.67	8.32	9.30	11.9	11.09	9.84	10.20	8.2
<b>Grasa cruda</b>	6.48	6.26	6.49	5.6	3.43	2.57	3.87	3.8
<b>Fibra cruda</b>	1.91	1.50	2.40	3.1	1.13	0.56	0.76	0.7
<b>Carbohidratos</b>	80.83	82.89	79.99	85.8	82.24	85.55	83.39	85.9

\* Chávez y col., 1992

\*\* Ershow y Wong-Chen, 1990

En la tabla 4-4 se presentan los resultados obtenidos de taninos expresados como equivalentes de catequina por 100 g de muestra.

**Tabla 4-4. CONTENIDO DE TANINOS (eq. de catequina/100 g muestra)**

<b>MUESTRAS DE HARINAS</b>	<b>MAÍZ</b>	<b>SORGO</b>	<b>MEZCLA M-S (60:40)</b>
<b>NIXTAMALIZADAS</b>	0.018	0.026	0.043
<b>EXTRUDIDAS</b>	0.013	0.036	0.050
<b>CRUDAS</b>	0.048	0.045	0.064

Los resultados obtenidos para los taninos indican que la extrusión y la nixtamalización tienen un efecto negativo sobre el contenido de taninos, ya que en ambos tratamientos los valores se ven disminuidos. Esto es benéfico ya que al disminuir el contenido de taninos se podría obtener un mejor valor nutritivo de las harinas. La disminución puede deberse a la descomposición de los taninos por el efecto del

calentamiento al que se somete a las harinas y al elevado pH, debido a la adición de hidróxido de calcio o bien, al complejo tanino-proteína que se podría formar durante el tratamiento térmico-alkalino, tanto en la nixtamalización como en la extrusión (las temperaturas que alcanzan estos dos procesos es de 90°C para el proceso de la nixtamalización y de 120 a 140°C para la obtención de las harinas extrudidas).

Se observó un menor contenido de taninos en las harinas nixtamalizadas para el sorgo y la mezcla M-S (60:40) debido a que el tratamiento térmico alcalino genera aguas residuales en las que se pueden lixiviar estos compuestos químicos, así como en los lavados, lo que provocaría una mayor pérdida de taninos, comparado con las muestras extrudidas y las que no tuvieron tratamiento alcalino, sino que solo se cocieron en agua.

Tomando en consideración el porcentaje perdido de taninos, teniendo como el 100% a las harinas crudas, se tiene que la pérdida de taninos durante los tratamientos térmicos fue mayor en el maíz, seguida del sorgo y, finalmente, en la mezcla de los dos cereales, el porcentaje de pérdida fue menor (maíz 62.5 y 73%, sorgo 42.33 y 20% y mezcla M-S 32.8 y 21.87%, nixtamalizado y extrudido, respectivamente). De los resultados del análisis estadístico de los datos, se encuentran diferencias significativas entre las muestras crudas y las muestras con tratamiento térmico alcalino (nixtamalizadas y extrudidas), lo cual confirma que la pérdida de este compuesto durante los diferentes tratamientos a los cuales se sometieron los granos es significativa, habiendo una mayor diferencia en las muestras de maíz (ver apéndice B, Tabla B-2 ).

El cereal en el cual se esperaba encontrar un alto contenido de taninos por los antecedentes que se tienen, era el sorgo, pero en los datos experimentales, el sorgo crudo presentó un contenido de taninos expresados como equivalentes de catequina menor que el maíz, debido probablemente al tipo de sorgo utilizado, de variedad blanca, que tiene un contenido bajo de taninos según referencias bibliográficas (Khan y col., 1980; Jiménez-Aparicio y col., 1988).

Para explicar los contenidos de Ca de la tabla 4-1 en las dietas es necesario recordar, que se partió del hecho de la elaboración de las dietas en base a los requerimientos nutrimentales para ratas presentados en la tabla 11, en los cuales se expresa que se debe adicionar a las dietas 1% de mezcla de vitaminas y 4% de mezcla de minerales tipo Roger y Harper, en las cuales según la composición presentada en la tabla 14a se tenía la dieta con 100% de los requerimientos de Ca, sin tomar en cuenta

que al procesar los granos, tanto por nixtamalización como por extrusión hay una adición de Ca, más el contenido inicial de este mineral que poseen los cereales.

En esta tabla (4-1), se muestra el contenido de calcio en las dietas, antes del proceso de cocción y después del tratamiento térmico-alkalino, adicionadas con el porcentaje calculado de calcio para elaborar las dietas. Se tiene que las dietas con una adición de Ca del 100%, estuvieron por arriba del valor recomendado para el Ca en las ratas; los porcentajes van de 100.24 hasta 210.70% de lo recomendado. Las muestras con 66% de adición de calcio presentan también un porcentaje arriba del recomendado en las muestras SN, MSE y MSN. Las muestras restantes tienen porcentajes que van de 53 al 73%. Con respecto a las muestras con un 33% de adición de Ca, la mayoría presentan porcentajes abajo del 100% del recomendado, a excepción de MSN y SN (118.29% y 157.56%, respectivamente) y para el caso de las muestras con 0% de adición de Ca, todas presentan porcentajes abajo del 100%, los cuales van de 37.07 hasta 88.05%.

En esta misma tabla se tienen los porcentajes para el caso de maíz y sorgo crudos, los cuales presentan un valor bajo con respecto al valor recomendado (6.58 y 13.90%, respectivamente). Comparando estos resultados con los valores obtenidos para las muestras después del proceso térmico-alkalino, se observa un incremento en el contenido de Ca en estas últimas, siendo mayor en las muestras que fueron nixtamalizadas. Los porcentajes más bajos de Ca real lo presentan las dietas de SE en sus diferentes variaciones de este mineral.

Del análisis estadístico se encuentran diferencias a un nivel de significancia del 5%. Este resultado confirma las diferencias entre las concentraciones de Ca, ya que hay variaciones en cuanto al contenido de Ca tanto por la adición realizada al elaborar las dietas, por el contenido inicial de Ca en los cereales, como por el Ca adicionado al procesar los granos (los tratamientos térmicos alcalinos de nixtamalización y extrusión) (ver apéndice B, tabla B-1).

La prueba biológica REP (tabla 4-5) permite inferir el efecto del calcio sobre la calidad de la proteína. También la observación visual de los animales permitió determinar indirecta y cualitativamente la influencia de las diferentes concentraciones de calcio sobre los animales en estudio. Según la bibliografía, en la cual se utilizaron dietas de referencia con 8 y 10% de proteína, no se encontraron diferencias significativas entre los valores obtenidos de REP (Nieto y Durán-de-Bazúa, 1988). Por

ello, puede decirse que no se incurriría en errores significativos al utilizar como patrón de comparación cualquiera de las dos dietas de referencia.

Las muestras de sorgo extrudido en las tres variantes de Ca, dieron valores de REP negativos, lo cual no concuerda con los resultados obtenidos en las otras dietas presentándose una mortandad inusual (50% de la población murió durante los 28 días de la prueba biológica). Estas dietas presentaron, en general, las concentraciones menores de Ca (0.845 a 0.314 g Ca/100 g muestra), pero que no justifican estos resultados. Aún cuando en experimentos previos se han obtenido valores muy bajos no se han tenido valores de REP negativos. Por ello en este experimento se piensa que pudiera haber algún factor externo que haya afectado estos lotes (tabla 4-8).

Este mismo efecto se presentó, además, en la dieta suministrada de maíz nixtamalizado con 0% de Ca (real 54.14%), en donde se presenta un valor de REP negativo (- 0.342), donde la incidencia de animales muertos fue del 12%, menor al de las dietas de SE. El valor de REP negativo concuerda con un decremento en el crecimiento de los animales de prueba, además de indicar que el valor nutricional de este tipo de dietas no fue el conveniente para que las ratas crecieran y se desarrollaran óptimamente aunado a las variaciones en la relación Ca/P que se le efectuó a las dietas en estudio. En las muestras restantes no presentaron valores de REP negativos.

