

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO



**INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD
ÁREA ACADÉMICA DE NUTRICIÓN**

**DETERMINACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD
"IN VITRO" DE LA PROTEINA, CONTENIDO DE
FITATOS Y LISINA DISPONIBLE EN VARIEDADES
CRIOLLAS DE MAÍZ DEL ESTADO DE HIDALGO.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADA EN NUTRICIÓN

P R E S E N T A

ANDREA DE JESÚS CERÓN HERRERA.

DIRECTORA: M. EN C. ESTHER RAMÍREZ MORENO.

CODIRECTOR: DR. ERNESTO ALANÍS GARCÍA.

ASESOR: M. EN C. RODOLFO GÓMEZ RAMÍREZ.



PACHUCA HIDALGO.

ABRIL 2006.

AGRADECIMIENTOS.

Gracias al Sistema de Investigación Ignacio Zaragoza del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (SIZA-CONACYT) por el apoyo brindado para la realización de ésta tesis, que formó parte del Proyecto denominado “Potencial de Industrialización de las Variedades Criollas de Maíz cultivadas en el Estado de Hidalgo” con clave 20020805003 del cual fue responsable el M. en C. Rodolfo Gómez Ramírez, adscrito al Instituto de Ciencias Agropecuarias (ICAP) de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Infinitamente Gracias por preocuparse en el área de la Investigación, por formar profesionales de calidad y por estimularlos día con día.



AGRADECIMIENTOS.

Porque no me alcanzaran ni el tiempo ni las palabras, simplemente... Gracias...

A la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo por haber creído en el proyecto de esta licenciatura y por haber sido mi segundo hogar durante cuatro años.

Al Mtro. Rodolfo Gómez por haberme invitado a participar en este proyecto y por todo el apoyo brindado.

A mi Directora de Tesis, la Mtra. Esther Ramírez y a mi Codirector, el Dr. Ernesto Alanís por su apoyo, confianza, amistad y motivación.

Al Dr. Hugo Nájera, por sus valiosos comentarios durante las revisiones.

A la Mtra. Amanda Peña, al Mtro. Javier Villanueva, a la Mtra. Zuli Calderón, a la Mtra. Guadalupe Rodríguez, al Mtro. Marcos Galván y al Mtro. Teodoro Suárez por ser los pilares de nuestra formación.

A la Química Alejandra por su disponibilidad para apoyarme con el material y el manejo de los equipos de laboratorio.

A los investigadores Mtro. Juan Pablo Pérez Camarillo y Arqueóloga Yolanda Beltrán Vargas del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) campo experimental Hidalgo; por la información proporcionada.

DEDICATORIAS.

A Dios por la fortaleza, la paciencia y la sabiduría que puso en mí durante este tiempo; por darme la oportunidad de escuchar, platicar, ayudar y regalar una sonrisa a los enfermos.

A quienes amo profundamente...

A mis padres, Andrea Herrera Gómez y Venicio Cerón Hernández por su apoyo incondicional y su dedicación en mi formación humana y profesional. A mi madre, amiga y guía, por impulsarme a seguir adelante y por ser ejemplo de fortaleza, orden y disciplina. A mi Padre por ser ejemplo de arduo trabajo, esfuerzo y superación.

A mi hermano, José de Jesús como muestra de que con dedicación y perseverancia los sueños se hacen realidad.

A mi abuelita Ramona Gómez y especialmente a la memoria de mi abuelo Roberto Herrera (†) quien seguramente está orgulloso de la formación que me han dado mis padres y del logro que hoy hemos realizado.

A mis entrañables amigos...

A mis amigos de la preparatoria, especialmente a Deyssi, Daniel Martínez, José, Noé y Francisco, con quienes he tenido la fortuna de seguir compartiendo tristezas y alegrías, quienes sé que a pesar del tiempo y la distancia siempre estarán conmigo.

A la memoria de Daniel Mejía (†) por el cariño que me tuvo y a quién estoy segura le hubiese gustado compartir este momento.

A las gemelas Isabela y Paola, con quienes aprendí a ser más afectiva con los que me rodean.

A Lorena que es ejemplo de lucha por la vida y testimonio de los milagros de Dios.

A Moisés por quien tengo un cariño muy especial y con quien estoy sumamente agradecida por sus consejos y su constante impulso para seguirme superando profesionalmente.

