



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**CONTENIDO DE FIBRA DIETÉTICA TOTAL Y ALMIDÓN RESISTENTE
EN DIFERENTES VARIEDADES DE MAÍZ CRUDOS Y COCIDOS**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA DE ALIMENTOS

P R E S E N T A

MARITZA RAMOS BENITEZ

MÉXICO, D.F.

2008





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesora: ANGELA SOTELO LÓPEZ
VOCAL: Profesora: OLGA DEL CARMEN VELÁZQUEZ MADRAZO
SECRETARIO: Profesora: KARLA MERCEDES DÍAZ GUTIERREZ
1er. SUPLENTE: Profesora: ROSA MARIA ARGOTE ESPINOSA
2o SUPLENTE: Profesora: ILIANA ELVIRA GONZÁLEZ HERNANDEZ

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Edificio E, Lab 111, Dpto de Farmacia, Conjunto E, Facultad de Química.

Asesor del Tema: Angela Sotelo López

Firma

Supervisor Técnico: Rosa María Argote Espinosa

Firma

SUSTENTANTE: Maritza Ramos Benitez

Firma

Esta tesis forma parte del proyecto

PAPIME No. PE205005

ÍNDICE	PAG.
Introducción	6
Objetivo General.....	8
Objetivos particulares.....	8
Antecedentes	
1. Fibra dietética.....	9
1.1. Definición	9
1.2. Clasificación de la fibra dietética	9
1.3. Características de la fibra dietética	10
1.3.1 Solubilidad.....	10
1.3.2. Viscosidad	11
1.3.3. Capacidad para ligar el agua	11
1.3.4. Absorción de pequeñas moléculas y iones	12
1.3.5. Fermentabilidad	12
1.4. Función de la fibra	13
2. Metabolismo del almidón.	13
3. Almidón resistente.....	14
3.1. Fermentación del almidón resistente	16
4. Maíz.....	17
4.1. Composición química del maíz	17
4.2. Contenido de almidón en maíz.....	18
4.3. Contenido de fibra dietética en maíz.....	18

4.4. Variedades de maiz.....	19
5. Nixtamalización.....	22
6. Efectos de la cocción.....	24
7. Métodos para la determinación de FDT y AR.....	24
Metodología	
Diagrama General de Trabajo	26
Muestras	27
Fibra dietética total	30
Almidón resistente.....	40
Análisis estadístico.....	49
Resultados y Análisis de resultados.....	50
Conclusiones.....	57
Bibliografía	59
Anexos.....	63

INTRODUCCIÓN

La fibra dietética ha tomado mayor interés a raíz de la relación de ésta con las enfermedades cardiovasculares crónicas, como la diabetes e incluso como prevención de algunos tipos de cáncer.

Por lo anterior, el papel de la fibra dietética y el almidón resistente de la dieta en el mantenimiento de la salud, es ahora considerado tan importante nutricionalmente como los niveles de nutrientes absorbibles dentro de los alimentos.

La fibra dietética total (FDT) está constituida por todos los componentes de los alimentos que no son degradados por las enzimas del aparato digestivo. Dentro de la fibra dietética total; se encuentra el almidón resistente (AR) que representa una fracción pequeña del almidón total, generalmente no es considerado para analizarlo, sin embargo, resiste a la degradación por las enzimas del tracto gastrointestinal y puede ser formado al momento de la cocción en los alimentos. (Sungsoo, 2001)

La fibra dietética de la dieta generalmente proviene del consumo de alimentos de origen vegetal , dentro de éstos podemos encontrar a los cereales, que además de funcionar como una buena fuente de carbohidratos, toman importancia, por la fibra dietética insoluble, que se ha encontrado en el pericarpio y el salvado de algunos granos.

En nuestro país el cereal de mayor importancia es el maíz, por su alto consumo dentro de la dieta del mexicano y su uso no sólo se limita a las tortillas; si no que una vez nixtamalizado se consume de manera muy variada. Es por esto que el maíz se incluye en este estudio para conocer la cantidad de FDT que contiene.

La mayoría de los estudios realizados a diferentes alimentos sólo contemplan fibra cruda, sin embargo, es necesario conocer la fibra dietética y el aporte a ésta del almidón resistente cuando es llevado a un calentamiento ya sea por nixtamalización o cocción convencional para conocer de manera real las cantidad de FD y AR que se están consumiendo.

En el presente trabajo se intenta conocer el efecto de la cocción a la que se someten diferentes tipos de maíz, así como la cantidad de fibra dietética total contenida en este cereal.

OBJETIVO GENERAL

Conocer el contenido de fibra dietética y almidón resistente en cinco variedades de maíz incluyendo el efecto de la cocción sobre dichos parámetros.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Cuantificar y comparar el contenido de FDT y AR en cinco variedades de maíz crudos y cocidos.
- Conocer el efecto de la cocción tradicional de las muestras en la cantidad de fibra dietética y almidón resistente.

ANTECEDENTES

1. Fibra dietética.

1.1. Definición.

La definición química-fisiológica de fibra dietética como los "polisacáridos y materiales remanentes de la planta que son resistente a la hidrólisis por las enzimas alimentarias humanas (la digestión) es la base para los métodos oficiales AOAC para Fibra dietética total (FDT) que se ha aceptado para alimentos (Cho et al., 1997).

Sin embargo la fibra dietética se define mas detalladamente como la parte comestible de plantas o carbohidratos análogos resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado del hombre con una fermentación parcial en el intestino grueso.

Hoy en día, algunos investigadores incluyen dentro de la fibra dietética al fragmento indigesto que contiene oligosacáridos y almidones resistentes, proteínas resistentes, y compuestos asociados como los polifenoles (Selvedran, 1987).

1. 2. Clasificación de la fibra.

La fibra dietética es una mezcla compleja de entidades químicas, su concentración y la composición en las fuentes diferentes no es constante ni uniforme (Potty, 1996). Esta diversidad física y química nos permite clasificarla en dos grupos fibra dietética insoluble y fibra dietética soluble.

La forma de clasificar a la fibra está basada en la formación de una dispersión cuando se mezcla con el agua en el caso de la fibra soluble, o en que no se forma dicha dispersión como sucede con la fibra insoluble. Las fracciones solubles e insolubles comparten muchas propiedades físicas; la fibra soluble puede distinguirse por su habilidad de formar geles viscosos en el tracto intestinal. La fibra insoluble no exhibe la viscosidad pero puede caracterizarse en cambio por su capacidad de abultamiento fecal. (Davidson, 1998).

La fibra dietética soluble incluye xiloglucanas, galactomananas, β -glucanos, sustancias pécticas, gomas y mucílagos, mientras las celulosas, hemicelulosas, arabinosilanos, lignina y almidón resistente comprenden el fragmento insoluble (Olson , 1987).

1.3. Características de la fibra.

Las propiedades físicas de fibra dietética dependen de la naturaleza química de sus componentes.

La fibra dietética es una compleja mezcla de polisacáridos con muchas diferentes funciones y actividades durante su paso por el tracto gastrointestinal. La mayor parte de estas funciones depende de las propiedades fisicoquímicas.

1.3.1 Solubilidad.

La solubilidad es uno de los factores principales en las propiedades nutricionales de la fibra dietética.

La fibra soluble atrapa lípidos del plasma y protege contra enfermedades vasculares, la fibra insoluble promueve la laxación y manifiesta ser protectora contra el cáncer colorectal. En general la “fibra soluble” es definida como fuertemente hidratada en agua.

La celulosa regularmente adopta una estructura cristalina ordenada de cadenas de polisacáridos que se forma gracias a los enlaces de hidrógeno. Estas estructuras ordenadas son insolubles. La estructura irregular de los β -glucanos previene la formación de la estructura cristalina ordenada, de este modo estos polisacáridos tienden a ser solubles en agua. Similarmente, estructuras ramificadas, como los arabinoxilanos en trigo, son incapaces de adoptar estructuras cristalinas ordenadas y esos compuestos son también solubles en agua. Polisacáridos con grupos cargados (COO^- ó SO_3^-) como las pectinas y carrageninas, son también solubles en agua, en este caso debido a la repulsión electrostática que previene el empaquetamiento de las moléculas en estructuras ordenadas.

1.3.2 Viscosidad.

La mayoría de los polisacáridos solubles en agua produce soluciones viscosas. La viscosidad es causada por interacciones físicas entre moléculas de polisacáridos en solución. Muchos polisacáridos existen en solución con una conformación desordenada “espiral al azar” sus moléculas casualmente fluctuando bajo la influencia del movimiento browniano. A bajas concentraciones las moléculas se encuentran separadas y tienen un movimiento libre e independiente. Cuando la concentración es incrementada, las moléculas son eventualmente afectadas, las más lejanas pueden ser acomodadas solo por sobreposición e interpenetración, ocurriendo así el entramado que da características viscosas.

1.3.3 Capacidad de ligar el agua.

Los polisacáridos son moléculas hidrofílicas, ellos tienen numerosos grupos hidroxilos libres, por los cuales pueden formar enlaces por puente de hidrógeno con el agua. Consecuentemente polisacáridos solubles e insolubles tienen una habilidad semejante para ligar el agua. La más obvia

demostración de la habilidad de los polisacáridos para ligar agua es el fenómeno de gelificación. Una pequeña cantidad de polisacáridos, alrededor del 1% de agarosa, puede ser suficiente para atrapar el agua en el cual estos están disueltos, formando una cadena tridimensional de moléculas de polisacáridos. El agua es retenida dentro de la matriz del polisacárido, incapaz de fluir lejos y el sistema tiene propiedades semisólidas características de un gel. La fibra insoluble también puede absorber agua pero es mas en la manera de esponja. (Sungsoo, 2001)

1.3.4. Absorción de pequeñas moléculas y iones.

En adición del agua ligada los polisacáridos tiene la habilidad para ligar moléculas polares y iones. La reducida disponibilidad de minerales y absorción de electrolitos asociado con algunas dietas altas en fibra parece ser debido al ligue de iones metálicos (Cobiac, 1999). El número de grupos carboxilo libres y particularmente el contenido de ácido urónico parece ser uno de los principales factores determinantes de la habilidad de los polisacáridos para ligar iones metálicos. Esto es posible debido a que estos iones son subsecuentemente liberados y absorbidos al tiempo que la fibra es degradada en el colon.

Aún más cuestionable es la frecuentemente citada habilidad de la fibra para ligar ácidos biliares. Estos ácidos son desviados del ciclo enterohepático, perdiéndolos en la excreción fecal, y la pérdida es benéfica por la conversión del colesterol mediante los ácidos biliares en el hígado. (Southgate, 1998).

1.3.5. Fermentabilidad.

La fermentación bacteriana de la fibra dietética en el intestino grueso produce ácidos grasos de cadena corta como el acético, el propiónico y el butírico. Los productos de fermentación primarios

incluyen además, anhídrido carbónico, hidrógeno y metano. Estos productos cambian el ambiente fisicoquímico del intestino grueso ya que los ácidos producidos bajan el pH y la disponibilidad de substratos de carbohidratos produciendo un cambio en el metabolismo bacteriano. (Southgate, 1998).

1.4. Función de la fibra.

La acción primaria de la fibra en el organismo humano ocurre en el tracto gastrointestinal, presentando efectos fisiológicos diferentes que incluyen, la alteración del tiempo de tránsito gastrointestinal, cambio de saciedad, influye en los niveles de colesterol del cuerpo, la glucosa en sangre después de la comida , nivela la insulina y la flatulencia, se altera la biodisponibilidad de nutrientes, esto es debido a las propiedades físico-químicas de los componentes que la conforman (Hopwell, 1993; Lajolo, 2001).

Los efectos de la fibra dietética en el peso fecal son aparentemente dependientes del tipo de polisacáridos y los materiales asociados que contribuyen a la arquitectura de la pared celular de la planta.

2. Metabolismo del almidón.

Los factores que afectan la digestión del almidón en los alimentos incluyen: el grado de gelatinización, tamaño de partícula del gránulo, relación amilosa/amilopectina e interacciones con lípidos, proteínas y taninos. El procesamiento puede incrementar la disponibilidad enzimática del almidón a diferentes grados; este incremento en la disponibilidad puede atribuirse a diversos factores como la gelatinización, cambios en la cristalinidad, destrucción de la estructura proteínica y paredes celulares que encapsulan el gránulo. Por otro lado, la retrogradación del almidón y

formación del complejo amilosa-lípido, tienen un efecto opuesto y restringe o evita la digestión (Holm & Björck, 1988).