Comparando los datos de REP y Ca experimentales, se observa que conforme disminuye la concentración de Ca disminuye también el valor de la respuesta biológica, por lo que se puede decir que la calidad de la proteína no influye como la variación de Ca en las diferentes dietas, lo mismo se observa con la relación Ca/P. La calidad de la proteína de los cereales puede tener una relación directamente proporcional con el Ca que se absorbe, ya que hay datos bibliográficos que concluyen la influencia de ciertos aminoácidos específicos especialmente lisina, serina y arginina (Norman, 1991). El factor Ca-proteína es esencial para el transporte de calcio por el intestino, obstruyéndose la absorción por la erosión parcial debida a la ingesta alta en fibra. Por lo tanto, no se puede descartar la idea de que aparte de que la calidad de la proteína en los cereales es pobre, se sumen los efectos de adsorción de calcio, debido a una concentración alta o baja de este mineral en la dieta (Casanueva y col., 1995).

**Tabla 4-5 VALORES DE LA EFICIENCIA PROTEÍNICAS (REP)**

Tipo de Dieta	REP experimental	REP ajustado <sup>1</sup>	Ca en dieta g Ca/100g muestra	Relación Ca/P	Eq. Catequina/100g muestra
<b>Maíz crudo</b>	--	--	<b>0.027</b>	<b>0.09</b>	<b>0.048</b>
<b>ME 100% Ca</b>	<b>1.476</b>	<b>1.5110</b>	<b>0.806</b>	<b>2.94</b>	--
ME 66% Ca	0.67	0.6840	0.219	0.79	--
ME 33% Ca	0.735	0.7526	0.193	0.70	--
ME 0% Ca	0.107	0.1108	0.152	0.55	0.013
<b>MN 100% Ca</b>	<b>0.463</b>	<b>0.4730</b>	<b>0.952</b>	<b>4.05</b>	--
MN 66% Ca	0.468	0.4840	0.302	1.28	--
MN 33% Ca	0.315	0.3227	0.256	1.08	--
MN 0% Ca	-0.334	-0.3427	0.222	0.94	0.018
<b>Sorgo crudo</b>	--	--	<b>0.057</b>	<b>0.15</b>	<b>0.045</b>
<b>SN 100% Ca</b>	<b>0.421</b>	<b>0.4899</b>	<b>0.411</b>	<b>1.17</b>	--
SN 66% Ca	0.360	0.4189	0.297	0.84	--
SN 33% Ca	0.346	0.4026	0.214	0.61	--
SN 0% Ca	--	--	0.200	0.57	0.026
<b>SE 100% Ca</b>	<b>-0.334</b>	<b>-0.388</b>	<b>0.845</b>	<b>2.52</b>	--
SE 66% Ca	-0.558	-0.6494	0.670	2.00	--
SE 33% Ca	-0.900	-1.0474	0.646	1.92	--
SE 0% Ca			0.314	0.93	0.036
<b>MSE 100% Ca</b>	<b>1.058</b>	<b>1.2313</b>	<b>0.824</b>	<b>3.00</b>	--
MSE 66% Ca	0.559	0.6512	0.710	2.59	--
MSE 33% Ca	0.492	0.5732	0.207	0.75	--
MSE 0% Ca	0.467	0.5439	0.185	0.67	0.043
<b>MSN 100% Ca</b>	<b>0.836</b>	<b>0.9734</b>	<b>0.864</b>	<b>3.67</b>	--
MSN 66% Ca	0.507	0.5909	0.560	2.38	--
MSN 33% Ca	0.426	0.4960	0.485	2.06	--
MSN 0% Ca	0.359	0.4178	0.361	1.53	0.050
Caseína (patrón)	2.447	2.5000	0.912*		--

<sup>1</sup>REP ajustada a un valor de 2.5 de caseína

\*Valor bibliográfico. Handbook N°8-1, USDA

Glick y Joslyn (1970), encontraron que las ratas alimentadas con dietas conteniendo taninos y compuestos fenólicos, excretan más nitrógeno fecal que los controles, además de que a mayor contenido de compuestos fenólicos, corresponde una REP más baja y por lo tanto, el crecimiento se deprime. Los animales en estudio, conforme se avanzaba en el experimento, presentaron anomalías en el comportamiento, tales como, nerviosismo y tics nerviosos aunado a presencia de manchas negras en orejas y cola, posiblemente debidas a derrames internos. Dado que el contenido de taninos en el sorgo extrudido era mayor que en el nixtamalizado (0.036 versus 0.026 eq. catequina/100 g muestra) ésta podría ser una causa. Sin embargo, en las muestras de las mezclas los contenidos son aún mayores (0.05 versus 0.043 eq. catequina/100 g

muestra) y, curiosamente, las mezclas presentan valores de la REP, para los granos nixtamalizados, incluso mayores que para cada grano solo (0.97 versus 0.47 y 0.49) y, para las harinas de las mezclas extrudidas, aunque no son mayores que las de los granos solos, son siempre mayores que las de sus contrapartes nixtamalizadas (1.51, 1.23 y -0.39 versus 0.47, 0.97 y 0.49).

Esto parece indicar una variable externa al experimento, específicamente para el sorgo tanto nixtamalizado como extrudido (especialmente para este último).

En el análisis estadístico entre los valores de REP, se encontraron diferencias significativas, entre ellos a un nivel de significancia de 5 y 1%. De acuerdo a estos resultados, se observa que la variación en la concentración de Ca en las dietas suministradas a las ratas tienen un efecto directamente proporcional a los valores de la REP (ver apéndice B, tabla B-3).

En la tabla 4-6, se tiene el porcentaje de la REP con respecto a caseína (caseína 100%), el cual fluctúa de 61.75% (ME100%Ca) hasta -42.80% (SE 33%Ca). Nuevamente, en los resultados se observa que conforme disminuye la concentración de Ca en las dietas disminuye la respuesta biológica y también la relación Ca/P. Sólo en el caso de las dietas SE, se tienen valores negativos (lo cual se observa en todos los resultados obtenidos), aunque el valor de la relación Ca/P no sea tan bajo como en el caso del maíz y sorgo crudos.

Se observa que los valores de % REP más altos los obtuvieron las muestras que estuvieron por arriba del 100% de los requerimientos de Ca, o sea, las muestras con una adición de Ca del 100% (MN 100% Ca real 232.19% arriba del requerido), seguidas por las dietas con una adición del 66% (SN 100% Ca 173.17% arriba del requerido), y así sucesivamente. Ninguna de las muestras experimentales tuvo la misma respuesta biológica que el control.

Al comparar los resultados de las muestras nixtamalizadas con los de las muestras extrudidas, se observa una clara ventaja del proceso de extrusión sobre el de nixtamalización.

El porcentaje más alto en cuanto al % REP, lo presenta la dieta de ME, seguida de la dieta MSE, ambos con 100% de los requerimientos de Ca (61.75 y 50.31% respectivamente). Se observa que estas dietas no son las que tienen el porcentaje más

alto de Ca y tampoco la relación Ca/P, pero son las que mejor respuesta biológica tuvieron. Se esperaba que las dietas con mejor respuesta biológica serían las muestras MSE y MSN con 100% de los requerimientos de Ca.

**Tabla 4-6 VALORES DE REP CON RESPECTO AL PATRÓN DE CASEÍNA Y AL CONTENIDO DE CALCIO EN LAS DIETAS**

Tipo de Dieta	% de Ca real en las dietas	REP con respecto a caseína %	Relación Ca/P
<i>Maíz crudo</i>	6.58	-	0.09
<b>ME 100% Ca</b>	<b>196.58</b>	<b>61.75</b>	<b>2.94</b>
ME 66% Ca	53.41	27.95	0.79
ME 33% Ca	47.07	30.75	0.70
ME 0% Ca	37.07	4.52	0.55
<b>MN 100% Ca</b>	<b>232.19</b>	<b>19.32</b>	<b>4.05</b>
MN 66% Ca	73.65	19.77	1.28
MN 33% Ca	62.44	13.18	1.08
MN 0% Ca	54.14	-14.00	0.94
<i>Sorgo crudo</i>	13.90	-	0.15
<b>SE 100% Ca</b>	<b>100.24</b>	<b>-15.85</b>	<b>1.17</b>
SE 66% Ca	72.43	-26.53	0.84
SE 33% Ca	52.19	-42.80	0.61
SE 0% Ca	48.78	-	0.57
<b>SN 100% Ca.</b>	<b>206.00</b>	<b>20.02</b>	<b>2.52</b>
SN 66% Ca	163.41	17.11	2.00
SN 33% Ca	157.56	16.45	1.92
SN 0% Ca	76.58	-	0.93
<b>MSE 100% Ca</b>	<b>200.97</b>	<b>50.31</b>	<b>3.00</b>
MSE 66% Ca	173.17	26.61	2.59
MSE 33% Ca	50.48	23.42	0.755
MSE 0% Ca	45.12	22.22	0.675
<b>MSN 100% Ca</b>	<b>210.70</b>	<b>39.77</b>	<b>3.67</b>
MSN 66% Ca	136.58	24.15	2.38
MSN 33% Ca	118.29	19.52	2.06
MSN 0% Ca	88.05	17.07	1.53
Caseína (patrón)	100	100	

Para determinar el efecto del calcio en las funciones, tanto físicas como metabólicas, se realizaron observaciones durante los 28 días que duró el experimento, respecto del tipo de dieta que se les suministró (tabla 4-7). Al término de los 28 días de las pruebas biológicas, las ratas se sacrificaron para poder hacer una observación macroscópica y visual de los órganos internos. El planteamiento original era el de hacer

cortes en los órganos más importantes internos para un estudio histológico, el cual está planteado a futuro (tabla 4-8).