A Arturo, Nayeli, Eduardo, Lilitiana, Gabriel, Maribel, Alvaro, Ana, José Luis, Brenda Margarito, y Viridiana.

*A todos, **Gracias** por su cariño, tiempo, confianza, espacio, comprensión, tolerancia y motivación... Los Quiero.*

A Elena que me apoyó durante la etapa experimental de digestibilidad en el laboratorio de Biotecnología, quien espero haya aprendido durante su estancia conmigo y mi trabajo le sirva de aliciente para dedicarse a la investigación.

A Alejandra, Yadira, Laura y Karina con quienes compartí el laboratorio de Nutrición durante la etapa experimental de lisina y a quienes agradezco su compañía por hacer amenas las jornadas de trabajo.

A mis compañeros del departamento de Nutrición del Hospital General Pachuca, especialmente a Sareth y Leo por el apoyo brindado para laborar con ellos.

A mis pacientes... especialmente a Diego, César, Edmundo y a la memoria de Luciano (†).

Con Amor... Andy.

“Yo soy el lápiz de Dios. Un trozo de lápiz con el cual Él escribe aquello que quiere”

Madre Teresa de Calcuta.

“En el momento de la muerte, no se nos juzgará por la cantidad de trabajo que hayamos hecho, sino por el peso de amor que hayamos puesto en nuestro trabajo. Este amor debe resultar del sacrificio de sí mismos y ha de sentirse hasta que haga daño”

Madre Teresa de Calcuta.

“Hay que hacer las cosas ordinarias, con un amor extraordinario”

Madre Teresa de Calcuta.

“Una sonrisa en los labios alegra nuestro corazón, conserva nuestro buen humor, guarda nuestra alma en paz, vigoriza la salud, embellece nuestro rostro e inspira buenas obras”

Madre Teresa de Calcuta.

“A veces sentimos que lo que hacemos es tan solo una gota en el mar, pero el mar sería menos si le faltara una gota”

Madre Teresa de Calcuta.

“Lo importante no es cuanto hacemos, sino cuanto amor, cuanto honestidad y cuanto fé ponemos en lo que hacemos”

Madre Teresa de Calcuta.

“No puedo parar de trabajar. Tendré toda la eternidad para descansar”

Madre Teresa de Calcuta.

“Hay una cosa muy bonita: compartir la alegría de amar”

Madre Teresa de Calcuta.

“Comienza a manifestarse la madurez cuando sentimos que nuestra preocupación es mayor por los demás que por nosotros mismos”

Albert Einstein.

“La prueba más clara de la sabiduría es una alegría continua”

Montaigne.

“No hay viento favorable para el que no sabe dónde va”

Lucio Anneo Séneca.

“Nunca consideres el estudio como una obligación, sino como una oportunidad para penetrar en el bello y maravilloso mundo del saber”

Albert Einstein.

“Si quieres conocer a una persona, no le preguntes lo que piensa sino lo que ama”

San Agustín.

“El mejor servicio que el personal de salud puede prestar a un enfermo es ser una persona amable, atenta, cariñosa y sensible”

Elizabeth Kübler Ross.

“Todo lo que se come sin necesidad se roba al estómago de los pobres”

Mahatma Gandhi.

“El alimento: la mejor conexión entre Tierra, Cuerpo y Ciencia”

ÍNDICE.

	Pág.
RESUMEN.	1
INTRODUCCIÓN.	2
1. MARCO TEORICO.	4
1.1. Origen del maíz.	4
1.2. Razas y variedades de maíz en México.	4
1.3. Maíz de alta calidad proteica.	7
1.4. Producción de maíz.	8
1.5. Estructura del grano de maíz.	9
1.6. Composición química del maíz.	11
1.6.1. Valor nutritivo del maíz.	12
1.7. Las proteínas y los aminoácidos en el organismo.	12
1.8. Las proteínas en los alimentos.	13
1.8.1. Alteración de las proteínas.	15
1.8.2. Lisina.	15
1.8.2.1. Métodos empleados para determinar lisina en alimentos.	17
1.9. Digestibilidad.	18
1.9.1. Métodos para determinar la digestibilidad de la proteína en alimentos.	20
1.10. Ácido fítico.	21
1.10.1. Métodos empleados para determinar fitatos.	23
2. ANTECEDENTES.	25
3. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.	29
4. JUSTIFICACIÓN.	30
5. OBJETIVOS.	31
6. METODOLOGÍA.	32
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	50

	Pág.
8. CONCLUSIONES.	59
9. RECOMENDACIONES.	60
10. BIBLIOGRAFÍA.	61

RESUMEN.