3. Almidón Resistente.

El almidón resistente es definido como la suma de almidones y los productos de la degradación del mismo no absorbidos en el intestino de individuos sanos; es un carbohidrato que surge de la incompleta digestión de la comida en el intestino delgado pero tiene efectos en el intestino grueso. (Asp, 1992; Sievert et al., 1991). La resistencia del almidón a la digestión del intestino delgado nos conduce a pensar la no digestibilidad del almidón dentro del intestino, baja la respuesta glicémica en los alimentos que contiene AR.

Por sus múltiples características se puede clasificar al almidón resistente en cuatro diferentes tipos:

El AR1 es comprendido de almidón físicamente inaccesible al ataque de enzimas encontrado en partes del grano molido y semillas. El AR2 consiste en los gránulos resistentes a la digestión, mientras el AR3 incluye almidón retrogradado formado por el cocimiento y consiguiente enfriamiento de comidas almidonadas. El AR4 son los almidones químicamente modificados estos son usados mucho en la industria alimentaria por sus atributos tecnológicos. Las modificaciones incluyen esterificación y eterización e impulsa una línea de productos con atributos tecnológicos deseables, los cuales permite también tener propiedades benéficas nutricionales.

Los AR1 y AR2 son los almidones nativos, ellos perderán el potencial de AR si son gelatinizados durante el procesado de los alimentos. El AR3, formado a través de un cocimiento previo del alimento y seguido por ciclo de enfriamiento, es estable al calentar 100°C porque se retrograda

antes el almidón. Por otro lado, AR4 formado por uniones cruzadas, también es estable cuando se trata con enzima o ácido. (Sae-Hun, 2006).

Tabla 1 Clasificación nutricional del almidón resistente.

Tipos de almidones resistentes (AR)	Ejemplos de presencia
AS1 Físicamente inaccesible al ataque de enzimas	Partículas de grano molido y semillas
AR2 Gránulos resistentes a la digestión	Papa cruda, plátano verde, almidones de alta amilosa.
AR3 Retrogradado	Papa cocidas y enfriadas, pan, cereal para el desayuno
AR4 Modificado químicamente	Eterizado, esterificado, almidones con uniones cruzadas.

Se ha reportado que el AR se forma después de someter al almidón y alimentos almidonados a un tratamiento con calor y altos volúmenes de humedad (Englyst et al., 1983; Siljestrom & Asp., 1985; Björck et al., 1987).

De estos cuatro tipos, AR tipo 3 parece ser particularmente interesante debido a su funcionalidad nutritiva durante los procesos de cocción, puede usarse como un ingrediente alimentario en confituras. Se produce en dos pasos: gelatinización que es una ruptura de la estructura granular calentando con un exceso de agua y retrogradación, una lenta recristalización, de las moléculas de almidón al refrescar o deshidratar. El fragmento resistente puede ser entonces aislado usando las

enzimas amilolíticas como la α -amilasa pancreática o térmicamente, una α -amilasa estable al calor (Thompson, 2000).

3.1. Fermentación del almidón resistente.

Los mecanismos de una digestión incompleta de almidón pueden ser varios. Sin embargo, el almidón resistente cuando llega al colon constituye un fácil sustrato disponible de ser fermentado por la microflora colónica. La importancia in vivo del almidón resistente no es todavía clara. Los ácidos grasos volátiles que son producidos cuando se fermentan los carbohidratos en el colon, se sugiere que tiene efectos positivos en el colesterol y carbohidratos del metabolismo (Jenkins et al., 1987). La disminución en el pH del material fecal, debido a la producción de ácidos, también se ha sugerido para ser un factor preventivo contra el cáncer en el intestino grueso (Thornton et al., 1985). Sin embargo, para los infantes que no tengan una microflora fecal totalmente desarrollada, una ingestión excesiva de carbohidratos indigeribles puede causarles diarrea.

La disminución del pH es de interés, por que manifiesta ser un mecanismo por el cual la fermentación baja el riesgo de colonización por bacterias patógenas ácido-sensibles. Adicionalmente, un ambiente mas ácido, limita la absorción de componentes tóxicos básicos (como son aminas mutagénicas) por incremento de la ionización de los ácidos principales. (Sungsoo, 2001).

4. Maíz. (*Zea mays* L.)

El maíz constituye, junto con el arroz y el trigo, uno de los principales alimentos cultivados en el mundo. En México el maíz es uno de los principales ingredientes usado en alimentos especialmente por su versatilidad.

La mayor parte del maíz en nuestro país se utiliza para la elaboración de tortillas, producto básico de la dieta del mexicano, sin embargo se emplea para hacer otros productos de consumo generalizado como: tamales, quesadillas, sopes, entre otros; también se elaboran otros productos como botanas, jarabes de alta fructosa, edulcorantes, alcohol industrial, whisky, sémola, harina, aceite de germen, además de aprovechar el almidón y la proteína (Tedaldi, 1985).

4. 1 .Composición química del maíz.

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

La *cubierta seminal o pericarpio*, se caracteriza por un elevado contenido de fibra cruda, aproximadamente el 87%, la que a su vez está formada fundamentalmente por hemicelulosa (67%), celulosa (23%) y lignina (0.1%). El *endospermo*, en cambio, contiene un nivel elevado de almidón (87%), proteínas (8%) y un contenido de grasas relativamente bajo. Aporta, además, la mayor parte del nitrógeno que contiene el maíz. El *germen*, se caracteriza por un elevado contenido de grasas crudas (33% por término medio), contiene también un nivel elevado de proteínas (próximo al 20%) y minerales. También contiene nitrógeno, pero en menor medida que el endospermo. De la *capa de aleurona*, de la cual se conocen pocos datos, tiene un contenido relativamente elevado de proteínas (19%) y de fibra cruda. Contiene cantidades reducidas de nitrógeno. (González, 1995)

La fibra cruda del grano, se encuentra fundamentalmente en la cubierta seminal. La distribución ponderal de las partes del grano, su composición química concreta y su valor nutritivo tienen gran importancia cuando se procesa el maíz para consumo.

4.2. Almidón en maíz.

El componente químico principal del grano de maíz es el almidón, al que corresponde hasta el 72 o 73% del peso del grano. Otros hidratos de carbono son azúcares sencillos en forma de glucosa, sacarosa y fructosa, en cantidades que varían del 1 al 3% del grano. El almidón está formado por dos polímeros de glucosa: amilosa y amilopectina. La amilosa es una molécula esencialmente lineal de unidades de glucosa, que constituye hasta el 25-30% del almidón. El polímero amilopectina también consiste de unidades de glucosa, pero en forma ramificada y constituye hasta el 70-75% del almidón. (González, 1995)

Además de su valor nutritivo, el almidón es importante a causa de su efecto sobre las propiedades físicas de muchos de nuestros alimentos. Por ejemplo: la gelificación del pudín, el espesamiento de las salsas y el fraguado de algunos postres, está todo ello fuertemente influenciado por las propiedades del almidón.

4.3. Fibra dietética en el maíz.

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

La fibra de maíz y el salvado de maíz han tenido poco éxito como productos de comida o como ingredientes alimentarios. Sin embargo, varios investigadores han mostrado que la fibra de maíz y el salvado de maíz tienen valiosas propiedades para reducir los niveles de colesterol (Anderson, 1994).

Se piensa que la fibra soluble pueden funcionar como gel o constructores de viscosidad en el intestino, esto hace que se reduzca la difusión traslacional y, disminuye la absorción de todos los ingredientes de los alimentos incluso el colesterol y la reabsorción de ácidos de la bilis en el lumen. Algunos de los materiales menos solubles pueden atraparse físicamente o iónicamente actuando recíprocamente con los esteroides (los ácidos de la bilis), interfiriendo por eso con la formación de micelas (Carr, 1996; Smits, 1997). Lo anterior es considerado como evidencia de que las fibras dietéticas reducen el colesterol del plasma indirectamente vía fermentación de ácidos grasos de cadena corta con los productos (principalmente el acetato, propionato, y butirato). (Moundras, 1994)

Las altas concentraciones de ácidos grasos de cadena corta también producen pH ácido colónico que podría bajar la solubilidad y reabsorción de ácidos de la bilis.

4.4. Variedades de maíz.

Entre las variedades de maíz estudiadas se encuentran:

Maíz azul (*Zea mays L*)

La mayoría de los maíces azules son maíces de harina. Los granos están hechos por endospermo suave y harinoso cubierto por una cáscara. La capa fina de la célula exterior contiene pigmento azul, que proporciona el color al maíz. El maíz azul tiene un sabor más fuerte, dulce, y con sabor a nueces a diferencia a otros tipos de maíces de harina.

En el grano de maíz azul, la capa de aleurona contiene los pigmentos antocianina que le dan el color azul (Betrán et al, 2001). Tales antocianinas se derivan de la cianidina y pelargonidina (Harbone, 1969).

El grano azul con endospermo harinoso posee mayor valor alimenticio que el grano amarillo, pues el contenido de lisina en el maíz azul es de 2.3 mg g⁻¹ contra 1.4 mg g⁻¹ registrado en el maíz híbrido amarillo; el contenido de proteína y minerales en el maíz azul también es más alto que el de otras variedades. Además, el maíz azul contiene flavonoides, que actualmente se utilizan como fuente de antioxidantes (Dickerson, 1990). No obstante, las características más destacadas del maíz azul son el atractivo color del grano y su sabor diferente.

Maíz amarillo (*Zea mays L*)

La norma oficial mexicana (NMX-FF-034-1995-SCFI) lo define como aquel maíz de granos amarillos o amarillos con un tono rojizo, y que tenga un valor menor o igual a 6% de maíces de otro color.

Hauge y Trost (1930) informaron de una asociación en el maíz entre el endospermo amarillo y la vitamina A. Mangelsdorf y Fraps (1931) encontraron una relación cuantitativa directa entre la vitamina A y el número de genes para el pigmento amarillo en el endospermo.

Watson (1962) explicó que la concentración de pigmentos amarillo en el grano de maíz es mayor en la región córnea del endospermo. El pigmento amarillo del maíz es una mezcla de seis a ocho compuesto químicos distintos, pero estrechamente relacionados, que pertenecen a la familia de los pigmentos naturales conocidos como carotenoides.

Grogan y Blessin (1968) subrayaron que dos clases generales de pigmentos carotenoides, los carotenos y las xantofilas, son la causa principal del color amarillo del maíz. El contenido de xantofila es considerablemente mayor que el contenido de caroteno en granos y hojas.

Este maíz es procesado en la industria almidonera, ya que el gluten forrajero es muy codiciado por los ganaderos, debido a su contenido de carotenos (precursores de la vitamina A). También se utiliza en la fabricación de frituras de maíz, dada la coloración final del producto.

Maíz blanco (*Zea mays L*)

La norma oficial mexicana (NMX-FF-034-1995-SCFI) lo define como el maíz que corresponde a este color, que presenta un valor menor o igual a 5% de maíces amarillos y que contenga como máximo 5% de maíces oscuros (rojo, azul y morado). Un ligero tinte cremoso, pajizo o rosado, no influye para designarlo como blanco.

Este producto se identifica por el color blanco de su grano, el cual produce un almidón blanco. La dureza del grano es normalmente alta en este maíz; esta propiedad lo hace particularmente útil para la molienda en seco y para procesamiento alcalino para uso alimentario. Se utiliza principalmente para el consumo humano en cereales, productos de refrigerio a base de maíz y alimentos de cocina tipo mexicana. Una pequeña cantidad de maíz blanco es procesada en molienda en húmedo para producir productos exclusivos de muy alta pureza. Este tipo de producto tiene también usos en molienda en húmedo limitada para usos en almidón y papel.

Los tipos de maíz blanco son iguales a los de maíz amarillo en sus contenidos de carbohidratos pero deficientes en vitamina A. (Robert, 1988)

Maíz palomero (*Zea mays L. subsp. mays Everta*)

Maíz palomero o maíz reventador caracterizado por la capacidad explosiva de la cubierta al ser sometida al calor, se cultiva para dos fines principales, para consumo humano como rosetas o palomitas y como base para confitería.

Weatherwax (1922) pensó que la habilidad para reventar está condicionada por la proporción relativa de endospermo vítreo, en donde los granulos de almidón están encajados en un material coloidal elástico y tenaz, que limita y resiste la presión generada dentro del gránulo hasta que alcanza su fuerza explosiva. Aproximadamente 14% de humedad es el óptimo para el mejor reventado. Las propiedades de reventamiento parecen seguir muy de cerca la proporción relativa de almidón córneo. (Robert, 1988)

El primer país productor del mundo es Estados Unidos, que posee casi la mitad de la producción mundial, al que le siguen la China, Brasil y México.