En la tabla 4-7 se muestran los resultados de las observaciones realizadas durante la prueba biológica. Se observa que las muestras con los mejores resultados, son nuevamente, las dietas con 100% de adición de Ca. Obviamente, dado que son cereales no se alcanzan las características que tiene la dieta de referencia. Tales muestras son MSE 100% (38.58%), ME 100% (34.82%) y MSN 100% (31.53%). Para fines de comparación la prueba de referencia se le asignó el valor de 100%. Todas las muestras restantes obtuvieron porcentajes menores.

El efecto de la variación de la concentración de calcio puede relacionarse indirectamente con el tamaño final que adquirieron los animales al final de la prueba biológica, ya que conforme disminuía el aporte de Ca, disminuyó el tamaño que adquirieron éstas, tomando como referencia a la muestra de caseína (tabla 4-7). Se puede decir que conforme disminuyó la concentración de calcio en las dietas, los efectos adversos (como presencia de manchas en la cola, patas y orejas, pelo crespo y nerviosismo) fueron en aumento.

En lo que respecta a las observaciones realizadas a las ratas después de ser sacrificadas (tabla 4-8) [referencia dieta de caseína], se tiene que los lotes que mejores resultados presentaron fueron los de MSN 100% y el lote MSE 100% seguidos por los lotes con un contenido de calcio de 66% de estas mismas mezclas de cereales. Los lotes antes mencionados, que tuvieron las mejores características, solo presentaron diferencias en cuanto al tamaño.

Los demás lotes tuvieron presencia de gases en el intestino y ciego. En las observaciones post-mortem, se tomó en consideración si presentaban fragilidad o no en los huesos, por lo que con ayuda del responsable del bioterio se trató de medir cualitativamente la fragilidad en estos, encontrándose que, a medida que disminuía el aporte de Ca en las dietas, también disminuía la calcificación de los huesos en los animales de prueba. Los huesos que presentaron mayor fragilidad fueron los del cráneo. Todas las medidas que se presentan en la tabla 4-8 son cualitativas, ya que no se contó con el equipo necesario para hacer medidas cuantitativas en las características ya mencionadas.

Tabla 4-7 Observaciones visuales realizadas a las ratas durante el periodo de prueba

LOTE	APARIENCIA GENERAL %	MANCHAS CUERPO %	NERVIOSISMO %	CRECIMIENTO %	AGRESIVIDAD %	APETITO %	PESO GANADO (g)	COORD. DE MOV. %
CASEINA	100	0	0	100.00	0	100	85.75	100
ME 100%	80	0	0	34.82	10	87	29.86	100
ME 66%	80	20	10	26.87	10	80	22.87	75
ME 33%	80	25	50	13.46	20	70	10.50	75
ME 0%	50	50	60	13.87	80	65	10.90	75
MN 100%	100	0	15	14.93	0	85	12.55	100
MN 66%	100	20	15	8.99	0	82	7.71	75
MN 33%	80	20	50	6.10	10	72	4.78	75
MN 0%	50	0	50	-4.99	50	62	-4.28	50
SN 100%	80	50	50	15.76	0	87	12.33	75
SN 66%	50	50	10	12.82	20	72	9.60	50
SN 33%	50	100	50	12.03	30	65	9.66	50
SE 100%	50	100	50	-12.82	70	40	10.00	0
SE 66%	0	100	50	-15.84	75	35	12.00	0
SE 33%	0	0	100	-21.79	90	35	17.00	0
MS N 100%	100	0	0	31.53	0	90	24.60	100
MS N 66%	100	0	0	15.81	0	87	12.30	75
MS N 33%	80	50	0	12.39	10	85	9.66	75
MS N 0%	100	0	10	8.71	20	75	6.80	50
MS E 100%	80	50	0	36.58	5	92	30.16	100
MS E 66%	80	0	10	19.61	15	87	16.33	50
MS E 33%	50	50	10	15.76	15	85	12.33	50
MS E 0%	0	100	40	12.05	25	70	9.40	50

La calificación se otorgó con base en las ratas alimentadas con la dieta patrón (caseína): 100% calificación máxima para movilidad, crecimiento, apetito y apariencia general  
 0% de calificación para cero manchas, nerviosismo y agresividad

Tabla 4-8 Observaciones visuales realizadas en las ratas después de ser sacrificadas

LOTE	COLOR HÍGADO %	COLOR RIÑÓN %	TAMAÑO %	FRAGILIDAD HUESOS %	COLOR PIEL INTERNA %	ACUMULACIÓN DE GRASA %	PRESENCIA DE GASES %
CASEÍNA	100	100	100	0	100	100	0
ME 100%	70	70	70	20	100	70	20
ME 66%	70	80	70	30	70	70	20
ME 33%	70	70	65	70	30	30	50*
ME 0%	60	60	60	70	30	20	100*
MN 100%	100	30	65	30	90	65	50
MN 66%	100	100	60	40	90	58	50*
MN 33%**	50	60	50	50	40	38	100*
MN 0%*	30	60	0	70	0	0	100*
SN 100%	100	100	60	25	10	30	50
SN 66%**	80	100	50	30	10	30	100*
SN 33%*	30	60	45	45	10	20	100*
SE 100%*	30	80	0	100	30	0	0
SE 66%**	30	0	0	100	0	0	0
SE 33%*	30	0	0	100	0	0	0
MSN 100%	100	100	87	0	100	90	0
MSN 66%	100	100	75	0	100	60	0
MSN 33%	100	100	60	30	70	40	40
MSN 0%	100	100	30	30	70	30	50
MSE 100%	100	100	90	0	90	80	0
MSE 66%	100	100	70	0	90	65	0
MSE 33%	100	100	60	20	70	60	0
MSE 0%*	100	100	50	40	70	55	20

\* Ciego

\*\* Presencia de zona hisquímica

\* Presencia de derrames internos en tórax y pulmón

La calificación se otorgó con base en las ratas alimentadas con la dieta patrón (caseína): 100% máxima calificación para color hígado, color riñón, tamaño, color piel interna y acumulación de grasa  
0% de calificación para cero fragilidad de hueso y presencia de gases.

Comparando los resultados obtenidos en las tablas 4-7 y 4-8, se encuentra que las muestras que mejores resultados presentan son (en orden decreciente):

- Caseína (referencia)
- Maíz extrudido con 100% del calcio necesario (196% de sus requerimientos teóricos)
- Maíz extrudido con 66% del calcio necesario (53.41% de sus requerimientos teóricos)
- Maíz-sorgo nixtamalizado con 100% del calcio necesario (210.70% de sus requerimientos teóricos)
- Maíz-sorgo extrudido con 100% del calcio necesario (200.97% de sus requerimientos teóricos)
- Maíz-sorgo extrudido con 66% del calcio necesario (173.17% de sus requerimientos teóricos)
- Sorgo nixtamalizado con 100% del calcio necesario (206% de sus requerimientos teóricos)
- Maíz nixtamalizado con 100% del calcio necesario (232.19% de sus requerimientos teóricos)
- Maíz nixtamalizado con 66% del calcio necesario (73.65% de sus requerimientos teóricos)

Los resultados de las observaciones permiten ver que ninguna de las dietas logró tener los mismos resultados que la dieta de caseína y todos los valores fueron por debajo de ésta. Esto es claro, ya que la proteína de un cereal es nutricionalmente inferior a la caseína. Además, si el comportamiento de las ratas es similar al de los humanos, éstas sólo absorberán entre el 30 y 50% del calcio suministrado y por ello las que tenían menos disponibilidad de este catión mostraban cambios físicos en el color y la sedosidad del pelo. En lo que respecta al apetito, las dietas que tuvieron mayor consumo de alimento fueron las de ME 100% y de MSE 100%. En estas muestras, aunque el crecimiento con respecto a la dieta de caseína no fue muy elevado, con respecto al resto de las muestras fueron los porcentajes más altos que se obtuvieron.