El maíz, junto con el trigo y el arroz es uno de los cereales más importantes del mundo. En México y en el estado de Hidalgo se considera importante por ser el principal producto agrícola, destinándose la mayor parte de su producción al consumo humano (tortillas, elotes, tamales, atole, pozole, etc.).

Dada la importancia de este cereal en la dieta y sabiendo que no se cuenta con información sobre la calidad nutritiva de las variedades criollas de maíz de Hidalgo, se realizó el presente trabajo; donde el principal objetivo fue determinar algunos parámetros que permiten establecer la calidad nutricional de la proteína, para ello se realizó la determinación de la digestibilidad de la proteína *in vitro*, el contenido de fitatos y el contenido de lisina disponible. Las variedades estudiadas fueron de maíz amarillo, blanco y azul. Cabe mencionar que las técnicas utilizadas en el presente estudio se eligieron por ser relativamente sencillas, de buena confiabilidad y de bajo costo en comparación con otros métodos.

Se encontró una digestibilidad promedio de $68.61 \% \pm 6.85$ entre las variedades estudiadas, siendo la variedad amarilla la que presentó el menor porcentaje (60.97 %); entre las tres variedades se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$). Con respecto al contenido de fitatos, se observaron diferencias entre las variedades de color amarillo y azul, siendo la variedad amarilla la que obtuvo el valor más bajo (9.13 mg/g muestra) en comparación con la variedad azul (11.68 mg/g muestra), el promedio de las tres variedades fue de $10.38 \% \pm 1.28$. En cuanto al contenido de lisina disponible se encontró un promedio de $0.89 \% \pm 0.20$ y una diferencia significativa entre las variedades blancas y azules, siendo las variedades blancas las que presentaron el contenido más bajo (0.72 g de lisina/g de N). En el análisis de correlación, no se encontró diferencia significativa ($p < 0.01$) entre porcentaje de digestibilidad, el contenido de fitatos y lisina.

Palabras clave: Maíz, digestibilidad de proteína *in vitro*, lisina disponible, fitatos.

INTRODUCCIÓN.

Los primeros pobladores vivieron principalmente de alimentos que obtenían de la caza y la recolección. Entre las primeras cosechas que se plantaron y cosecharon figuran los cereales. Las antiguas civilizaciones florecieron en parte debido a sus habilidades para producir, almacenar y distribuir estos cereales: maíz en el continente americano antes de la llegada de los europeos; arroz en las grandes civilizaciones asiáticas; y cebada en Etiopía y el noreste de África. El Maíz, en el mundo y en México, es considerado como un cereal importante. La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) lo considera como un alimento de enorme trascendencia para la nutrición y la seguridad alimentaria en países en desarrollo por ser un alimento básico en la dieta de estos. A nivel mundial los principales países productores de maíz son Estados Unidos, China, Brasil y México, quien en 1998 se ubicó en el 4° lugar de producción con 18, 411,320 toneladas, representando un 3 % del total de la producción (FAO, 1993).

En México, es un alimento básico y es el principal producto agrícola en superficie, la mayoría de su producción se destina al consumo humano, realizándose esta actividad bajo diferentes esquemas de producción, que pueden ser de temporal o de riego, con fines comerciales y de autoconsumo. En el año 2000, Hidalgo ocupó el 3^{er} lugar en producción nacional de maíz en modalidad de riego con 362,917 toneladas, esto, seguido de los estados de Guanajuato y México (SAGARPA e INIFAP, 2003); para el año 2005 produjo 6, 244,312 toneladas (SAGARPA, 2006).

En países en desarrollo, como México se estima que entre el 60 y el 70 % de la superficie para la siembra de maíz es destinada para variedades criollas. Las "*variedades criollas*", son aquellas que por sus características se adaptan a un lugar de siembra, esto como resultado de la manipulación tradicional de los campesinos. Estas variedades tienen como antecesor y pariente más cercano al teocintle (FAO, 2005). Los estados en los que aún se puede encontrar una cantidad considerable de variedades criollas son el estado de México, Hidalgo, Tlaxcala y Puebla, por

mencionar algunos (Serratos, 2005); en ellos éste alimento sigue formando parte de la dieta de comunidades rurales (SAGARPA e INIFAP, 2003).