Maíz cacahuacintle (*Zea Mays*)

También llamado pozolero, variedad de maíz, de mazorca grande y grano redondo y tierno; se emplea, por ejemplo, en la preparación de tamales cernidos. (Gonzales, 1995)

5. Nixtamalización.

Nixtamalización (o cal-cocción) es un proceso indígena de las culturas Mesoamericanas, conocido desde la época prehispánica, que consiste en la cocción alcalina de granos de maíz, usando cal o solución de hidróxido de calcio. Este proceso es responsable de las importantes características

fisicoquímicas, nutritivas y sensoriales de los productos basados en maíz , incluyendo la remoción del pericarpio (Serna-Saldivar, 1990), incorporación de calcio a los granos (Serna-Saldivar, 1991), mejora de la biodisponibilidad de la niacina (Koetz, 1977), y formación del sabor y compuestos de color que imparten las típicas características organolépticas a los productos finales (Serna - Saldivar et al., 1990). La masa está constituida por los polímeros de almidón mixto, los gránulos parcialmente gelatinizados, el almidón intacto, almidonanos, los gránulos, los fragmentos de endospermo, y lípidos. Todos estos componentes desarrollan una red heterogénea compleja en la fase continua de agua (Gómez, 1987).

El proceso cocción-alkalina lleva a un ablandamiento de las cáscaras que se eliminan fácilmente por el simple lavado con agua. El líquido de cocción y el agua de lavado, forman el llamado "nejayote", éste es una fuente importante de contaminación, ya que tiene un alto contenido de materia orgánica, y es especialmente rico en polisacáridos (Serna-Saldivar, 1990). De hecho, las cáscaras de granos de maíz son principalmente constituidas de hemicelulosas (Mestres, 1991). Estas hemicelulosas, conocidas como las encías de cáscara de maíz, son solubles en álcali, y tienen posibles propiedades funcional, como el espesar, emulsificar, estabilizar y extender (Whistler, 1989).

Este tratamiento tiene varias funciones, tales como, la gelatinización del almidón, saponificación de lípidos, y también la solubilización de algunas proteínas que rodean los gránulos de almidón (Rooney, 1999).

Otro importante efecto de la nixtamalización incluye el incremento de la biodisponibilidad de niacina mejorando la calidad de la proteína, incrementando el contenido de calcio y la reducción de la concentración de aflatoxinas en los productos de fermentación de la masa del maíz nixtamalizado. (Sefa Dedeh, 2004)

Al proceso de nixtamalización se le han hecho variaciones a lo largo del tiempo, esperando que la calidad de los productos sea mejor. De acuerdo a la literatura las condiciones varían un poco, pero en general el calentamiento es a 90°C, 30 minutos, y se deja reposar en agua de cocción (nejayote) aproximadamente 12 horas, para este estudio éstas fueron las condiciones de nixtamalización. (Sae-Hun Mun & Malshick Shin, 2006)

6. Efecto de la cocción.

Durante el procesamiento, las propiedades fisicoquímicas de la fibra dietética pueden modificarse, como una consecuencia, los efectos fisiológico pueden cambiarse. Las uniones glicosídicas de los polisacáridos de la fibra dietética y las asociaciones entre las cadenas de polisacárido pueden romperse (Albershein, 1960; Reinders, 1999; Selvendran, 1994), produciendo una solubilización o pérdida de fibra dietética. La degradación puede elevarse en la presencia de cationes y se ha demostrado que la degradación de pectina aumenta cuando los cationes se encuentran presentes en el tratamiento con calor (Keijbets, 1974; Krall, 1998; Sajjaanantakul, 1993); los cationes divalentes promueven una degradación más alta que en el caso de cationes monovalentes.

7. Métodos para la determinación de FDT y AR.

Se categorizan los métodos de fibra típicamente en tres tipos (químico-gravimétrico, enzimático-gravimétrico, o enzimático-químico) que consisten en aislar los residuos fibrosos y su consiguiente medición. Después de que el residuo fibroso se aísla, es moderado gravimétricamente (pesando el residuo) o químicamente, hidrolizando el residuo y midiendo los componentes individuales, como los azúcares y lignina. (Agama-Acevedo, 2004)

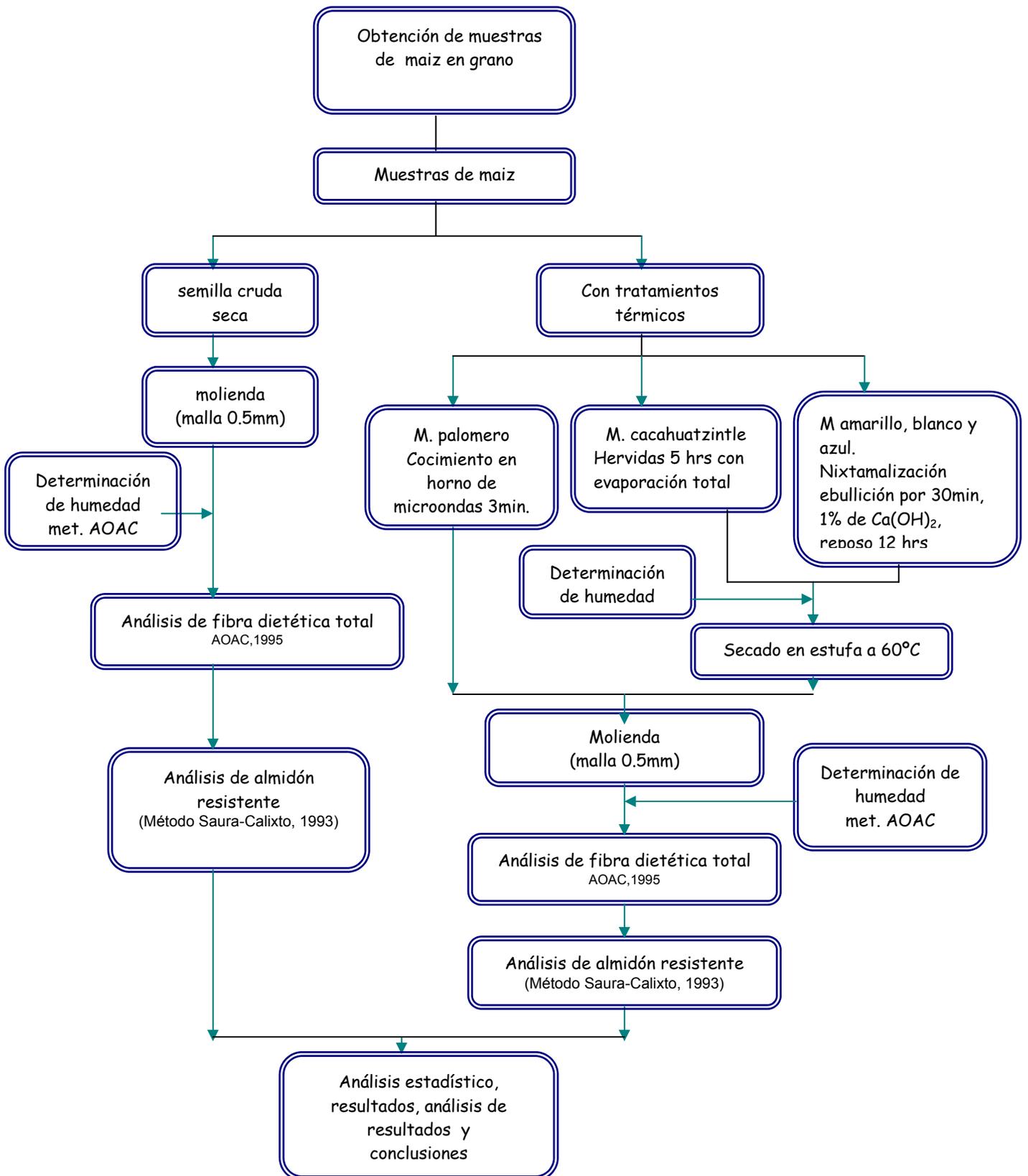
En el Reino Unido el método oficial es el reportado por Englyst & Cumming et al (1990), en el mismo se cuantifica la fibra dietética como polisacárido no amiláceos de las paredes celulares en los vegetales pero se ignora la lignina.

En la actualidad los métodos mas utilizados son los métodos oficiales de la AOAC, 985,29 (1995) enzimáticos-gravimétricos basados en el trabajo de Prosky et.al., (1988) y el método de Englyst enzimático- químico (Englyst Cummings et al 1990).

Para la cuantificación de almidón resistente existen metodologías, como el método de Saura Calixto, 1993), que es el que se utilizó en este estudio, partiendo de los residuos de FDI y cuantificación del almidón como glucosa libre, después de una digestión con KOH y posterior hidrólisis con la enzima amiloglucosidasa.

METODOLOGÍA

Figura 1. Diagrama general de Trabajo



MUESTRAS

Las muestras evaluadas fueron elegidas por la cantidad de fibra dietética y almidón resistente, ya que se conoce que tiene una cantidad aceptable además de su importancia histórica dentro de la cocina mexicana debido a que es la base de nuestra alimentación. Las muestras analizadas fueron:

- a. Maíz blanco
- b. Maíz palomero
- c. Maíz azul
- d. Maíz cacahuacintle.
- e. Maíz amarillo

Las diferentes variedades se compraron por kilo en el mes de diciembre del 2006, en el mercado ubicado a un costado de la Delegación Iztapalapa.

ACONDICIONAMIENTO DE LAS MUESTRAS.

Preparación de muestras crudas:

Se pesaron 200 gramos de maíz seco crudo de las variedades de estudio y se pasaron por un molino con una malla de 1mm (parte de esta harina se molió en un mortero y se pasaron por una malla de 0.5 mm, para la determinación de fibra dietética total y almidón resistente), la harina es almacenada a temperatura ambiente en frascos de plástico.

Para las muestras con tratamiento térmico.

Maíz blanco, azul y amarillo

En este caso se nixtamalizaron tomando 300 gramos de maíz crudo, se colocó en una olla de 4 litros, se le agregó agua hasta 4 veces el volumen del grano, se le agregó el Ca(OH)_2 al 1%, y se sometió a cocimiento a 90°C durante 30 minutos, el nejayote (agua de cocción con cal) junto con el maíz se dejó reposar 12 hrs, después se hicieron lavados para eliminar el nejayote y el pericarpio, una vez eliminado se colocó el maíz en una estufa de aire a una temperatura entre $55\text{-}60^\circ\text{C}$; una vez seco el maíz se pasó por el molino usando una malla de 1mm, esta harina, se hace pasar una vez mas por el molino ahora usando una malla 0.5mm para las determinaciones de fibra dietética total y almidón resistente.

Maíz palomero

En este caso se sometió a cocción en bolsa de papel, durante 3 minutos en horno de microondas común; una vez hecha la palomita se pasó por el molino usando una malla de 1mm, esta harina, se hace pasar una vez mas por el molino y se pasa a través de una malla 0.5mm para las determinaciones de fibra dietética total y almidón resistente.

Maíz pozolero

Para este caso se llevó a cabo una pseudo-nixtamalización previa a la cocción, se colocó en una olla de 4 litros, se le agregó agua hasta 4 veces el volumen del grano, se le adicionó el Ca(OH)_2 al 1%, y se sometió a cocimiento a 92°C durante 30 minutos, no se dejó reposar, el maíz se enjuaga, se somete a calentamiento con suficiente agua en una estufa hasta que reviente, aproximadamente 5 hrs a 92°C , ya suave y sin agua de cocción, la cual se evaporó, se somete a secado en estufa de aire en charolas a temperatura de $55\text{-}60^\circ\text{C}$, durante 5 días, hasta obtener las muestra secas una vez seco el maíz se muele en el molino pasándola por una malla de 1mm, esta harina, se pasa una

vez más por el molino y se pasa a través de una malla 0.5 mm para las determinaciones de fibra dietética total y almidón resistente.

FIBRA DIETÉTICA TOTAL. (AOAC, 1995)

Fundamento

Se determina la fibra dietética total contenida en maíz usando un método enzimático gravimétrico (Método oficial de análisis Internacional, AOAC, (1995). Las muestras de alimentos secas y libres de grasa son gelatinizadas con α -amilasa, estable al calor, posteriormente son digeridas enzimáticamente con proteasa y amiloglucosidasa para eliminar la proteína y almidón presente en la muestra. El etanol es adicionado para precipitar la fibra dietética soluble (como se indica en el diagrama 1). Los residuos obtenidos son filtrados y lavados con etanol y acetona. Después de secarlos, los residuos se pesan. En la mitad de las muestras se mide la proteína y las otras son calcinadas a cenizas. La fibra dietética total se obtiene restando el peso del residuo, el peso de la proteína y el de la ceniza. Al método original se le hizo la modificación de utilizar todos los reactivos a la mitad para evitar gasto de reactivo innecesario.