El mismo efecto se observa en la variación que se tiene en el crecimiento, ya que a medida que se disminuye el contenido de calcio disminuye el tamaño que adquirieron las ratas al final de la prueba biológica.

Tomando en consideración estos resultados se puede decir que sí se observó el efecto de la variación en la concentración de calcio en el crecimiento y comportamiento de los animales de prueba y, además, que la respuesta y la facultad de absorción de Ca no fue igual en todos los tratamientos ni entre las mismas ratas. Esta variabilidad ya ha sido reportada en otros estudios (Greger y Krystofiak, 1982; Church y Pond, 1987).

La necesidad de calcio se demuestra claramente en el hecho de que una dieta baja en calcio produce fragilidad en los huesos de los animales de laboratorio. La falta de calcio produce pérdida ósea, simplemente porque el cuerpo trata al hueso como una fuente ilimitada de calcio de la que extrae lo que necesita para soportar el nivel de calcio ionizado en el fluido extracelular.

Si la dieta no es suficiente en el contenido de calcio, o si no se absorbe eficientemente o si se pierden cantidades excesivas por los intestinos y los riñones, el sistema homeostático convierte al hueso en su fuente de reserva de calcio. Las hormonas paratiroideas activan el proceso de modelaje del hueso y el sistema extrae el calcio liberado como subproducto de la primera fase de modelaje. La velocidad de crecimiento y el crecimiento físico son indicadores sensibles de la influencia de la mala absorción y/o una deficiencia de calcio (Heaney, 1991).

En la tabla 4-9 se muestran los resultados del contenido de ácido fítico. Este factor se determinó para tener una idea del fósforo inicial en el experimento y como compuesto adverso ya que una parte del fósforo se liga con el calcio, contenido en los cereales, haciéndolo indisponible, por lo que fue importante determinar su contenido en los cereales utilizados. El ácido fítico así como los fitatos representan la fuente más importante de fósforo e inositol en las semillas maduras, ya que del 60 al 90% del fósforo total se encuentra acumulado de esta manera. La localización del fitato dentro de la semilla varía según el tipo de esta; por ejemplo, el fitato en maíz se encuentra principalmente en el germen.

En los resultados del contenido de fósforo (tabla 4-9), se observa que el cereal con mayor contenido de éste mineral es el sorgo, una razón más para justificar los resultados obtenidos en estas dietas, el cual presenta una pérdida mayor en el proceso de nixtamalización que en el proceso de extrusión. Lo mismo sucede con el maíz pero con valores menores.

**Tabla 4-9. CONTENIDO DE ÁCIDO FÍTICO Y FÓSFORO**

MUESTRA	ABS	ÁC. FÍTICOmg/g	FÓSFORO mg/g
Maíz	0.02	65.4	28.90
Sorgo	0.4	67.5	37.47
Sorgo nixtamalizado	0.05	63.7	33.53
Sorgo extrudido	0.03	64.8	35.03
Maíz nixtamalizado	0.16	57.5	23.50
Maíz extrudido	0.11	60.3	27.40

Del análisis estadístico de los datos, a un nivel de significancia de 5%, se tiene que hay diferencias significativas entre los valores de fósforo de las muestras de cereales (crudos y con tratamiento térmico). Cabe aclarar que este mineral se mantuvo constante y no se varió su contenido, y su determinación fue para obtener la relación Ca/P (ver apéndice B, tabla B-4).

En lo que respecta a la relación de Ca/P, las dietas que se encuentran por arriba de la relación 1:2 pueden presentar osteodistrofia fibrosa en los animales en crecimiento (Greger y Krystofiak, 1982). En los resultados experimentales (tabla 4-10), se observa que la mayoría de las dietas con una adición de 100 y 66% de calcio se encuentran arriba de esta relación y la mayoría de las dietas, con una adición de 33 y 0%, se encuentran por abajo de esta relación. Esto concuerda con los resultados de REP donde se encontraron los mejores resultados en las dietas con un 100% de requerimientos de Ca, tanto de crecimiento como de apariencia interna, como ya se mencionó anteriormente. En el experimento se trató de mantener constante la cantidad de fósforo para la relación 1:2, lo cual indica que la variación en el contenido de Ca afecta directamente en el crecimiento, apariencia, comportamiento y en la textura o fragilidad de los huesos en los animales en experimentación, lo cual se observa en las dietas con 33 y 0% de Ca. Con una relación mayor, los efectos no se observaron en cuanto a los resultados de REP y al comportamiento de los animales de prueba, pero en una relación menor los efectos fueron adversos tomando en consideración los parámetros antes mencionados. Cabe mencionar que las dietas de SE tuvieron un comportamiento distinto a las demás dietas experimentales. Estos resultados no pueden deberse a su relación Ca/P, ya que presentan una relación similar a las dietas de ME, las cuales no presentan estos efectos. Obviamente no se trata del mismo cereal pero su comportamiento, por ser un grano químicamente similar, se esperaba fuese parecido.

De acuerdo a la relación anterior y los resultados del tabla 4-10, en todas las muestras se ve que esta relación está alterada, tanto en una proporción mayor como en una menor. Estos resultados confirman que las dietas con proporciones de Ca de 100 y 66% de sus requerimientos fueron las que mejores resultados obtuvieron.

**Tabla 4-10. RELACIÓN Ca/P EN LAS DIETAS SUMINISTRADAS A LAS RATAS**

<u>DIETA</u>	<u>Ca/P</u>	<u>REP</u>
<b>Maíz crudo</b>	<b>0.09</b>	
<b>ME 100%</b>	<b>2.94</b>	<b>1.5110</b>
<b>ME 66%</b>	<b>0.79</b>	<b>1.2770</b>
<b>ME 33%</b>	<b>0.70</b>	<b>0.7526</b>
<b>ME 0%</b>	<b>0.55</b>	<b>0.1108</b>
<b>MN 100%</b>	<b>4.05</b>	<b>0.7050</b>
<b>MN 66%</b>	<b>1.28</b>	<b>0.4840</b>
<b>MN 33%</b>	<b>1.08</b>	<b>0.3227</b>
<b>MN 0%</b>	<b>0.94</b>	<b>-0.3420</b>
<b>Sorgo crudo</b>	<b>0.15</b>	
<b>SE 100%</b>	<b>1.17</b>	<b>-0.3887</b>
<b>SE 66%</b>	<b>0.84</b>	<b>-0.6494</b>
<b>SE 33%</b>	<b>0.61</b>	<b>-1.0474</b>
<b>SE 0%</b>	<b>0.57</b>	<b>--</b>
<b>SN 100%</b>	<b>2.52</b>	<b>0.4899</b>
<b>SN 66%</b>	<b>2.00</b>	<b>0.4189</b>
<b>SN 33%</b>	<b>1.92</b>	<b>0.4026</b>
<b>SN 0%</b>	<b>0.93</b>	<b>--</b>
<b>MSN 100%</b>	<b>3.00</b>	<b>0.9734</b>
<b>MSN 66%</b>	<b>2.59</b>	<b>0.5909</b>
<b>MSN 33%</b>	<b>0.75</b>	<b>0.4960</b>
<b>MSN 0%</b>	<b>0.67</b>	<b>0.4178</b>
<b>MSE 100%</b>	<b>3.67</b>	<b>1.2313</b>
<b>MSE 66%</b>	<b>2.38</b>	<b>0.6512</b>
<b>MSE 33%</b>	<b>2.06</b>	<b>0.5732</b>
<b>MSE 0%</b>	<b>1.53</b>	<b>0.5439</b>

De los resultados del análisis estadístico, a un nivel de significancia de 1%, se encontraron diferencias significativas entre ellos, por lo que se confirma lo antes mencionado. Estos resultados eran los que se esperaban, ya que al variar la concentración de Ca en las dietas, influye tanto en los valores de REP como en los valores obtenidos de la relación Ca/P (ver apéndice B, tabla B-5).