Se han realizado pocos estudios sobre la digestibilidad, el contenido de lisina y fitatos en el maíz; estas variables han sido estudiadas en su mayoría en alimentos como sorgo, arroz, avena, harinas de soya, entre otros.

Con respecto a estudios en los maíces criollos hasta el momento, la única información que se tiene es por parte del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), mediante una entrevista realizada en el campo experimental Hidalgo; donde se informó que se han realizado análisis sobre la composición química y nutrimental en variedades criollas del estado de Oaxaca. Actualmente, en el estado de Hidalgo se encuentra en proceso un proyecto similar al anterior, pero no abarca el estudio específico de la calidad de la proteína.

1. MARCO TEÓRICO.

1.1. Origen del maíz.

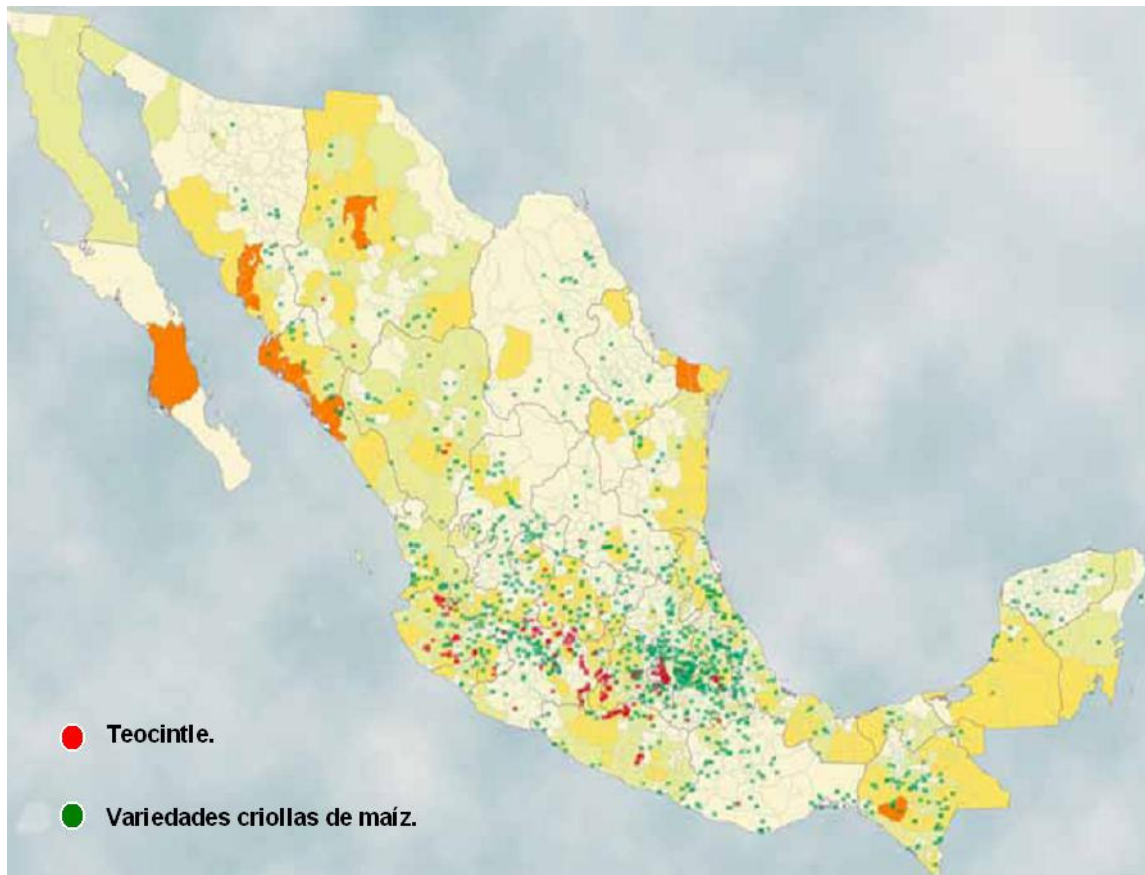
El cultivo del maíz (*Zea mays*) tuvo su origen, con toda probabilidad, en América Central, especialmente en México, de donde se difundió hacia el norte hasta Canadá y hacia el sur hasta Argentina. La evidencia más antigua de la existencia del maíz es de unos 7 000 años de antigüedad, ha sido encontrada por arqueólogos en el valle de México pero es posible que hubiese otros centros secundarios de origen en América. Este cereal era considerado un alimento básico en las civilizaciones maya y azteca y tuvo un papel importante en sus creencias religiosas, festividades y nutrición; ambos pueblos incluso afirmaban que la carne y la sangre estaban formadas por maíz. La supervivencia del maíz más antiguo y su difusión se debió a los seres humanos, quienes recogieron las semillas para posteriormente plantarlas. A finales del siglo XV, tras el descubrimiento del continente americano por Cristóbal Colón, el grano fue introducido en Europa a través de España. Se difundió entonces por los lugares de clima más cálido del Mediterráneo y posteriormente a Europa septentrional (Wellhausen y col., 1952).