Reactivos

1. TDF-1 00 A Kit -Total Dietary Fiber Assay Kit.

- α Amilasa, estable al calor; Sigma A 3306
- Proteasa *Bacillus licheniformis*; Sigma P 3910
- Amiloglucosidasa de *Aspergillus niger*; Sigma A 9913
- Celita™ lavada con ácido; Sigma C 8656

2. TDF-C10 Kit—Total Dietary Fiber Assay Control Kit,

- Arabinogalactana; Sigma A 9788
- Caseína; Sigma C 7906
- β -Glucano; Sigma G 7391
- Pectina; Sigma P 7536
- Almidón de maíz; Sigma S 2388
- Almidón de trigo, Sigma S 1514

-
-
3. Éter de petróleo; R.A. 18,451-9
 4. Alcohol etílico; reactivo ACS; R.A. 45,984-4
 5. Acetona, reactivo ACS; R.A. 32,011-0
 6. Fosfato de sodio, dibásico, anhidro; R.A. S 0876
 7. Fosfato de sodio, monobásico, anhidro; R. A. S0751
 8. Hidróxido de sodio, 1.0 N; R. A. 930-65
 9. Acido clorhídrico, 1.0 M HCl; R. A. 920-1

Equipo

1. Horno con aire a 105 °C
2. Mufla
3. Balanza analítica capaz de pesar hasta 0.1mg
4. Potenciómetro: Estandarizado a pH 4.0 y pH7. Corning 430
5. Estufa de aire imperial II- lab line
6. Molino Wiley modelo 4

Material

1. Crisol Gooch : Porosidad # 2 (grueso 40-60 micrones)
2. Fuente de vacío. Con trampa para prevenir la contaminación en caso de que se pase liquido
3. Desecador
4. Baño de agua hirviendo
5. Baño de agua constante a 60 °C con agitador que proporcione agitación a los vasos de digestión durante la hidrólisis enzimática.
6. Vasos de precipitados altos de 100, 400 y 600 mL
7. Matraces Kitasatos de 1000 mL
8. Alargadera de hule para crisol Gooch
9. Barras magnéticas 22x8 mm
10. Pipeta automática de 50-200 μ L
11. Termómetro (-10 a 100°C)

Preparación de Soluciones

Se usa agua destilada o desmineralizada para hacer las soluciones.

1. Etanol al 41%.

Se mide 573 mL de agua y en un matraz volumétrico de un litro. Se diluye el volumen con etanol al 95%. Se mezcla y se lleva al volumen nuevamente con etanol al 95% en caso necesario. Agitarlo.

2. Amortiguador de fosfatos, 0.08M, pH 6.0

Se disuelven 1.4 g de Na_2HPO_4 , anhidro y 8.4 g de NaH_2PO_4 anhidro en aproximadamente 700 mL de agua. Se diluyen a un litro con agua. Verificar el pH y ajustar si es necesario con NaOH o H_3PO_4 . Guardarlo en frascos bien tapados a temperatura ambiente.

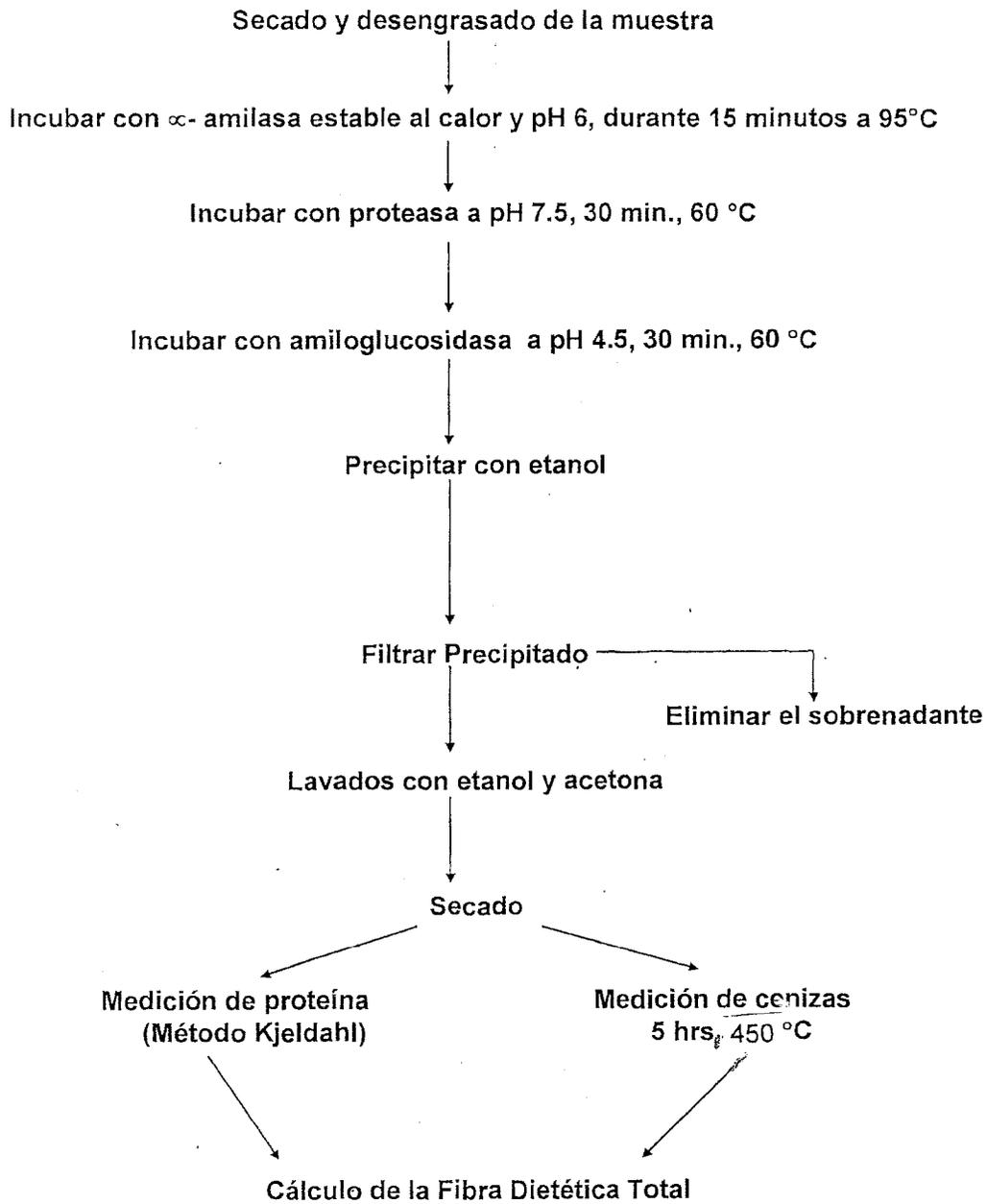
3. Solución de hidróxido de sodio, 0.275 N

Se diluyen 275 mL de solución de NaOH 1.0 N a 1 litro con agua en un matraz volumétrico. Se guarda en frascos bien tapados a temperatura ambiente.

5. Solución de Ácido clorhídrico, 0.325 M

Se diluyen 325 mL de solución de HCl 1.0N a 1 litro de agua en un matraz volumétrico. Se guarda en un frasco bien tapado a temperatura ambiente.

DIAGRAMA 1. ANÁLISIS DE FIBRA DIETÉTICA TOTAL



Procedimiento

Usar un blanco de cada muestra a lo largo de todo el procedimiento para corregir cualquier contribución de los reactivos. A las muestras y blancos que se les va a medir el contenido de fibra dietética se les debe realizar, al menos por cuadruplicado para tener duplicados de proteína y cenizas.

Preparación de crisoles

Lavar los crisoles con jabon y agua , calentar una hora a 420 °C y enfriar, dentro de la mufla hasta 250 °C, antes de sacar. Remojar y enjuagar los crisoles con agua y secar con aire. Agregar 0.5 g de celita a cada crisol y secar a 130°C hasta peso constante (una hora o más). Enfriar en desecador y pesar hasta tener 0.1 mg de diferencia. Registrar este peso como “celita + peso del crisol o P₁”
Conservar en desecador hasta utilizarlo.

Muestra

Si el contenido de grasa de la muestra es mayor del 10%, desengrasar con éter de petróleo como se describe en el procedimiento del AOAC. Registrar la pérdida de peso debida a la grasa eliminada y hacer la corrección adecuada al porcentaje total de fibra dietética. Cuando se manejan muestras desconocidas, desengrasar todas las muestras.

Homogeneizar cada muestra, si es necesario, secar durante la noche en una estufa con corriente de aire a 105°C. Enfriar en desecador y moler las muestras con una malla de 0-3-0.5 mm. Si no se tiene un molino, con moler en un mortero es suficiente. Si las muestras no se pueden calentar, liofilizar las muestras antes de molerlas. Conservar las muestras secas en un desecador hasta que se realice el análisis.

Determinación de Fibra dietética.

Hidrólisis enzimática

Pesar cuatro muestras de 0.5g de cada material por analizar y poner en vasos de precipitados de 100mL de forma alta. Los pesos de las muestras no deben tener una diferencia mayor de 20mg. Registrar los pesos, hasta 0.1mg.

Agregar, a cada vaso, 25mL de amortiguador de fosfatos pH 6.0

Agregar 0.05ml de α -Amilasa (sigma A 3306) a cada vaso y mezclar muy bien.

Cubrir cada vaso con hojas de aluminio y poner en un baño de agua hirviendo. Agitar suavemente los vasos a intervalos de 5 minutos. Incubar por 15 minutos después de que la temperatura interior de los vasos alcance 92° C.

Dejar enfriar las soluciones a temperatura ambiente (o en hielo o agua).

Ajustar pH de las soluciones a 7.5 ± 0.2 agregando 5 mL de solución de hidróxido de sodio 0.275N a cada vaso. Verificar el pH y ajustar si es necesario ya sea con NaOH o HCl.

Hacer una solución de proteasa (sigma P3910) al momento de usarse de 25mg /mL de buffer de fosfatos 0.08M Adicionar 0.01ml (2.5 mg de proteasa) en cada vaso.

Cubrir cada vaso con hojas de aluminio y poner en un baño de agua a 60 °C. Con agitación continua, incubar por 30 minutos después de que la temperatura dentro de los vasos alcance 60 °C.

Dejar enfriar las soluciones a temperatura ambiente.

Ajustar el pH de las soluciones entre un pH de 4.0 y 4.6 agregando 5 mL de 0.325M de HCl a cada vaso. Verificar el pH y ajustar si es necesario ya sea con NaOH o HCl.

Agregar 0.05mL de amiloglucosidasa (sigma A9913) a cada vaso.

Cubrir cada vaso con hojas de aluminio y poner en un baño de agua a 60°C. Con agitación continua, incubar por 30 minutos después de que la temperatura interior de los vasos alcance 60°C.

Agregar 120 mL de etanol al 41% a cada vaso*.

Dejar la solución durante toda la noche a temperatura ambiente para permitir la precipitación completa.

Filtración

Montar un sistema de filtración al vacío para cada crisol Gooch. Humedecer y redistribuir la cama de celita en cada crisol usando etanol al 78%. Aplicar succión suave para atraer la celita al filtro y formar una superficie lisa. Mantener la succión suave y pasar cuantitativamente el precipitado y suspensión de cada uno de los vasos a sus respectivos crisoles.

Lavar el residuo con tres porciones de 10 mL de etanol al 78%, dos porciones de etanol al 95% y dos porciones de 5 mL de acetona.

Algunas muestras pueden formar una goma que atrapa el líquido. Con el uso de una espátula de rompe la película superficial mejorando la velocidad de filtración. Asegurarse en enjuagar dentro del crisol todo el material que se pegue a la espátula. El tiempo para filtrar y lavar puede variar de 10 minutos a 6 horas por crisol, en promedio se utiliza aproximadamente 30 minutos por crisol. Secar los crisoles que contienen los residuos durante la noche en una estufa con aire a 105°C en estufa con vacío a 70°C.

Enfriar todos los crisoles en un desecador, pesar hasta la cuarta cifra decimal (0.1 mg), y registrar estos pesos como “residuo + celita + peso del crisol” o **P₂**.

*Si se conoce que el contenido de fibra dietética soluble es bastante se adiciona etanol al 95%.En el caso de las muestras de maíz no fue necesario.

Determinación de proteína

Con ayuda de una espátula sacar el residuo + celita de cada crisol y pesarlo, moler en mortero y pesar de este polvo por duplicado 100 mg para hacer la determinación de proteína. Con este dato, calcular el contenido de proteína en el residuo de cada crisol.

Analizar en los residuos de dos muestras dos blancos el contenido de proteína con el método de Kjeldahl, como se especifica en el procedimiento del AOAC. Usar el factor de 6.25 para convertir el nitrógeno, medido en el análisis, a proteína excepto cuando el contenido de nitrógeno en la muestra de proteína es conocido.