Se observa en los resultados que la relación Ca/P estuvo por arriba del recomendado en las dietas con 100% de Ca, pero no se observaron reacciones adversas a estas relaciones altas. Por el contrario, al disminuir la relación Ca/P se fueron presentando problemas en los animales de experimentación. En el caso de las dietas de SE, todas las variantes de Ca dieron una respuesta biológica negativa, aunque la relación Ca/P es similar para cada caso, dependiendo de su concentración de Ca. Nuevamente se considera que hay alguna variable externa al experimento que deberá ser reevaluada.

## 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los resultados obtenidos en el desarrollo experimental permiten concluir lo siguiente:

- I. Los cereales no pueden sustituir a una fuente proteínica como la caseína. El sorgo sólo puede ser utilizado como un extensor del maíz, ya que los dos son cereales y no pueden complementarse, como puede verse de sus valores de REP (PER).
  
- II. En lo que respecta a los dos tipos de procesamiento de los granos, la extrusión es una alternativa para la nixtamalización, ya que presenta ventajas, tanto en ahorro de tiempo como de energía, según se ha demostrado en estudios anteriores. Respecto del valor nutritivo también presenta ventajas ya que, con excepción del sorgo, las demás muestras dan valores de REP (PER) mejores que sus contrapartes. En este estudio se puede ver que el proceso de extrusión fue el que mejores resultados dió, ya que las dos mejores dietas fueron de cereales extrudidos. Esto confirma que el proceso de extrusión tiene mayores ventajas sobre el proceso tradicional de nixtamalización. La única excepción fue la del sorgo extrudido, pero este experimento será repetido ya que existe la sospecha de que hubo un factor externo que dió estos resultados negativos.
  
- III. Las observaciones cualitativas hechas a las ratas permiten inferir un posible efecto del calcio. Aparentemente una deficiencia de este mineral provoca reacciones tanto internas como externas nocivas en los animales, ya que presentaron una descalcificación muy marcada, tanto en el tamaño como en el comportamiento que tuvieron (nerviosas y agresivas). Las observaciones indican daños, tanto en riñón como en hígado. La cantidad de grasa que acumularon también fue efímera, indicando una correlación con la cantidad de calcio que retienen las ratas. La fragilidad de los huesos habla de la descalcificación que presentaron.

IV. La relación Ca/P, cuando se tiene un valor por arriba del recomendado (0.5), no provoca efectos adversos como cuando la relación es menor de la recomendada. Estos efectos dañinos fueron los observados en hígado y riñón. Cuando la relación es menor, hay presencia de indicios de descalcificación generalizada en huesos y cráneo, además de los daños internos, pensándose que hay presencia de osteoporosis. Esto fue claro al comparar con el patrón de referencia. No se puede concluir que realmente hubo daño en los órganos internos, ya que no se realizó el estudio histológico a los tejidos.

V. Con los resultados obtenidos en el presente trabajo no se puede recomendar una cantidad adecuada de Ca para que sea adicionada en las tortillerías, como hidróxido de calcio; sin embargo, se puede recomendar que esta adición no sea menor del porcentaje ya establecido que es de 1.5%. Se tienen que hacer estudios posteriores para realmente determinar el porcentaje recomendable.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- Alarcón-Chávez, A.L. 1985. "Evaluaciones biológicas elaboradas con mezclas de maíz-sorgo (híbrido y tarasco). *Tesis profesional*. Facultad de Química UNAM. México D.F. México.
- Almeida-Domínguez, H. D. y Millán-León, T. R. 1986. "Aprovechamiento de los sólidos de las aguas residuales (nejayote) de la nixtamalización de maíz". *Gestión Tecnológica*. Agosto:7-22. México.
- Anderson, L. y Dibble, M. V. 1980. *Nutrición y dieta de COOPER*. Ed. Interamericana, 17a. edición; pp. 72-82, México D.F., México.
- Anónimo. 1980. *Hombre ciencia y tecnología*. Ediciones DANAE. 5:1879-1880. México, D.F., México.
- AOAC 1990. *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C., EEUUA.
- Belizán, M. J., Pineda, O., Sáinz, E., Menéndez, A. L., González, A. E. y Villar, J. 1982. "Efectos de la ingesta de calcio sobre la tensión arterial". *Arch. Latinoam. Nutr.* 32(1):38-43.
- Berthouly, M. y Guerrier, G. 1980. "Influence des carences en éléments majeurs (K, Ca, Mg) sur la distribution de P chez le sorgho". *Rev. Phyton*, 39:171-178.
- Bidlack, W. R., Kisch, A. y Meskin, M. S. 1986. "Nutritional requirements of the elderly". *Food Technol.*, 40(2):61-70.
- Bressani, R. y Mertz, E. 1958. "Studies on corn proteins. IV. Protein and amino acid content of different corn varieties". *Cereal Chem.*, 35:227.
- Casanueva, E., Kaufer-Horwitz, M., Pérez-Lizaur, A. y Arroyo, P. 1995. *Nutriología médica*. Editorial Médica Panamericana. México D.F., México.

- Chávez, M., Hernández, M. y Roldán, J.A. 1992. **Tablas de uso práctico del valor nutritivo de los alimentos de mayor consumo en México**. INNSZ. México D.F., México.
- Church, D. C. y Pond, E.G. 1987. **"Fundamentos de nutrición y alimentación de animales"**. Ed. Limusa, México D.F., México.
- Conway, H.F., Lancaster, E.B. y Bookwalter, G.N. 1968. "How extrusion cooking varies product properties". **J. Food Eng.**, November: 102-104.
- Daniel, Wayne W. 1982. **Bioestadística**. Ed. Limusa. 3a impresión. México D.F., México.
- Desrosier, N.W. 1986. **Elementos de Tecnología de Alimentos**. Compañía Editorial Continental S.A. de C.V. 4a. impresión. México D.F., México.
- Deyoe, Ch. W. y Roberts, J.R. 1979. "Sorghum and pearl millet foods in: tropical foods". **Academic Press Inc.** 1:212-287.
- Durán-de-Bazúa, C. 1987. Reaprovechamiento de efluentes de la industria del maíz. **Informe final de proyecto BMFI-UNEP-CONACYT-UNAM-Miconssa**. Impresora Azteca, S.A. México D.F. México.
- Durán-de-Bazúa, C. 1988. "Una nueva tecnología para la extrusión alcalina de maíz y sorgo". **Proyecto multinacional de tecnología de alimentos**. Programa regional de desarrollo científico y tecnológico, O.E.A. México D.F. México.
- Dziezak, J. D. 1989. "Single and twin-screw extruders in food processing". **Food Technol.**, Abril:164-173.
- Ershow, A. G. y Wong-Chen, K. 1990. Chinese Food Composition Tables. **J. Food Comp. Anal.** 3(3/4):191-434.
- Escobar, R. 1975. **Enciclopedia agrícola y de conocimientos afines**. Tomo I, U.N.A.M. México D.F. México.

- Euclides, M.P., Junqueira, R.G., Kibuuka, G.K. y Maffia, L.M. 1983a. "Caracterización de harinas de sorgo (*Sorghum bicolor*) procesadas en molinos de mijo y trigo I. Composición centesimal" (a). *Rev. Ceres*, 30(169):189-198.
- Euclides, M.P., Junqueira, R.G., Kibuuka, G.K. y Maffia, L.M. 1983b. "Calidad proteica. II" (b). *Rev. Ceres*, 30(169):199-210.
- Glick, Z. y Joslyn, M.A. 1970. "Effect of tannic acid and related compounds on the absorption and utilization of proteins in the rat". *J. Nutr.*, 100: 516-520.
- Gómez, M.H. y Aguilera, J.M. 1983. "Changes in the starch fraction during extrusion-cooking of corn". *Journal of Food Sci.*, 48: 378-381.
- González, G.E., Revah, S., Álvarez, N. y Escalona, N. 1984. "Mejoramiento de la calidad de la proteína del sorgo. (*Sorghum bicolor* L. Moench) mediante un proceso de fermentación sólida". *Tecnol. Aliment. (Méx.)*, 19(1):21-27.
- Greger, J.L. y Krystofiak, M. 1982. "Phosphorus intake of Americans". *Food Technol.*, 36(1): 78-84.
- Greger, J.L. 1987. "What is nutritional equivalency". *Food Technol.*, 41(1):128-130.
- Greger, J.L. 1986. "Dietary calcium; an assessment of its protective action in human and experimental hipertension". *Food Technol.*, 40(3):93-95.
- Guerra, V.R. 1978. Extrusión. Una nueva tecnología aplicada al procesamiento de maíz normal y opaco-2. *Tesis profesional*. Facultad de Química UNAM. México, D.F. México.
- Gutiérrez, R.R. y Gómez, M.H. 1982. "Evaluación fisicoquímica de productos "extruidos" con mezclas de sorgo-maíz-soya". *Arch. Latinoam. Nutr.*, 38(1-2):132-142.
- Haug, W. y Lantzsch, H.J. 1983. " Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products". *J. Sci. Food Agric.*, 34:1423-1426.