1.2. Razas y variedades de maíz en México.

Podemos definir como “raza” a un conjunto de variedades de maíz con bastantes características morfológicas y fisiológicas (como precocidad, resistencia, susceptibilidad a las plagas, enfermedades y rendimientos semejantes) en común (UACH, 2002).

Las características morfológicas y agronómicas utilizadas en la descripción para la clasificación racial, son la base fundamental para diferenciar grupos de maíces (Wellhausen y col., 1952).

En México, se han descrito hasta el momento aproximadamente 49 razas de maíz, de las cuales se derivan las "*variedades criollas*", aquellas que por sus características se adaptan a un lugar de siembra, esto como resultado de la manipulación tradicional de los campesinos. Estas variedades tienen un antecesor, el teocintle (nombre náhuatl que significa "semilla de los dioses"), aquel que desapareció en el momento que apareció el maíz (Martínez, 2005). Tanto las variedades criollas como el teocintle, en parte del centro y del sur del país se conservan aún de manera considerable; destacan los estados de México, Hidalgo, Tlaxcala, Puebla, Michoacán, Morelos, Querétaro y Guanajuato (Figura 1) (Serratos, 2005).



Fuente: Serratos, H. J., 2005.

Figura 1. Distribución de teocintle y variedades criollas de maíz en México.

El maíz tiene un sistema de polinización abierta o cruzada, en el que el polen de una planta se transporta a otra, se crea un flujo natural de genes que mantiene la diversidad. La constante evolución favorecida por este flujo génico permite una reproducción entre maíces de la misma familia, evitando que se manifiesten repercusiones negativas, como mutaciones que lleven a características genéticas no deseables. Por lo tanto, perder la diversidad de estas variedades significaría irrumpir con ese cambio dinámico que se da (Martínez, 2005), además de perder una parte de la cultura, pues han sido el origen de diversas civilizaciones (FAO, 1993) y durante años han formado parte de las costumbres y tradiciones de los mismos; su importancia es tal que en algunos países occidentales son consideradas como patrimonio común de la humanidad (Altieri, 2006).

Así, tenemos que los maíces por su derivación se clasifican en cuatro grupos principales (Wellhausen y col., 1952):

1.- *Razas indígenas antiguas*. El grupo de las razas indígenas antiguas se originó del maíz primitivo tunicado; así en este grupo encontramos al maíz Chapalote, Nal Tel, Arrocillo amarillo y al Palomero toluqueño.

2.- *Razas exóticas precolombinas*. Las razas exóticas precolombinas se consideran introducidas de centro y Sudamérica en épocas prehispánicas. En este grupo están las razas Cacahuazintle, Harinoso de ocho, Olotón y Maíz dulce.

3.- *Razas mestizas prehistóricas*. Las razas de este grupo se considera que fueron originadas por una serie de cruzamientos entre las razas de maíz indígenas antiguas y exóticas precolombinas, sumándose además una influencia del teocintle como un progenitor más. En este grupo se incluyen las razas: Cónico, Reventador, Tabloncillo, Tehua, Tepezintle, Comiteco, Jala, Zapalote Chico, Zapalote Grande, Pepitilla, Olotillo, Tuxpeño y Vandeño; que son el producto de los diferentes cruzamientos que ocurrieron en algún momento del proceso evolutivo y que con los

años terminaron en la presencia de características particulares que las diferencian de sus progenitores y de otros grupos de maíz.

4.- *Razas modernas incipientes*. En este grupo se encuentran las razas de maíz originadas desde la época de la conquista española en México. Se encuentran en este grupo las razas Chalqueño, Celaya, Cónico Norteño y Bolita. En algunos casos el origen de estas razas es reciente.