Determinación de cenizas.

De los dos crisoles restantes de las muestras y de los blancos calcinar el residuo por 5 horas a 450°C hasta peso constante. Enfriar en desecador, y pesar hasta la cuarta decimal (0.1 mg) y registrar este peso como "Cenizas + Celita + peso del crisol o P₃".

Cálculos:

Contenido de proteína

$$\% N = \frac{(V_m - V_b) \times \text{meq} \times N_{\text{HCL}} \times 100}{M}$$

M

$$\%P = \%N \times F$$

Donde:

% N = Porcentaje de nitrógeno (g N /100g de muestra)

% P = Porcentaje de proteína (g de proteína/100g de polvo)

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

V_b = Volumen de HCl gastado en la titulación del blanco

Meq = Miliequivalente del N (Peso molecular/1000 = 0.014)

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

m = g de muestra utilizada en la determinación

F = Factor de conversión a proteína 6.25

$$P = \frac{(R + \text{Celita}) \times \% P}{100}$$

Donde:

P = g de proteína en el crisol

(R + celita) = g de residuo + celita del crisol

% P = Porcentaje de proteína (proteína g/100g de polvo)

Contenido de fibra dietética total

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

$$B = R \text{ blanco} - P \text{ blanco} - C \text{ blanco}$$

Donde:

FDT = fibra dietética total

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

P = peso de proteína en el crisol (mg)

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

pm = peso de la muestra (mg)

Resultados

Cuando se tienen los valores de porcentajes de FDT de cada uno de los cuadruplicados reportar el promedio \pm desviación estándar y coeficiente de variación de cada muestra.

Prueba de eficiencia de la enzima

Las enzimas incluidas en el Kit de FDT-100 han sido evaluadas usando las muestras de prueba enlistadas en la tabla 2. Aproximadamente cada 6 meses después de abrir el kit de enzimas se recomienda correr un análisis incluyendo caseína (Sigma No. 07906) y/o Almidón de maíz (Sigma No. S2388) en cada determinación como controles internos y utilizando cada una de las muestras de prueba señaladas en la tabla 2, que se encuentran disponibles en el kit (Sigma No. FDT-C10) las cuales se deben correr con el análisis completo para fibra dietética total para asegurar que no se han degradado o contaminado las enzimas.

Tabla 2. Enzimas presentes en el Kit - FDT de sigma que deberán ser evaluadas cada seis meses.

Muestra probada	Sigma Clave del Producto	Actividad	Peso de la muestra (g)	Recuperación esperada (% de Fibra dietética)
Arabinogalactana	A9788	Hemicelulasa*	0.1	95-100
Caseína	C7906	Proteasa**	0.3	0-2
β-Glucano	G7391	β-Glucanasa*	0.1	95-100
Pectina	P7536	Pectinasa*	0.1	95-100
Almidón, Maíz	S2388	Amilasa**	1.0	0-2
		Amilo-glucosidasa**		
Almidón, Trigo	S1514	Amilasa**	1.0	0-1
		Amilo-glucosidasa**		

*Esta actividad no debe presentarse en el análisis

**Esta actividad debe ser completamente funcional en la prueba.

Almidón resistente

Fundamento

Según el método Saura-Calixto et al, (1993), la técnica consiste en hidrólisis secuenciales con α -amilasa termoestable, proteasa y amiloglucosidasa que finalmente dejan un residuo de fibra dietética insoluble donde se determina AR, solubilizándolo e hidrolizando nuevamente con amiloglucosidasa hasta liberar monómeros de glucosa, que son cuantificados colorimétricamente por un método enzimático espectrofotométrico con un sistema de glucosa oxidasa-peroxidasa-cromógeno.

Para determinar la concentración de glucosa liberada en el ensayo enzimático, la glucosa es oxidada por la glucosa oxidasa en solución acuosa a ácido glucónico y peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrogeno reacciona en presencia de la peroxidasa con el ácido 4 -hidrobenzoico y 4-amonofenzona, para formar un cromóforo de color rojo. La intensidad del color que se desarrolla es proporcional a la concentración de glucosa y puede ser medida espectrofotométricamente a 520nm.

Reactivos

1. Sigma, TDF-1 00 A Kit -Total Dietary Fiber Assay Kit.

- α - Amilasa, estable al calor; sigma A 3306
- Proteasa *Bacillus licheniformis*: sigma P3910 *
- Amiloglucosidasa *Aspergillus niger* ; sigma A 9913
- * Celita TM, lavada con ácido (50g); (Sigma C 8656)

2. Kit Total Dietary Fiber Assay Control (SIGMA TDF-C10).

- Arabinogalactana (1g); (Sigma A 9788)
- Caseína (5g); (Sigma 7906)
- β -Glucano (1g); (Sigma G 7391)

-
- Pectina (1g); (Sigma P 7536)
 - Almidón de maíz (10g); (Sigma S 2388)
 - Almidón de trigo (10g); (Sigma S 1514)
3. Amiloglucosidasa; E.C.3.2.1.3. (100mg/10mL), (Roche Diagnostics GMBH 10 102 857 001)
 4. Éter de petróleo 35-60 °C reactivo analítico.
 5. Alcohol etílico; reactivo analítico
 6. Acetona, reactivo analítico
 7. Fosfato de sodio monobásico anhidro; reactivo analítico.
 8. Fosfato de sodio dibásico, anhidro; reactivo analítico.
 9. Hidróxido de sodio 1 N
 10. Ácido clorhídrico 2N
 11. Amortiguador de acetatos 0.4M pH 4.75
 12. Hidróxido de potasio 2M
 13. Solución estándar de glucosa 0.5 mg/mL
 14. Reactivo para determinación de glucosa oxidasa (Hycel 70408)

Material y equipo

1. Tubos para centrifuga de 50 mL de polipropileno (resistentes a solventes)
2. Fuente de vacío. Con trampa para prevenir la contaminación en caso de que se pase líquido
3. Horno a 105 °C o un horno con vacío a 70 °C
4. Desecador
5. Mufla

-
-
6. Baño de agua hirviendo
 7. Baño de agua constante a 60 °C con agitador que proporcione agitación a los matraces de digestión durante la hidrólisis enzimática. Lab-line Instruments.
 8. Balanza analítica capaz de pesar hasta 0.1 mg. Sartorius
 9. Potenciómetro: Estandarizado a pH 4.0 y pH 7.0. Corning 430.
 10. Centrífuga que proporcione 3000 x g
 11. Placas de agitación con calentamiento
 12. Barras magnéticas de 22x8 mm
 13. Estufa de aire imperial II-lab line
 14. Molino Wiley modelo 4

Preparación de reactivos

Nota: Use agua destilada o desionizada para hacer las soluciones. Las soluciones se guardan en frascos bien tapados a temperatura ambiente excepto la solución VII que se conserva en congelación.

- I. Etanol al 78%. Agregar etanol al 95%. Mezclar y llevar al volumen con etanol al 95%, mezclar.
- II. Amortiguador de fosfatos, 0.08M, pH 6.0. Disolver 1.400 g de Na_2HPO_4 anhidro y 8.400 g de NaH_2PO_4 anhidro en aproximadamente 700 mL de agua. Verificar el pH a 6.0 y ajustar si es necesario con NaOH o H_3PO_4 concentrado, llevar a volumen de un litro con agua.
- III. Solución de hidróxido de sodio, 0.275 N. Agregar, cuidadosamente, 275 mL de solución de NaOH 1.0 N a 700 mL de agua en un matraz volumétrico de un litro. Llevar a volumen con agua.

IV. Solución de ácido clorhídrico, 0.325 M. Agregar, cuidadosamente, 325 mL de solución de HCl 1.0 M a 600 mL de agua en un matraz volumétrico de un litro. Llevar a volumen con agua.

V. Amortiguador de acetatos 0.4 M pH 4.75

Soluciones concentradas

A: 0.8 M de ácido acético (48 mL en 1000 mL agua)

B: 0.8 M de acetato de sodio (65.62 g de $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2$ o 108.82 g de $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ en 1000 mL de agua)

Mezclar 200 mL de A + 300 mL de B, diluir a 750 mL con agua, ajustar el pH a 4.75 y aforar a 1000 mL.

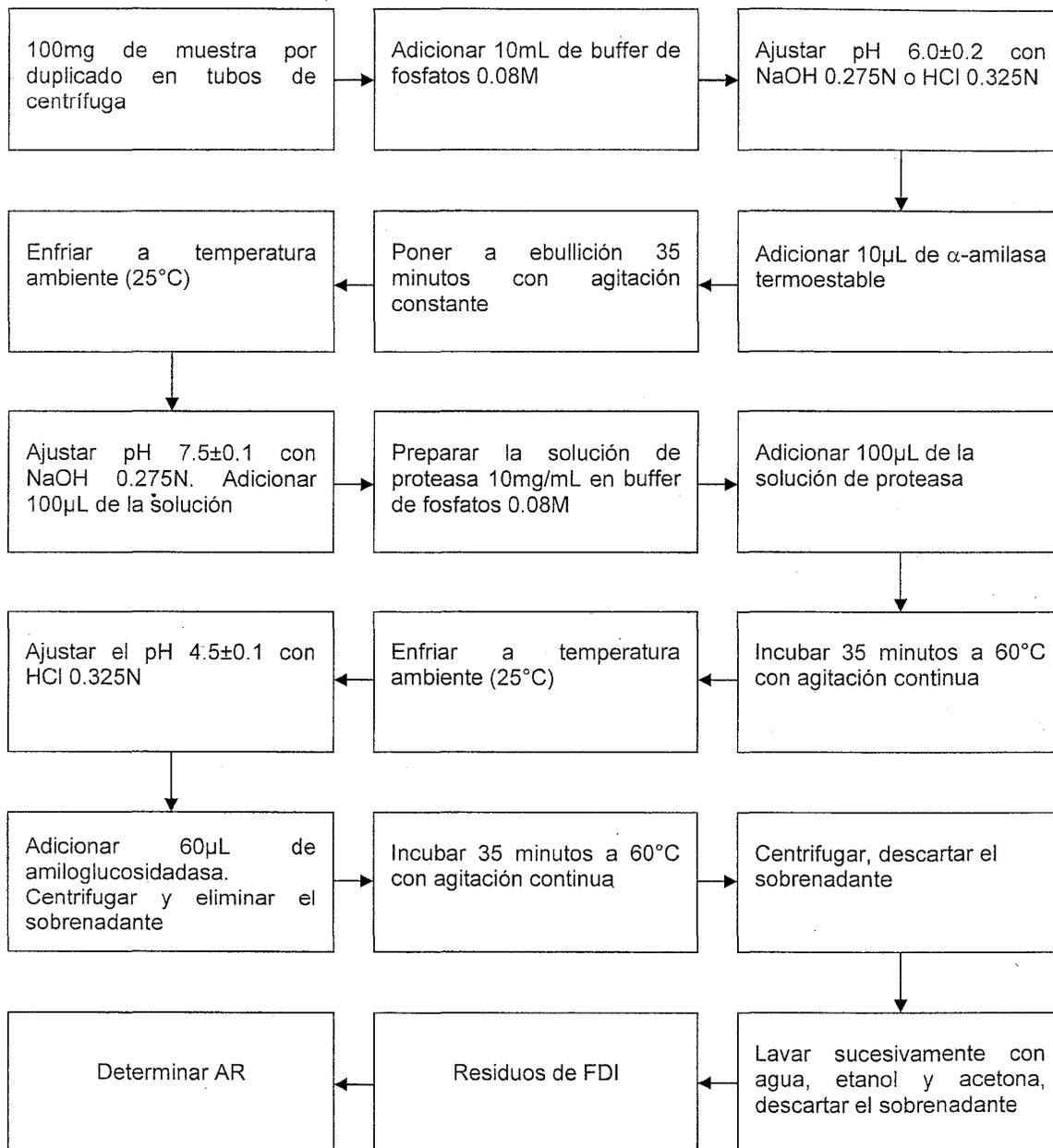
I. Solución de hidróxido de potasio 2M. Pesar 5.6 g de KOH disolver en agua y aforar a 50 mL

II. Estándar de glucosa 0.5 mg/mL. Pesar 50 mg de glucosa (previamente secada en la estufa) y aforar con agua desionizada a 100 mL. Conservar a -20°C en alícuotas de 20 mL.