- Heaney, R.P. 1991. "Salud ósea. Una revisión de los factores que promueven o mantienen un esqueleto fuerte". *La nutrición ante la salud y la vida*. Simposio Fundación Cavendes C.A. Ed. Cavendes, Caracas, Venezuela.
- Ibar, A.L. 1984. *El sorgo. Cultivo y aprovechamiento*. Primera edición. Editia Mexicana, S.A. México D.F., México.
- Icaza, S.J. y Béhar, M. 1981. *Nutrición*. Nueva Editorial Interamericana. 2da. edición. México D.F., México.
- Jambunathan, R. 1980. [Anónimo Ibid, 1976; INIA XV Años de investigación agrícola] *Nutrition and Food Science*, Tomo II. Chapingo, Méx., México.
- Jiménez-Aparicio, A.; Arenas-Ocampo, M.L. y Gallardo-Navarro Y. 1988. "Cambios en la textura y en los atributos sensoriales de las tortillas elaboradas con mezclas de maíz y sorgo". *Tecnol. Aliment. (Mex.)*, 23(6):20-24.
- Khan, M.N., Rooney, L. W., Rosenow, D.T. y Miller, F.R. 1980. "Sorghums with improved tortilla making characteristics". *J. Food Sci.*, 45:720-721,725.
- Liener, E. 1980. *Toxic constituents of plant foodstuffs*. 2da. ed. Academic Press. Nueva York, EEUUA.
- Mertz, E.T., Lloyd, N.E. y Bressani, R. 1958. "Studies on corn proteins. II Electrophoretic analysis of germ and endosperm extracts". *Cereal Chem.*, 35:146-155.
- Mertz, E.T.; Bates, L.S. y Nelson, O.E. 1966. "Better protein quality in maize". *Adven. Chem. Serv.*, 57:228-242.
- Mitjavila, S. 1990. "Sustancias naturales nocivas en los alimentos". En Toxicología y seguridad de los alimentos. R. Derache (Ed.) Ed. Omega. Cap. 7:109-132., Barcelona, España.
- NAS/NRC. 1995. *Nutrient requirements of laboratory animals*. 3a. Ed. Natl. Acad. of Sciences/Natl. Res. Council, Washington, D.C. EEUUA.

- Nieto, Z., Durán-de-Bazúa, C., Laso, F. y Núñez, A. 1986. "Calidad molinera de mezclas de maíz y sorgos perlados e integrales". *Tecnol. Aliment. (Méx.)*, 21(5):3-9.
- Nieto, E. y Durán-de-Bazúa, C. 1988. Protein quality evaluations of sorghum products for human consumption using biological test (NPU and PER). *Chimica Oggi*, 6(3): 55-58.
- Norman, A. W. 1991. **Conocimientos actuales sobre nutrición**. Organización Panamericana de la Salud. Instituto Internacional de Ciencias de la Vida ILSI - North América. Washington D. C., EEUUA.
- Olson, R.E. 1985. "Integrating nutrition in to medical and public health programs". *Food Technol.*, 39:114-123.
- Osborne, T.B., Mendel, L.B. y Ferry. 1919. "A method of expressing numerically the growth promotion value of proteins". *J. Food Sci.*, 9:1352-1358.
- Pedrero, F.D. y Pangborn, R.M. 1989. **Evaluación sensorial de los alimentos. Métodos analíticos**. Ed. Alhambra Mexicana Cap. 8: 144-149. México, D.F. México.
- Pellet, P.L. y Young, V.R.. 1980. **Nutritional evaluation of protein foods**. The United Nations University, pp. 28. Japón.
- Peña-Silva, M. y Martínez-Bustos, F. 1983. "Elaboración de harinas nixtamalizadas de sorgo Sorghum bicolor L. Moench, para tortillas. Características químicas y tecnológicas". *Rev. Chapingo.*, 8(40):122-130.
- Perkin-Elmer. 1982. **Analytical Methods for atomic absorption spectrophotometry**. Rev. enero. Norwalk, Connecticut, EEUUA.
- Price, M.L. y Butler, L.G. 1977. "Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain". *J. Agric. Food Chem.*, 25(6):234-239.
- Ramos-Galván, R. 1985. **Alimentación normal de niños y adolescentes. Teoría y práctica**. Editorial El Manual Moderno S.A. de C.V. pp. 190-199. México D.F. México.

ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

- Roque-Carrazza, F. 1988. "Minerais em dietas Latino-americanas". *Arch. Latinoam. Nutr.*, 38(3):599-621.
- Saldaña-Morales, M. V. 1987. "Comparación química y biológica de mezclas de maíz y sorgo nixtamalizadas y extrudidas". *Tesis profesional*. Facultad de Química U.N.A.M. México D.F. México.
- SARH. 1996. *Anuario estadístico de la producción agrícola de los Estados Unidos Mexicanos*. Subsecretaría de planeación. Tomo 1 (p 10). México D.F. México.
- Toma, R.B. y Curtis, D.J. 1986. "Dietary Fiber: Effect on mineral bioavailability". *Food Technol.*, 40(2):111-116.
- Tejera-Quijano, A. 1970. "Derivados del maíz al servicio de la industria alimentaria". *Tecnol. Aliment. (Mex.)*, 5(3):3-15.
- Wolf, M. 1951. "Structure of the mature corn kernel II Microscopic structure of pericarp, seed, coat, and layer of dent corn". *Cereal Chem.*, 29:334.

### Bibliografía consultada y no citada

- Alarcón, A.L., Guerra, R., Pedroza de Brenes, R., Nieto de Meléndez, Z. y Durán de Bazúa, C. 1985. "Mezclas nixtamalizadas de maíz y sorgo. Evaluaciones en masas y tortillas. Pruebas biológicas y sensoriales". *Tecnol. Aliment. (Méx.)*, 20(1):6-11.
- Durán-de-Bazúa, C., Guerra, R. y Sterner, H. 1979. "Extruded corn flour as an alternative to lime-heated corn flour tortilla preparation". *J. Food Sci.*, 44:940-941.
- INEGI. 1994. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. *El sector alimentario en México*. Publicación INEGI, México D.F., México.
- Jao, Y.C., Chen, A.H. y Goldstein, W.E. 1985. "Evaluation of corn protein concentrate: extrusion study". *J. Food Sci.*, 50:1257-1259, 1288.
- López-Bernal, M.M. 1986. "Cinética de difusión acuosa y reacción de gelatinización en la nixtamalización del maíz". *Tesis profesional*, Facultad de Química, UNAM. México D.F. México.
- López, M. y Segurajauregui, J. 1986. "Efecto de la variedad del maíz en la cinética de nixtamalización". *Tecnol. Aliment. (Méx.)*, 21(5):13-19.
- Rogers, Q.R. y Harper, A.E. 1965. Amino acid diets and proximal growth in the rat. *J. Nutr.* 87:267-273.
- Satterlee, L.D. 1981. "Protein for use in foods". *Food Technol.*, 35(5):53-54.
- Setter, K. 1983. "La extrusión HTST (high-temperature short-time) como moderna tecnología para el procesamiento de cereales". *Ind. Aliment.*, 18:27-36.
- Tovar, L.R. y Carpenter, K.J. 1982. "The effects of alkali-cooking of corn and supplementation with amaranth seed on its deficiencies in Lysine and Tryptophan". *Arch. Latinoam. Nutr.*, 32(4):961-972.

- Wall, J.S. y Ross, W.M. 1970. ***Sorghum production and utilization***. The AVI Publishing Company Inc., Westport, Conn. EEUUA.
- Wills, R.B.H. y Ali, M.R. 1983. "Effect of grain size on degree of milling, color and cooking time of sorghum". ***J. Food Sci.***, 48:650-51.