A través de los años se ha buscado mejorar la calidad nutrimental de estas razas y para ello se han realizado diversas investigaciones, de las cuales sólo una ha sido de importancia nutricional, el maíz de alta calidad proteica (MCP o mejor conocido por sus siglas en inglés como Quality Protein Maize) (FAO, 1993).

1.3. Maíz de alta calidad proteica.

El gran consumo de maíz de los habitantes de diversos países de América Latina y África, así como el conocimiento, de las deficiencias de lisina y triptofano de sus proteínas, dio lugar a investigaciones en busca de un grano con una mayor concentración de estos aminoácidos esenciales. En 1964 Mertz, Bates y Nelson descubrieron que el gen opaco-2 originaba un cambio en la composición de los aminoácidos del endospermo del maíz, dándose así un incremento de lisina y triptofano en casi el doble en maíces híbridos que en maíces criollos (FAO, 1993; INIFAP, 2004). Desde entonces se ha continuado con las investigaciones para proporcionar a la población no sólo un alimento que rinda en producción sino que tenga un impacto en el estado nutricional.

Sin embargo, a pesar de la existencia de estos maíces, se estima que entre el 60 y el 70 % de la superficie total destinada para la siembra de maíz en países en desarrollo es utilizada para variedades locales “no mejoradas” o mejor conocidas como “variedades criollas” (FAO, 2005).

1.4. Producción de maíz.

A nivel mundial los principales países productores de maíz son Estados Unidos, China, Brasil y México, este último en 1998 se ubicó en el 4º lugar de producción con 18, 411,320 toneladas, representando un 3 % del total. Es importante señalar que gran parte de este producto se ha destinado a la alimentación humana, sobre todo en el caso de Latinoamérica y algunos países de África (UACH, 2002; FAO, 2005).

En México, el maíz es el principal producto agrícola, por tradición es la base de la alimentación de la sociedad mexicana; su producción se realiza prácticamente en todos los estados de la República, bajo un mosaico de formas y procedimientos productivos con diferentes grados de tecnificación y utilización de una amplia variedad de semillas, que se reflejan en las características del producto. La producción de maíz se destina predominantemente al consumo humano y en menor medida para el consumo animal e industrial. En el consumo humano del grano se observan dos vertientes: el consumo de los productores y sus familias (autoconsumo), y el consumo, cuya premisa es su industrialización, la cual permite la generación de productos elaborados.

En los procesos industriales del maíz se genera una diversidad de productos que van desde la tortilla hasta los cereales de mesa, aceites comestibles, frituras, almidones y harinas. Por otra parte, también es utilizado como alimento para el ganado, en forma directa o es canalizado a la industria de alimentos balanceados, principalmente para aves y cerdos (UACH, 2002).

Sinaloa, Veracruz, Michoacán, Guerrero, Chiapas, México, Oaxaca, Puebla, Guanajuato e Hidalgo son los principales estados productores de maíz en nuestro país, aportando de 600 mil - 2 millones de toneladas por año (INEGI, 2003).