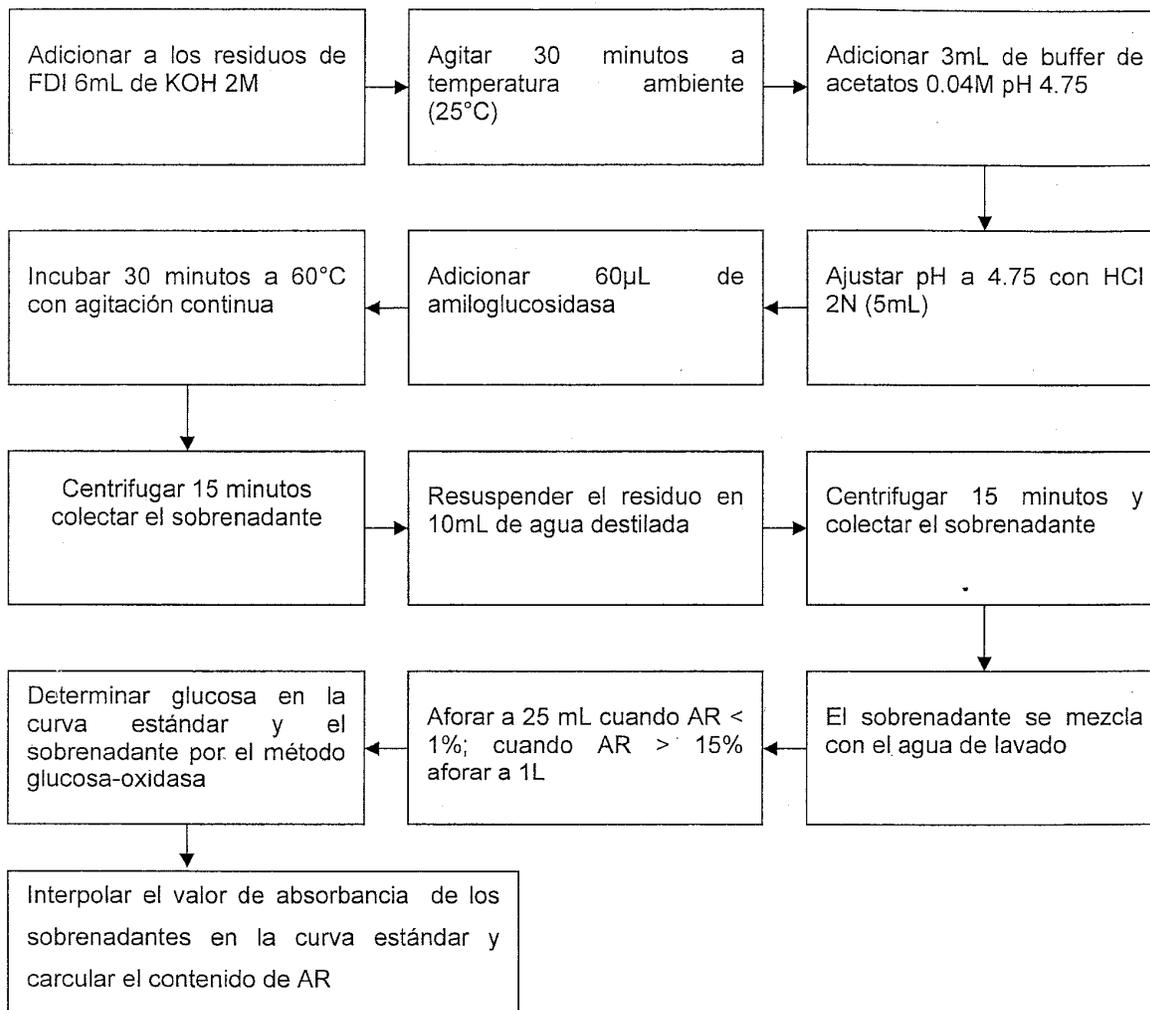
III. Solución de proteasa. Prepararse al momento de usarse proteasa 10 mg/mL en buffer de fosfatos pH 6, 0.08M

DETERMINACIÓN DE ALMIDÓN RESISTENTE
(Según el Procedimiento de Saura-Calixto, 1993)

a) Obtención de residuos insolubles de fibra dietética



b) Hidrólisis de almidón resistente y determinación de glucosa de los residuos insolubles de fibra dietética



Determinación de Almidón resistente

Obtención de residuos de fibra dietética insolubles (FDI)

Se pesan 100 mg de muestra en un tubo de centrifuga con tapa de 50 mL por triplicado, agregar 10 mL de buffer de fosfatos pH 6.0, 0.08M, se ajusta pH 6 ± 0.2 si es necesario (con NaOH 0.275N o HCl 0.325N). Se adicionan a cada tubo 10 μ L de α -amilasa y se mezcla. Los tubos tapados se colocan en baño de agua hirviendo por 35 minutos con agitación constante.

Sacar los tubos del baño de agua y enfriar a temperatura ambiente, ajustar el pH a 7.5 ± 0.1 con NaOH 0.275N (se utilizan aproximadamente 2 mL).

Adicionar 100 μ L de la solución de proteasa (Sigma P3910) e incubar a 60°C durante 35 minutos con agitación constante (el tiempo se empieza a contar cuando la temperatura dentro del tubo alcance los 60°C).

Se dejan enfriar los tubos a temperatura ambiente y se ajusta el pH a 4.5 ± 0.1 agregando aproximadamente 2 mL de HCl 0.325N.

Se agregan 60 μ L de amiloglucosidasa (Sigma A 9913) e incuba a 60°C durante 35 minutos con agitación constante (el tiempo se empieza a contar cuando la temperatura dentro del tubo alcance los 60°C).

Enfriar los tubos a temperatura ambiente y centrifugarlos a 3000xg /15min. Descartar el sobrenadante. La pastilla obtenida de fibra dietética insoluble se lava sucesivamente con 10mL de agua destilada, 10mL de etanol y 10mL de acetona, descartar los sobrenadantes.

Hidrólisis del almidón resistente (AR)

Se adicionan a los residuos de FDI 6mL de KOH 2M recién preparada, se mezcla y agita por 40 minutos a temperatura ambiente. Se agrega a los tubos 3mL de buffer de acetatos (0.4M, pH 4.75) y aproximadamente 5 mL de HCl 2N. Ajustar el pH a 4.75. Si es necesario utilizar el HCl 2N. De la suspensión de amilogucosidasa (Roche No. 10 102 857 001) se pipetea 60 μ L a cada tubo, se mezcla la solución y se incuba a 60°C por 30 minutos con agitación constante (medir el tiempo a partir de que se alcance la temperatura de 60°C dentro del tubo).

Las muestras se enfrían y se centrifugan a 3000xg por 15 minutos y los sobrenadantes se colectan en un matraz aforado. Las pastillas se resuspenden en 5mL de agua y se repite la centrifugación. Los sobrenadantes se combinan con el agua de lavado del paso anterior y se aforan a un volumen final de 25 a 1000 mL con agua, dependiendo del contenido de almidón resistente de la muestra (para el caso del maíz de 25 a 50 mL).

Preparación de la curva estándar de glucosa

A partir de la solución estándar de glucosa concentrada se preparan las soluciones de los estándares de 25, 50, 150, 250 y 350 μ g/mL.

Tabla 3. Curva estándar de glucosa para la determinación de almidón resistente

Volumen de solución estándar (mL)	Aforo con agua desionizada (mL)	Concentración final (μg/mL)
0.5	10	25
1.0	10	50
3.0	10	150
5.0	10	250
7.0	10	350

Determinación de glucosa en los estándares y los sobrenadantes.

En tubos de ensayo (13x100mm), por triplicado se pipetea 3mL del reactivo de glucosa oxidasa (a temperatura ambiente). Se adiciona 200 µL de los sobrenadantes, estándares o agua, se agita y se deja los tubos a temperatura ambiente por 30 minutos (Evitar la luz solar directa). Se lee la absorbancia de los estándares y de las muestras a una longitud de onda de 520nm, ajustando a cero de absorbancia el espectrofotómetro con el blanco de reactivos.

Nota. Si el contenido de glucosa es muy bajo se repite el ensayo con el doble de muestra (200mg). Esto varía respecto al tipo de maíz.

Cálculos

Para obtener la concentración de glucosa en los sobrenadantes se interpola el valor de absorbancia de las muestras en la curva estándar de glucosa. Una mol de glucosa x 0.9 da origen a una mol de almidón.

$$\% \text{ de almidón resistente} = \frac{\text{Glucosa } (\mu\text{g/ml}) \times \text{aforo}}{1000} \times 0.9 \times \frac{100}{\text{mg muestra}}$$

Donde:

Glucosa (µg/ml) Valor de glucosa interpolado en la curva estándar

Aforo Volumen final del sobrenadante de la determinación de almidón resistente

1/1000 Factor de conversión de µg a mg

0.9 Peso molecular de almidón/peso molecular de glucosa= 162/180=0.9

Análisis estadístico.

La comparación de la media de muestra crudas y cocidas se realizó por un análisis de varianza de un factor (ANOVA) con un $\alpha = 0.05$; la comparación de la media de todas las muestras se realizó también por un análisis de varianza de un factor (ANOVA), $\alpha = 0.05$ seguido de una prueba de rango múltiple Duncan; las muestras fueron analizadas a través de un programa estadístico SPSS versión 10.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Comparando la fibra dietética total obtenida en este estudio con la que se tiene reportada en las tablas de nutrición, en donde solo se reporta fibra cruda, se puede observar el dato es mayor, por lo que al usar el dato de fibra cruda como si fuera dietética se está subestimando la cantidad real.

Cuando se compara las muestras de maíz que tuvieron el tratamiento de nixtamalización se observa que los datos son significativamente diferentes como podemos notar en la tabla 4 al comparar crudos con cocidos, así también que la cantidad de fibra dietética total en grano cocido disminuye con respecto al grano crudo, cabe recordar, que llevan el mismo tipo de cocción, la nixtamalización, en donde el pericarpio es desprendido siendo esto importante porque es una porción de la fibra que contiene el grano y que se pierde debido al proceso de nixtamalización; además de que al lavarlos, en el agua de cocción (nejayote) se pierde parte de la fibra dietética soluble.

Tabla 4. Contenido de Fibra Dietética Total en diferentes variedades de maíz (g / 100g de muestra seca)

Maíz	Crudo	Con tratamiento térmico
'Azul*	10.98±0.17 ^a	7.81±0.35 ^{ab}
'Blanco*	15.43±0.56 ^c	8.10±0.29 ^b
'Amarillo*	12.62±0.44 ^b	10.15±0.41 ^c
"Pozolero*	12.18±0.24 ^b	7.15±0.42 ^a
'''Palomero	19.27±0.62 ^d	19.07±0.87 ^d

Valores promedio± D.E. de cuatro determinaciones, C.V. ≤ 5

^a Diferentes letras dentro de la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas entre los tipos de maíz (P<0.05)

*La presencia de asteriscos sobre la fila indica diferencia estadísticamente significativa entre muestras crudas y cocidas (P<0.05)

'Maíz nixtamalizado

"Maíz cocción a ebullición

'''Cocimiento en horno de microondas

Es también importante señalar que otro efecto del cocimiento sobre la estructura del grano, es el movimiento de moléculas por el calentamiento, que deja más susceptible a las estructuras, ya que puede arreglarse de tal manera que actúen las enzimas sobre la fibra dietética, y esto disminuye el contenido de fibra dietética total.

En el caso del maíz pozolero o cacahuatzintle, aunque lleva una previa nixtamalización, por el uso de cal y temperatura, la cocción es diferente, con respecto a los anteriores, porque en este caso no se desprende el pericarpio del grano, aunque es eliminada esa agua, o nejayote, y es de nuevo puesto a cocer, pero en esta ocasión con un cocimiento más prolongado hasta evaporar el contenido de agua; sin embargo, se obtuvo un resultado parecido a los otros maíces nixtamalizados (tabla 4), lo cual puede deberse a que el cocimiento prolongado afectó la estructura de tal manera que deja susceptible al ataque de las enzimas, además como en el caso de la nixtamalización, en el nejayote es donde se pierden una buena cantidad de fibra, sobre todo la soluble.

El maíz palomero como se observa en la tabla 4, no siguió la tendencia pues no se encontró diferencia significativa de la muestra cruda con respecto a la del tratamiento con microondas, esto es porque el tipo de cocción es diferente, pues queda el grano tal cual, con un abombamiento del almidón, además de que no se pierde el pericarpio, ya que queda generalmente pegada al origen de la palomita y que como alimento forma parte del mismo; además en la palomita hay muy pocas pérdidas porque no hay eliminación de agua en donde se pierda o elimine la fibra soluble, y el calentamiento es por un muy corto tiempo.