## Apéndice A

### Determinación de calcio por absorción atómica

#### Digestión húmeda

##### Introducción

Este método describe la determinación de cobre, zinc, sodio, potasio, magnesio, cadmio, calcio y manganeso. Las muestras se digieren en un vaso de precipitados, usando una mezcla de ácido nítrico y ácido perclórico; esta mezcla es filtrada en un matraz volumétrico y se diluye con agua desionizada, el filtrado es transferido a un vaso de precipitados o puede dejarse en el matraz volumétrico, para evitar pérdidas por transferencia de la muestra.

##### Procedimiento analítico

#### Preparación de la muestra

Pesar 2.5 g de muestra en un vaso de precipitados de 600 mL. Adicionar 25 mL de  $\text{HNO}_3$  concentrado, tapar la mezcla con un vidrio de reloj y llevar a ebullición ligera de 30 a 45 minutos, para oxidar todo el material fácilmente oxidable. Enfriar la solución y lentamente adicionar 10 mL de  $\text{HClO}_4$  al 70%. Llevar a ebullición vigorosa, hasta obtener una solución incolora. No permitir que la solución se seque.

Precaución: Siempre adicionar  $\text{HNO}_3$  a las muestras y dejar que la mezcla se digiera antes de adicionar  $\text{HClO}_4$ . El  $\text{HClO}_4$  reacciona con la materia orgánica explosivamente.

Enfriar, adicionar agua desionizada, filtrar y aforar con agua desionizada a 100 mL.

## Análisis

Para determinar la concentración de los elementos de interés, utilice el listado de condiciones estándar. Para determinar calcio, asegúrese que la dilución final y los estándares contengan 1% de lantano.

Las condiciones estándar para el caso del calcio, son las siguientes:

Longitud de onda (nm)	Abertura (nm)	Flama
422.7	0.2	Óxido de acetileno nitroso

Se prepara un blanco de la misma forma que las muestras, además de preparar una curva estándar en ppm

Las lecturas obtenidas en el espectrofotómetro de absorción atómica, tanto de la curva como de las muestras, son en absorbancia o transmitancia. Graficar la curva estándar (abs vs. concentración) e interpolar en esta los valores de la muestra problema para obtener las concentraciones de éstas en ppm.

Los datos de la curva patrón que se utilizó para las muestras fue la siguiente:

### ***CURVA PATRÓN DE CALCIO***

Concentración (ppm)	ABSORCIÓN
1	0.023
3	0.071
5	0.115

Los valores se sacaron por regresión lineal en una calculadora Casio Fx-5000F. Dando valores de  $A = 6.66 \times 10^{-2}$   $B = 0.023$  y  $r = 0.9996$ . Las muestras fueron leídas por espectrofotometría de absorción atómica en una  $\lambda = 422.7$  nm.

Para conocer la concentración de Ca presente en las muestras se utiliza la siguiente fórmula:

$$\text{mg Ca /100 g muestra} = \frac{\text{concentración interpolada ppm} \cdot \text{primer aforo mL} \times \text{segundo aforo mL} \times 100}{\text{peso de la muestra (g)} \times \text{alícuota (mL)} \times \text{segundo aforo mL} \times 1000}$$

### **Determinación del contenido de ácido fítico**

El contenido de ácido fítico se determina utilizando un método descrito para la determinación colorimétrica de 1.5 a 15 g de fitato en concentraciones tan bajas como 3 g/mL en el extracto.

El ácido fítico es precipitado con una solución ácida de  $\text{Fe}^{3+}$  de concentración conocida. El decremento de hierro (determinado coloriméricamente con 2,2'-bipiridina) en el sobrenadante es una medida del contenido del ácido fítico. Éste método es una modificación del método original descrito por Young en 1936 (Haug y Lantzsch, 1983).

#### **Preparación de las muestras**

Se muele el cereal en un molino CeCoCo tipo D, se tamiza a malla 80 y se desengrasa según el método del AOAC, 1980.

#### **Reactivos:**

- 1) Solución de fitatos de referencia.- Pesar 0.15 de la sal de sodio del ácido fítico (de PM = 923.83 Sigma, pureza 98% y 11% de agua) y disolver en 100 mL de agua destilada (solución estándar). Las soluciones de referencia se preparan por dilución de la

solución estandar con HCl 0.2 N en un intervalo de 3-30  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . La concentración final de HCL en las soluciones de referencia deberá ser 0.2N.

- 2) Solución de hierro.- Disolver 0.2 g de sulfato férrico amonio  $12\text{H}_2\text{O}$  ( $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4) \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) en 100 mL de HCl 2.0 N y aforar a 1000 mL con agua destilada.
- 3) Solución de 2,2'-bipiridina.- Disolver 10 g de 2,2'-bipiridina y 10 mL de ácido tioglicólico en agua destilada y aforar a 1000 mL.

### **Procedimiento**

En un matraz erlenmeyer se colocan 0.5 g de harina, se agregan 9.0 mL de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  al 10% y 1 mL de HCl 2N. La mezcla se agita mecánicamente durante 24 h a  $4^\circ\text{C}$ .

Transcurrido este tiempo se centrifuga el contenido del matraz durante 50 min a 3000 rpm a  $4^\circ\text{C}$ . Se transfiere 0.5 mL del sobrenadante a un tubo de ensaye y se adiciona 1 mL de la solución 2. El tubo se tapa con una canica y se mantiene en un baño de agua hirviendo durante 30 min. Transcurrido este tiempo el tubo se saca y se deja enfriar, una vez fríos se introducen en agua de hielo por espacio de 15 min Se retiran del agua helada y se deja a que adquiera la temperatura ambiente, finalmente el contenido del tubo se centrifuga durante 30 min a 3000 rpm.

Se transfiere 1 mL del sobrenadante a un tubo de ensaye y se adiciona 1.5 mL de la solución 3. Se mide la absorbancia en un espectrofotómetro (Perkin-Elmer Hitachi 200 Spectrophotometer) a 519 nm contra un blanco de agua destilada.

Con anterioridad se corre una curva estándar de ácido fítico en un rango de 3 a 30  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , lo que representa de 1.2 a 11.7 mL aproximadamente de la solución de referencia.

### CURVA PATRÓN DE ÁCIDO FÍTICO

<i>sal del ácido fítico mol/mL</i>	<i>ABSORCIÓN</i>
30	0.238
25	0.199
20	0.420
15	0.695
10	0.873
5	0.998
3	1.081

La pendiente se sacó por regresión lineal usando una calculadora Casio Fx-5000F, dando los siguientes resultados: A = 1.1826, B = -0.03494 y R = -0.9807.

### Determinación de taninos

Todas las soluciones se preparan con agua destilada o desionizada. El  $\text{FeCl}_3$  0.1M se prepara en 0.1 N de HCl y la solución después es filtrada.

#### Procedimiento

Se pesan 60 mg de muestra en forma de harina, en un tubo de prueba, se agregan 3 mL de metanol y se agitan constantemente por 1 min, se filtra en un embudo buchner al vacío. Al tubo de prueba se le adiciona 3 mL de metanol y se filtran también en el mismo embudo, con el fin de enjuagar. El filtrado es mezclado con 50 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  y es analizado en el intervalo de 1 h.

Para la extracción acuosa se utilizan 5 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  tanto para la extracción como para enjuagar, filtrar y al filtrado se le adiciona 50 mL de  $\text{H}_2\text{O}$ .

Al extracto se le adicionan 3 mL de  $\text{FeCl}_3$  0.1M en HCl 0.1 N e inmediatamente se toma el tiempo de adición de los 3 mL de  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  0.008 M. Cuando hay metanol presente en la solución el  $\text{FeCl}_3$ , tiene que ser adicionado en intervalos de tiempo iguales, ya que se incrementa la densidad óptica con el tiempo de exposición de  $\text{FeCl}_3$  y metanol.

La densidad óptica es leída en el lapso de 10 min de preparada, en una celda de vidrio de 1 cm a 720 nm. En un espectrofotómetro Zeiss PMQ II el cual es puesto a cero con agua. Se desarrolla el color en el lapso de 10 min, ya que la rapidez de la reacción es considerablemente pequeña antes de este tiempo y no más de este tiempo ya que hay formación de precipitado. Se corre un blanco de igual forma que la muestra, omitiendo el extracto, el cual se resta de las lecturas de las muestras.

Los resultados se expresan como equivalentes de catequina (equivalentes de catequina/100 g de muestra). Se corre un a curva estandar de catequina, la cual se prepara al momento.