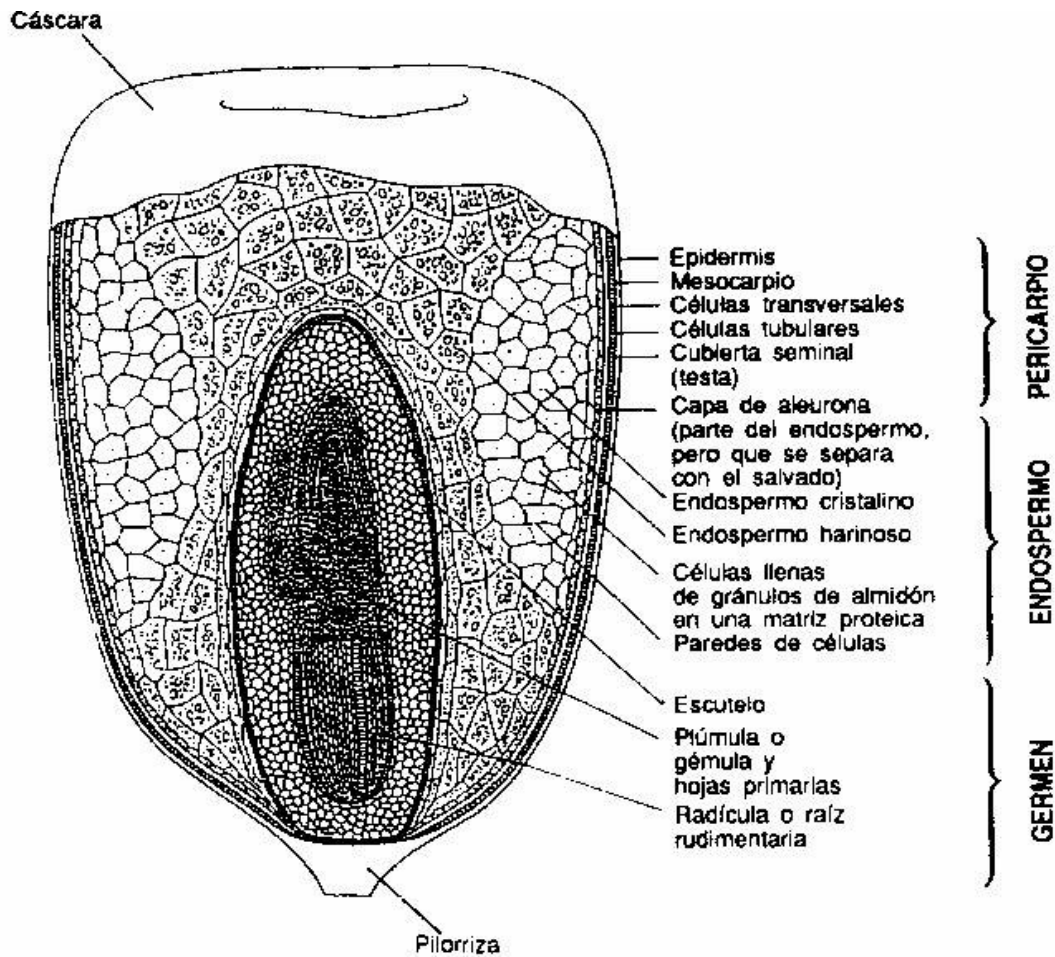
En el año 2000, Hidalgo aportó 362,917 toneladas de maíz, ocupando así el 3^{er} lugar en producción nacional en modalidad de riego, esto seguido de los estados de

Guanajuato y México (SAGARPA e INIFAP, 2003). En el año 2005 aumentó su producción a 6, 244,312 toneladas de maíz; entre los municipios que destacan por la siembra y producción de este alimento se encuentran Ixmiquilpan, Alfajayucan, Mixquiahuala de Juárez, San Salvador, Tula de Allende, Tezontepec de Aldama, Chilcuatla, Francisco I. Madero, Progreso de Obregón, Tepeji del Río de Ocampo, Tasquillo; poblados que en conjunto producen entre 11 mil y 28 mil toneladas por año (SAGARPA, 2006).

1.5. Estructura del grano de maíz.

Los granos de maíz se desarrollan mediante la acumulación de los productos de la fotosíntesis, la absorción a través de las raíces y el metabolismo de la planta de maíz en la inflorescencia femenina denominada espiga. Esta estructura puede contener de 300 a 1,000 granos según el número de hileras y el diámetro y longitud de la mazorca. El peso del grano puede variar mucho, de aproximadamente 19 a 30 g por cada 100 granos. El grano de maíz se denomina botánicamente como cariósipide o cariopsis; cada grano contiene el revestimiento de la semilla, o cubierta seminal, y la semilla. El grano tiene cuatro estructuras físicas fundamentales (Figura 2) el pericarpio, la cáscara, o salvado; el endospermo y el germen o embrión (FAO, 1993).

Al endospermo, que es la parte de mayor tamaño, corresponde cerca del 83 % del peso del grano, en tanto que el germen equivale por término medio al 11 % y el pericarpio al 5 % (Cuadro 1). El resto está constituido por la pilorriza, estructura cónica que junto con el pedicelo une el grano a la espiga y que se pierde durante el proceso de nixtamalización (Wolf y col., 1969).



Fuente: FAO, 1993.

Figura 2. Sección longitudinal de un grano de maíz.

Cuadro 1. Distribución ponderal de las principales partes del grano.

Estructura	Porcentaje de distribución ponderal.
Pericarpio	5-6 %
Aleurona	2-3 %
Endospermo	80-85 %
Germen	10-12 %

Fuente: FAO, 1993.