Tabla 5. Contenido de Fibra Dietética Total en diferentes variedades de maíz

(g / 100g de muestra húmeda)

Maíz	Humedad %	Crudo	Humedad %	Con tratamiento térmico
'Azul *	10.64	9.82±0.15 ^a	45.6	4.25±0.19 ^a
'Blanco *	10.37	13.84±0.51 ^d	45.35	4.43±0.16 ^a
'Amarillo *	6.81	11.62±0.46 ^c	42.27	5.86±0.24 ^c
"Pozolero *	12.44	10.67±0.22 ^b	58.31	2.98±0.17 ^d
""Palomero *	10.17	17.31±0.56 ^e	4.12	18.29±0.84 ^e

Valores promedio± D.E. de cuatro determinaciones , C.V. ≤ 5

^a Diferentes letras dentro de la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas entre los tipos de maíz (P<0.05)

*La presencia de asteriscos sobre la fila indica diferencia estadísticamente significativa entre muestras crudas y cocidas (P<0.05)

'Maíz nixtamalizado

"Maíz cocción a ebullición

""Cocimiento en horno de microondas

Es de suma importancia, tomar en cuenta el contenido de fibra dietética total en base húmeda de la tabla 5 , ya que como los maíces se cocieron en agua, obviamente absorben humedad, por lo que la cantidad de agua y el peso, se ve aumentado de manera considerable, observándose una gran diferencia significativa, esto es importante porque normalmente se considera que se está ingiriendo una gran cantidad de alimento, pero no así una gran cantidad de fibra, porque la mayor parte del alimento es agua. Y es por esto precisamente que la cantidad de FDT se ve disminuida si comparamos muestra crudas con las cocidas.

Una de las fuentes ricas en almidón es el maíz por su gran contenido de este, sin embargo, la mayor parte del almidón es degradado por las enzimas digestivas, y sólo queda una pequeña parte, que

aunque es poca, se debe adicionar a los beneficios que aporta la fibra dietética y que no estaban contemplados como parte de la misma.

Tabla 6. Contenido de Almidón Resistente en diferentes variedades de maíz
(g / 100g de muestra seca)

Maiz	Crudo	Con tratamiento térmico
'Azul*	0.42±0.041 ^b	0.68±0.066 ^c
'Blanco*	0.43±0.029 ^b	0.61±0.020 ^c
'Amarillo*	0.13±0.012 ^a	0.39±0.027 ^b
"Pozolero*	0.42±0.034 ^b	2.94±0.044 ^d
""Palomero*	0.40±0.034 ^b	0.25±0.022 ^a

Valores promedio± D.E. de tres determinaciones , C.V. ≤ 10

^a Diferentes letras dentro de la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas entre los tipos de maíz (P<0.05)

*La presencia de asteriscos sobre la fila indica diferencia estadísticamente significativa entre muestras crudas y cocidas (P<0.05)

'Maiz nixtamalizado

"Maiz cocción a ebullición

""Cocimiento en horno de microondas

En los resultados del contenido de almidón resistente en muestras crudas de la tabla 6, se encontró que no hay diferencia significativa entre las muestras de maíz, al realizar el análisis estadístico de ANOVA, excepto por el maíz amarillo que es significativamente diferente a las demás muestras de maíz. En la misma tabla, para el caso de muestras cocidas, se encontró todas son significativamente diferentes entre sí. Por lo que se puede comprobar que el cocimiento es un factor que interviene en el contenido de almidón resistente total en la muestra.

Al comparar las muestras de maíz crudo con cocido se observa que la cantidad de almidón resistente no solo se mantiene, sino que aumenta en gran proporción en las muestras que llevan a cabo un cocimiento con agua, sobre todo en maíz pozolero (tabla 6), esto puede explicarse debido a que el almidón contenido sufre modificaciones por el tratamiento de la muestra durante el cocimiento, el calentamiento hace que se formen nuevas estructuras mas resistentes a la acción de la enzima, porque el cocimiento del maíz pozolero es mas prolongado que en una nixtamalización, se lixivia la amilosa y queda la estructura de amilopectina, que al enfriarse se rearregla para formar estructuras como un almidón menos soluble y por lo tanto un almidón resistente.

El maíz que cabe destacar por su sobresaliente aumento al cocerlo es el cacahuacintle, o pozolero, ya que se ve aumentado el almidón resistente, y en este caso es cuando el cocimiento favorece al alimento, esto también puede explicarse porque no lleva el mismo cocimiento, ya que no se elimina el pericarpio, y se había mencionado anteriormente el pericarpio contiene una gran cantidad de fibra. Además recordemos que hay almidones resistentes que se forman durante el cocimiento y enfriado como el AR3, por lo que este contribuye a aumentar el contenido de AR total en la muestra.

Se determinó almidón resistente al maíz azul, tanto en su forma cruda, como nixtamalizado, ya que es así como se consume generalmente, y se sabe, debido a este tratamiento que implica una cocción a 90°C y un aumento en el pH, que se puede afectar la estructura del almidón, sin embargo, según estudios el contenido de amilosa aparente aumenta en los almidones aislados después de la nixtamalización, debido a que el grupo acilo de las antocianinas pudiera estar interaccionando con la amilosa y la nixtamalización rompe este complejo aumentando su concentración; el proceso de nixtamalización de acuerdo con los estudios realizados produjo una disminución en la concentración de antocianinas que fue mayor en el caso del maíz azul, debido a que a pesar de que las

antocianinas en este maíz se encuentran en el endospermo, quedaron más expuestas al ser solubilizadas las proteínas que forman parte de la subaleurona y parte de ellas se perdieron durante la nixtamalización.(Agama, 2004).

Por lo antes mencionado, el proceso de nixtamalización puede contribuir a aumentar el contenido de almidón resistente en la muestra de maíz azul y por lo tanto en la fibra dietética total. Y esto es lo que sucede en la mayoría de los muestras de maíz estudiados, sin embargo, en el que pasa lo contrario es el maíz palomero, en la tabla 6 se puede observar, que al parecer no se comporta de la misma manera, y esto debe ser por el tipo de cocimiento, ya que se revienta el maíz, por lo que puede quedar menos expuesto el almidón digerible, y por lo tanto, la cantidad de AR es disminuida, además de que no hay posibilidad de formación de AR tipo 3, por la falta de humedad durante el calentamiento.

Tabla 7. Contenido de Almidón Resistente
(g / 100g de muestra húmeda)

Maiz	Humedad %	Crudo	Humedad %	Con tratamiento térmico
'Azul	10.64	0.38±0.004 ^b	45.60	0.38±0.030 ^c
'Blanco*	10.37	0.38±0.024 ^b	45.35	0.33±0.013 ^b
'Amarillo*	6.81	0.12±0.012 ^a	42.27	0.23±0.016 ^a
"Pozolero*	12.44	0.37±0.029 ^b	58.31	1.22±0.018 ^d
""Palomero*	10.17	0.36±0.030 ^b	4.20	0.24±0.022 ^a

^lValores promedio± D.E. de tres determinaciones , C.V. ≤ 10

^a Diferentes letras dentro de la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas entre los tipos de maíz (P<0.05)

*La presencia de asteriscos sobre la fila indica diferencia estadísticamente significativa entre muestras crudas y cocidas (P<0.05)

'Maiz nixtamalizado

"Maiz cocción a ebullición

""Cocimiento en horno de microondas

Con respecto a la tabla 7, en realidad no se observa cambio significativo cuando la humedad aumenta después de que el maíz azul se sometió a cocción, sin embargo en todas las demás si hubo diferencia significativa, ya sea aumentando como en el caso del maíz amarillo, ó disminuyendo como el maíz palomero y el blanco.

La siguiente tabla muestra los resultados de manera conjunta, en donde se observa que la cantidad de almidón resistente contenida en el maíz es mucho menor que la cantidad de fibra dietética, con lo cual se puede asumir que la cantidad de fibra dietética insoluble es mínima en el maíz comparado con la fibra dietética soluble.

En la tabla 8 se observa los datos de fibra dietética total corregida, para obtener este dato se elimina la cantidad obtenida de almidón resistente para así no sobrestimar la cantidad de fibra dietética total.

Tabla 8. Tabla del contenido de fibra dietética total (FDT), almidón resistente (AR), fibra dietética total corregida (FDT corregida) en 5 variedades de maíz (g /100g de muestra en base seca)

Tipo de maíz	FDT ^I		AR ^{II}		FDT ^{III} corregida	
	crudo	tratados térmicamente	crudo	tratados térmicamente	crudo	tratados térmicamente
'Azul	*10.98±0.17 ^a	7.81±0.35 ^{ab}	*0.42±0.041 ^b	0.68±0.066 ^a	10.38	7.13
'Blanco	*15.43±0.56 ^c	8.10±0.29 ^b	*0.43±0.029 ^b	0.61±0.020 ^b	15.00	7.49
'Amarillo	*12.62±0.44 ^b	10.15±0.41 ^c	*0.13±0.012 ^a	0.39±0.027 ^c	12.49	9.76
"Pozolero	*12.18±0.24 ^b	7.15±0.42 ^a	*0.42±0.034 ^b	2.94±0.044 ^d	11.76	6.21
'''Palomero	19.27±0.62 ^d	19.07±0.87 ^d	*0.40±0.034 ^b	0.25±0.022 ^e	18.87	18.82

^I Valores promedio± D.E. de cuatro determinaciones , C.V. ≤ 5

^{II} Valores promedio± D.E. de tres determinaciones , C.V. ≤ 10

^a Diferentes letras dentro de la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas entre los tipos de maíz (P<0.05)

*La presencia de asteriscos sobre la fila indica diferencia estadísticamente significativa entre muestras crudas y cocidas (P<0.05)

'Maíz nixtamalizado

"Maíz cocción a ebullición

'''Cocimiento en horno de microondas

CONCLUSIONES:

Con el estudio realizado a las diferentes variedades de maíz se puede obtener información acerca de la cantidad de fibra dietética total y almidón resistente contenido en las muestras crudas de una manera más real usando un método enzimático.

Mediante las determinaciones de FDT realizadas se encontró que el maíz que contiene más cantidad de FDT es el maíz palomero, así mismo es el menos afectado por la cocción porque no requiere humedad en este proceso.

Al realizar las determinaciones de FDT en muestras crudas y cocidas de maíz, se pudo conocer cómo afecta el cocimiento, en donde debido al proceso de nixtamalización, hay pérdidas de fibra, y también suceden modificaciones en la fibra que hacen que la cantidad de FDT disminuya en muestras cocidas con respecto a las crudas.

En el caso de la determinación del almidón resistente, se puede observar que aumenta el almidón en maíz cocido con respecto al crudo. Exceptuando el maíz palomero que demuestra un comportamiento diferente en donde disminuye.

De las muestras estudiadas el que contiene una menor cantidad de AR es el maíz amarillo, tanto crudo como cocido, y el maíz que le afecta más el cocimiento aumentando la cantidad de AR es el maíz pozolero, sin embargo también aumenta la cantidad de AR en las muestras de maíz azul, blanco y amarillo, pero en menor grado.

Con este estudio se espera que cada vez sean más los alimentos que se analicen como fibra dietética total, y no sólo como fibra cruda. Además que su uso sea mas frecuente como una manera de acercar al químico de alimentos al desarrollo de métodos para la determinación enzimática de este tipo de compuestos tan importantes para la nutrición.

BIBLIOGRAFÍA.

- Albersheim, P., Neukom, H., & Deuel, H. (1960). Splitting of pectin chain molecules in neutral solutions. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 90, 46–51.
- Anderson, J.W., Jones, A.E., and Riddell-Mason, S. (1994). Ten different dietary fibers have significantly different effects on serum and liver lipids of cholesterol-fed rats. *J. Nutr.* 124, 78–83.
- Agama-Acevedo, Edith; Ottenhof, Marie Astrid; Farhat, Imad M., (2004). Efecto de la nixtamalización sobre las características moleculares del almidón de variedades pigmentadas de maíz, *Interciencia, revista de ciencia y tecnología de américa*, vol. 29, No. 11 Noviembre, p.643-649.
- AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International, 16th Edition, Vo. II, Section 45.4.07, Method 985.29 (1995).
- Asp, (1992) Resistant starch. Proceedings of the 2nd plenary meeting of EURESTA: European Flair Concerted Action No. 11 on physiological implications of the consumption of resistant starch in men, *European Journal of Clinical Nutrition* 46 (Suppl. 2), p. S1.
- Betrán F.J., Bockholt, Rooney (2001) Blue corn In: Specialty Corns. A R Hallaver (ed). Iowa State University. Ames Iowa, USA., pp: 293-337.
- Carr, T.P., Gallaher, D.D., Yang, C.H., and Hassel, C.A. (1996). Increased intestinal contents viscosity reduces cholesterol absorption efficiency in hamsters fed hydroxypropyl methylcellulose. *J. Nutr.* 126, 1463–1469.
- Cho, S., Devies, J. W, & Proxy, L. (1997). El análisis de fibra dietética y aplicaciones. AOAC Int., Gaithersburg.
- Cobiac L. Topping DL. In SadlerM. Caballero B, Strain S, eds. (1999). *Encyclopedia of Human Nutrition*. London. Academic Press.
- Davidson M.H.,Donald M.D.(1998). Fiber: Forms and functions. *Nutr Res* 1998; 18:671-4.
- Dickerson G. W (1990) Blue Corn Production and Marketing in New México. Co-op Est. Serv. Guide H. 226.294 p.
- Englyst, H. N., and Cummins, J. H. (1990).In: *CRC Handbook of Dietary Fiber in Human Nutrition*, 2nd ed. G. A. Spiller, ed. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Englyst, H. N., Anderson, V. & Cummings, J. H. (1983). Starch and non-starch polysaccharides in some cereal foods. *J. Sci. Food Agric.*, 34, 1434.