#### **CURVA PATRÓN DE CATEQUINA**

<b>Catequina mg</b>	<b>ABSORCIÓN</b>
20	0.504
50	0.920
100	0.113

## Apéndice B

### Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el análisis de variancia, que puede definirse como una técnica mediante la cual la variación total presente en un conjunto de datos se distribuye en varios componentes. Con cada una de estas componentes está asociada a una fuente específica de variancia, de modo que en el análisis es posible averiguar la magnitud de las contribuciones de cada una de estas fuentes a la variación total.

A continuación se presenta el análisis de variancia (ANDEVA o ANOVA por sus siglas en inglés) en forma resumida para el caso de dos vías:

Fuente de la variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Prueba estadística
Columna	$c-1$	$SSC = \frac{\sum_i Y_i^2}{r} - \frac{Y^2}{cr}$	$S_1^2 = \frac{SSC}{c-1}$	$F = \frac{S_1^2}{S_6^2}$
Fila	$r-1$	$SSR = \frac{\sum_j Y_j^2}{c} - \frac{Y^2}{cr}$	$S_2^2 = \frac{SSR}{r-1}$	$F = \frac{S_2^2}{S_6^2}$
Error	$(c-1)(r-1)$	$SSE = SST - SSC - SSR$	$S_6^2 = \frac{SSE}{(c-1)(r-1)}$	
Total	$cr-1$	$SST = \sum_i \sum_j Y_{ij}^2 - \frac{Y^2}{cr}$		

( $i = 1, 2, \dots, c; j = 1, 2, \dots, r$ ), el modelo que sigue es  $Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$

Donde  $Y_i = \sum_j Y_{ij}$ ,  $Y_j = \sum_i Y_{ij}$ ,  $\sum_j Y_{ij} = \frac{1}{n_i} Y_i$

Este modelo es el que se sigue para el análisis estadístico que a continuación se describe mostrando los cuadros del análisis de variancia para cada caso.

Una vez que se ha determinado que existe diferencia, es necesario evaluar entre sí cuáles son diferentes. Aplicando la prueba de diferencia mínima significativa de Fisher (DMS), se calcula un factor equivalente a la distancia mínima permisible que una muestra puede alejarse de la otra.

La distancia entre una muestra y otra se calcula restando el valor de la media de dos muestras. Si esta diferencia es menor que el valor calculado de DMS, se concluye que no hay diferencia significativa entre esas medias; pero si el valor es mayor que el de DMS, entonces sí hay diferencia significativa entre ambas muestras, con un nivel de significancia equivalente al utilizado en el cálculo de DMS.

La fórmula de la diferencia mínima significativa es la siguiente:

$$DMS = t \frac{\sqrt{2CMe}}{n}$$

Donde:

$t$  = valor  $t$  de Student de tabla al 5% o 1% para dos colas, a los grados de libertad del error. Seleccionar el tipo de nivel de significancia según se haya detectado en la relación de variación (F).

$Cme$  = Valor del cuadrado medio del error

$n$  = total de juicios efectuados por muestra

#### **Análisis de variancia para el caso de taninos**

- 1)  $H_0$ : El efecto de los tratamientos es el mismo  
 $H_a$ : Al menos un efecto es diferente
- 2)  $H_0$ : El efecto de los cereales es el mismo  
 $H_a$ : al menos un efecto es diferente

**Tabla B-2**

Fuente de variación	Grados de libertad	Sc	Cm	Fcalc.	Ftab.	
					0.05	0.01
Tratamientos	2	1.006x10 <sup>-3</sup>	5.03x10 <sup>-4</sup>	18.158 >	6.94	18.0
Cereales	2	1.113x10 <sup>-3</sup>	5.56x10 <sup>-4</sup>	20.090 >	6.94	18.0
Error	4	1.11x10 <sup>-4</sup>	2.77x10 <sup>-5</sup>			
Total	8	2.284x10 <sup>-4</sup>	1.086x10 <sup>-3</sup>			

Del análisis estadístico se tiene que hay diferencias significativas a un nivel de significancia de 5 y 1%, tanto para los tratamientos como para los cereales.

Para saber si hay diferencias entre las muestras se utiliza el método de DMS para el cual se emplean las medias de tratamientos.

$$t = 4.604$$

$$DMS = 4.604 \frac{\sqrt{2(2.77^{-5})}}{3} = 0.0114$$

Si se encuentran diferencias mayores al valor de DMS, se dice que hay diferencias significativas entre las muestras.

#### **Análisis de variancia para el caso del Ca**

- 1) Ho: El efecto de las dietas es el mismo  
Ha: al menos un efecto es diferente
- 2) Ho: El efecto de la concentración de Ca es el mismo  
Ha: al menos un efecto es diferente

**Tabla B-1**

Fuente de variación	Grados de libertad	Sc	Cm	Fcalc.	Ftab.
					0.05
Dietas	5	0.6979	0.13958	3.9318 >	2.90
Ca	3	0.7676	0.2528	7.2056 >	3.29
Error	15	0.5333	0.0355		
Total	23	1.9988	0.4278		

Del análisis de variancia se encuentran diferencias significativas entre las muestras, a un nivel de significancia de 5%.

El valor de DMS encontrado se compara con los valores de las medias de las muestras, el cual es menor comparado con las medias, encontrándose diferencias significativas entre las medias de las muestras.

$$t = 2.131$$

$$DMS = 2.131 \frac{\sqrt{2(0.0355)}}{4} = 0.141$$

#### Análisis de variancia para el caso de REP

- 1) Ho: El efecto de las dietas es el mismo  
Ha: al menos un efecto es diferente
- 2) Ho: El efecto de la REP es el mismo  
Ha: al menos un efecto es diferente

Tabla B-3.

Fuente de variación	Grados de libertad	Sc	Cm	Fcalc.	Ftab.	
					0.05	0.01
Dietas	5	0.6435	0.1287	101.338 >	2.90	4.56
REP	3	1.1232	0.3744	294.80 >	3.29	5.42
Error	15	0.0191	$1.27 \times 10^{-3}$			
Total	23	1.7858	0.50437			

Del análisis de variancia se tiene que a niveles de significancia de 5 y 1%, hay diferencias significativas en las dietas y los valores de REP.

Obteniendo el valor de DMS y comparándolo con las medias de las columnas a un nivel de significancia del 5%, se tiene:

$$t = 2.131$$

$$DMS = 2.131 \frac{\sqrt{2(1.27^{-3})}}{4} = 0.0268$$

Encontrándose diferencias significativas entre las medias de las muestras.

#### Análisis de variancia para el caso de P

- 1) Ho: El efecto de los cereales es el mismo  
Ha: al menos un efecto es diferente
- 2) Ho: El efecto de la concentración de P es el mismo  
Ha: al menos un efecto es diferente

**Tabla B-4**

Fuente de variación	Grados de libertad	Sc	Cm	Fcalc.	Ftab. 0.05
Cereales	1	144.17	144.17	12.14 >	6.61
P	5	3109.56	621.91	52.41 >	5.05
Error	5	59.33	964.308		
Total	11	3313.06	1730.388		

Del análisis de variancia se observa que a un nivel de significancia del 5% hay diferencias significativas.

Realizando la prueba de DMS se tiene que,

$$t = 2.571$$

$$DMS = 2.571 \frac{\sqrt{2(964.308)}}{4} = 18.81$$

Se encuentran diferencias significativas entre las medias de las muestras.

#### Análisis de variancia para el caso de Ca/P

- 1) Ho: El efecto de las dietas es el mismo  
Ha: al menos un efecto es diferente
- 2) Ho: El efecto del valor Ca/P es el mismo  
Ha: al menos un efecto es diferente

**Tabla B-5**

Fuente de variación	Grados de libertad	Sc	Cm	Fcalc.	Ftab. 0.05
Dietas	5	6.205	1.241	3.98 >	2.90
Ca/P	3	14.223	4.741	15.22 >	3.29
Error	15	4.672	0.3114		
Total	23	25.102	6.293		

Del análisis de variancia se encuentran diferencias significativas tanto en las dietas como en Ca/P, a un nivel de significancia de 5%.

Para saber si existen diferencias entre las muestras se obtiene el valor de DMS y se compara con las medias de las columnas.

$$t = 2.131$$

$$DMS = 2.131 \frac{\sqrt{2(0.3114)}}{4} = 1.329$$

Se encuentran diferencias significativas en la mayoría a excepción de SN y MN, donde no hay diferencias significativas entre estas muestras.