-
-
- Gomez, M. H., Rooney, L. W., & Waniska, R. D. (1987). Dry corn masa flours for tortilla and snack food. *Cereal Foods World*, 32, 372–377.
 - Gonzalez Alquinzones, Ubaldo. “El Maíz y su conservación”. Edit. C.C.A. , (1995)
 - Grogan, C. O., and Blessin, C. W. (1968). Characterization of mayor carotenoids in yellow maize lines of differing pigment concentration. *Crop Sci* ((6): 730-732.
 - Harborne J. B, G Gavazzi (1969) Effect of Pr and pr alleles on anthocyanins biosynthesis in *Zea mays*. *Phytochemistry* 8:999-1001.
 - Hauge, S. M. and Trost, J. F. (1930). An inheritance study of the distribution of vitamin A in maize. *J. Biol. Chem.* 86:167-172.
 - Holm J y Björck I. (1988). Effects of thermal processing of wheat on starch: II. Enzimic availability. *Journal of Cereal Science*, 8: 261-268.
 - Hopwell, R., Yeater, R., & Ullrich, I. (1993). Soluble fiber: effect on carbohydrate and lipid metabolism. *Progress Food and Nutrition Science*, 17, 159–182.
 - Jenkins, D. J. A., Jenkins, A. L., Wolever, T. M. S., Collier, G. R., Rao, A. V. &Thompson, L. U. (1987). Starchy foods and fiber: Reduced rate of digestion andimproved carbohydrate metabolism. *Scand. J. Gastroenterology*, 22 (suppl.129), 132.
 - Keijbets, M. J. H., & Pilnik, W. (1974). b-elimination of pectin in the presence of anions and cations. *Carbohydrate Research*, 33, 359– 362.
 - Krall, S. M., & McFeeters, R. F. (1998). Pectin hydrolysis: effect of temperature, degree of methylation, pH, and calcium on hydrolysis rates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 1311–1315.
 - Koetz, R., & Neukom, H. (1977). Nature of bound nicotinic acid in cereals and its release by thermal and chemical treatment. In T. Hoyden & O. Kvale (Eds.), *Physical, chemical and biological changes in food caused by thermal processing* (pp. 305–360). London: Applied Science Publishers.
 - Lajolo, F. M., Saura-Calixto, F., Penna, E. W., & Menezes, E. W. (2001). *Fibra dietética en Iberoamérica : tecnología y salud: obtención, caracterización, efecto fisiológico y aplicación en alimentos*. Saõ Paulo: Livraria Varela (472pp).
 - Mangelsdorf, P.C. and Fraps, G. S. (1931). A direct quantitative relationship between vitamin A in corn and the number of genes for yellow pigmentation. *Science* 73: 241-242.
 - Mestres, C. Ferre, T. Muscnick, J.,Muller, F. and Saulnier L. in ICC symposium “Cereal-Based Food: New Developments, 10-13th June (1991), Prague, Tchechoslovaquie.

-
- Moundras, C., Behr, S.R., Demigne, C., Mazur, A., and Remesy, C. (1994). Fermentable polysaccharides that enhance fecal bile acid excretion, lower plasma cholesterol and apolipoprotein E-rich HDL in rats. *J. Nutr.* 124, 2179–2188.
 - NMX-FF-034-1995-SCFI. Norma mexicana para productos alimenticios no industrializados para consumo humano - cereales –maíz (*Zea mays* L.) – especificaciones y metodos de prueba.
 - Olson A, Gray GM, Chin M., (1987). Chemistry and analysis of soluble dietary fiber. *Food Tech* 1987; 41:71-80.
 - Potty VH. (1996). Physico-chemical aspects, physiological functions, nutritional importance, technological significance of dietary fibres. A critical appraisal. *J Food Sci Tech* 1996; 33: 118.
 - Prosky L, Geor Asp N, Schweizer T, Devries J y Furda I.,(1988). Determination of insoluble, soluble and total dietary fiber in foods product; interlaboratory study. *J Assoc of Anal Chem.*,5, pp.1017-1023.
 - Reinders, G., & Thier, H. P. (1999). Non-starch polysaccharides of tomatoes. II. Influence of thermal processing. *European Food Research and Technology*, 209, 47–51.
 - Robert, W, Jugen H. (1988) *Maiz: Variedades mejoradas, métodos de cultivo, producción de semillas*, editorial Limusa, México, pp.305- 349.
 - Rooney, L. W., & Suhendro, E. L. (1999). Perspectives on nixtamalisation (alkaline cooking) of maize for tortillas and snacks. *Cereal Foods World*, 44, 466–470.
 - Sae-Hun Mun & Malshick Shin,(2006). “Mild hydrolysis of resistant starch from maize “, *Food Chemistry* , Volume 96, Issue 1.
 - Sajjaanantakul, T., Van Buren, J. P., & Downing, D. L. (1993). Effect of cations on heat degradation of chelator-soluble carrot pectin. *Carbohydrate Polymers*, 20, 207–21.
 - Saura –Calixto, F., Goñi, I.,Mañas, E. (1993). Resistant starch in foods. Modified method for dietary fiber residues. *Journal Food Science* 58, 642-643.
 - Sefa-Deheh,S., Cornelius,B., Sakyi-DSawson, E.,(2004), Effect of nixtamalization on the chemical and functional properties of maize , *Food Chemistry*, Volume 86, 317-324.
 - Selvedran, R. R. (1987) *Chemistry of plant cell walls and dietary fibre*. *Scand. J. Gastro*, 22 (suppl 129) 33-41.}
 - Selvendran, R. R., & Robertson, J. A. (1994). Dietary fibre in foods: amount and type. In R. Amado` , J. L. Barry, & W. Frølich (Eds.), *Physico-chemical properties of dietary fibre and effect of processing on micronutrients availability* (pp. 11–19). Luxembourg: COST 92 .Directorate-General XIII.

-
- Serna-Saldivar, S. O., Gomez, M. H., & Rooney, L. W. (1990). Technology chemistry, and nutritional value of alkaline cooked corn products. In Y. Pomeranz (Ed.), *Advances in Cereal Science & Technology*. St. Paul:American Association of Cereal Chemists.
 - Serna-Saldivar, S. O., Rooney, L. W., & Greene, L. W. (1991). effect of lime treatment on the availability of calcium in diets of tortillas and beans: Rat growth and metabolic studies. *Cereal Chemistry*, 68, 565– 570.
 - Siljestrom, M. & Asp, N. G. (1985). Resistant starch formation during baking--Effect of baking time and temperature and variations in the recipe. *Z. Lebensm.Unters. Forsch.*, 181, 4.
 - Smits, C.H.M., Veldman, A., Verstegen, M.W.A., and Benyen, A.C. (1997). Dietary carboxymethylcellulose with high viscosity instead of low viscosity reduces macronutrient digestion in broiler chickens.*J. Nutr.* 127, 483–487.
 - Southgate DAT, (1998). Physical form and physiological function of dietary fibre. In: Guillon ed, Functional properties of non-digestible carbohydrates. Profibre European Air Concerted Action.European Commission, 1998: 1 I-6.
 - Sungsoo Cho, S. , Mark I. Deher. (2001). Handbook of Dietary Fiber, , Marcel Dekker Inc., Nueva York, pp. 195-199.
 - Tedaldi, J. S. (1985). El maíz en México, su pasado, presente y futuro. Usos industriales del maíz demanda actual y futura. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. México. D.F.
 - Thompson, D. B. (2000). Strategies for the manufacture of resistant starch. *Trends Food Science Technology*, 11(7), 245–253.
 - Thornton, J. R., Dryden, A., Keileher, J. & Lowsky, M. S. (1985). Does super efficient starch absorption promote colonic neoplasia? *Gut*, 26, A554.
 - Watson L. A. , (1962),*Sci. Food Agric.* 20:331-335.
 - Weatherwax, P. (1922). The popping of corn. *Ind Acad. Sci. Proc.* 1921: 149-153.
 - Whistler, R.L.(1989) in *Frontiers in Carbohydrate Research*, Vol. 1 (J.N. BeMiller and R. Chandrasekaran, eds), Lomdon and New York, Elsevier, pp 289-296.

ANEXOS

**Análisis estadístico de Fibra dietética total en muestras secas con tratamiento térmico
Oneway**

ANOVA

FDT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	391.854	4	97.963	370.218	.000
Within Groups	3.969	15	.265		
Total	395.823	19			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

FDT

Duncan^a

DAT	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
pozolero	4	7.1500			
azul	4	7.8075	7.8075		
blanco	4		8.1000		
amarillo	4			10.1475	
palomero	4				19.0800
Sig.		.091	.434	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

**Análisis estadístico de Fibra dietética total en muestras secas crudas
Oneway**

ANOVA

FDT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	176.530	4	44.133	224.219	.000
Within Groups	2.952	15	.197		
Total	179.483	19			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

FDT

Duncan^a

DATOS	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
azul	4	10.9800			
pozolero	4		12.1775		
amarillo	4		12.6175		
blanco	4			15.4325	
palomero	4				19.2700
Sig.		1.000	.181	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Fibra dietética total en muestras húmedas con tratamiento térmico

Oneway

ANOVA

FDT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	636.480	4	159.120	935.496	.000
Within Groups	2.551	15	.170		
Total	639.031	19			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

FDT

Duncan^a

MAIZ	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
pozolero	4	2.9818			
azul	4		4.2450		
blanco	4		4.4250		
amarillo	4			5.8575	
palomero	4				18.2950
Sig.		1.000	.546	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Análisis estadístico de Fibra dietética total en muestras húmedas crudas

Oneway

ANOVA

FD

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	143.467	4	35.867	221.955	.000
Within Groups	2.424	15	.162		
Total	145.891	19			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

FD

Duncan^a

MA	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
azul	4	9.8175				
pozolero	4		10.6725			
amarillo	4			11.7650		
blanco	4				13.8400	
palomero	4					17.3125
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Análisis estadístico de Almidón resistente en muestras húmedas con tratamiento térmico

Oneway

ANOVA

AR

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6.329	4	1.582	3864.021	.000
Within Groups	1.515E-02	37	4.095E-04		
Total	6.344	41			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

AR

Duncan^{a,b}

MAS	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
amarillo	9	.2267			
palomero	9	.2356			
blanco	9		.3344		
azul	6			.3750	
pozolero	9				1.2222
Sig.		.380	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.182.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

Análisis estadístico de Almidón resistente en muestras húmedas crudas

Oneway

ANOVA

ARC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.366	4	9.146E-02	120.237	.000
Within Groups	2.510E-02	33	7.607E-04		
Total	.391	37			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ARC

Duncan^{a,b}

MMA	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
amarillo	7	.1214	
palomero	7		.3643
pozolero	9		.3689
azul	6		.3767
blanco	9		.3844
Sig.		1.000	.208

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7.412.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

Análisis estadístico de Almidón resistente en muestras secas crudas

Oneway

ANOVA

ALMIDÓN

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.478	4	.119	121.261	.000
Within Groups	3.250E-02	33	9.849E-04		
Total	.510	37			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ALMIDÓN

Duncan^{a,b}

MUESTRAS	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
amarillo	7	.1314	
palomero	7		.4057
Azul	6		.4200
pozolero	9		.4222
Blanco	9		.4289
Sig.		1.000	.204

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7.412.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

Análisis estadístico de Almidón resistente en muestras secas con tratamiento térmico

Oneway

ANOVA

ARE

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	44.330	4	11.082	8323.066	.000
Within Groups	4.927E-02	37	1.332E-03		
Total	44.379	41			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ARE

Duncan^{a,b}

M	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
palomero	9	.2456				
amarillo	9		.3922			
blanco	9			.6078		
azul	6				.6767	
pozolero	9					2.9400
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.182.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.