1.5.1. Composición química del maíz.

Todos los granos de cereal se caracterizan por tres capas principales: pericarpio, endospermo y germen, pues en estas se encuentran los principales componentes químicos. La cubierta seminal o pericarpio se caracteriza por un elevado contenido de fibra cruda, aproximadamente de 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, alrededor de 87%, aproximadamente un 8 % de proteínas y un contenido de grasas relativamente bajo (0.8 %). Por último, el germen se caracteriza por un elevado contenido de grasa, (33 % en promedio), contiene también un nivel relativamente elevado de proteínas (próximo al 20 %) y minerales (Cuadro 2). La capa de aleurona (parte del grano que se encuentra entre la cubierta seminal y el endospermo cristalino), además de contener proteínas (aproximadamente el 19 %) contiene fibra cruda y en ella también se encuentra una cantidad importante de fitatos (FAO, 1993). Respecto al total de cada componente químico del maíz, en el Cuadro 2 también se muestra que el almidón es el principal componente de este grano y el contenido de proteína es relativamente bajo (Desrosier, 1989; FAO, 1993).

Cuadro 2. Composición química proximal de las partes principales de los granos de maíz.

Componente Químico	Pericarpio (%)	Endospermo (%)	Germen (%)	Total
Proteínas	3.7	8	18.4	9.91
Grasa	1	0.8	33.2	4.78
Fibra cruda	86.7	2.7	8.8	2.66
Cenizas	0.8	0.3	10.5	1.42
Almidón	7.3	87.6	8.3	71.5
Azúcar	0.34	0.62	10.8	2.58

*Porcentaje expresado en base al peso seco.

Tomado y modificado de: Desrosier, 1989; FAO, 1993.

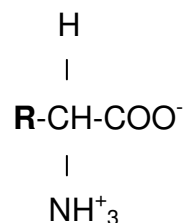
1.6. Valor nutritivo del maíz.

La importancia de los cereales en la nutrición de millones de personas de todo el mundo es ampliamente reconocida. Debido a que su ingesta es relativamente elevada en los países en desarrollo, no se les puede considerar sólo una fuente de energía, sino que además suministran cantidades notables de proteínas, sólo en combinación con alimentos como las leguminosas. El maíz por sí solo presenta deficiencia de aminoácidos esenciales como lisina y triptofano, además de la presencia de algunos compuestos antinutrimientales como los fitatos, ocasionando que sea una proteína de bajo valor biológico (FAO, 1993).

1.7. Las proteínas y los aminoácidos en el organismo.

Las proteínas y los aminoácidos, al igual que los carbohidratos y las grasas también son importantes para la obtención de energía y son el segundo almacén más grande de energía en el organismo, después del tejido adiposo y las reservas de grasa en los tejidos. Las reservas de proteína deben conservarse para un gran número de funciones críticas en el cuerpo, pues la pérdida de más del 30 % de esta reduce la masa muscular, disminuye la función inmunitaria y la función de los órganos declina a tal grado que puede ocurrir la muerte (Shills y col., 2002).

Los aminoácidos son las unidades elementales de las proteínas, químicamente se definen como ácidos carboxílicos que contienen un grupo amino, su fórmula general es la siguiente:



Además de las necesidades de proteínas en general, se requieren como parte de la dieta diaria ocho aminoácidos que el organismo no puede sintetizar, también

denominados *aminoácidos esenciales* (leucina, isoleucina, valina, fenilalanina, triptofano, lisina, metionina y treonina); quienes son una fuente de nitrógeno para la biosíntesis de otros componentes proteínicos importantes en el cuerpo como enzimas, hormonas y anticuerpos (Feldman, 1990).

1.8. Las proteínas en los alimentos.

Las proteínas y sus productos de degradación también son componentes importantes de los alimentos, pues contribuyen directamente al sabor de los mismos y son precursores de los componentes aromáticos y las sustancias de color que se forman mediante las reacciones térmicas y/o enzimáticas que ocurren durante la obtención, preparación y almacenamiento de los mismos (Badui, 1999; Fennema, 2000).

Según su solubilidad en los cereales se distinguen cuatro fracciones proteicas. Las albúminas, que son solubles en soluciones salinas diluidas y en agua, las globulinas que son solubles en soluciones salinas diluidas, las prolaminas que son solubles en etanol al 50 -80 % y las glutelinas que son solubles en álcalis (pH 12) y ácidos (pH 2). En el maíz estas fracciones representan el 4, 2, 55 y 39 % respectivamente (Badui, 1999). Las albúminas y las globulinas o proteínas citoplasmáticas tienen funciones metabólicas y estructurales, se localizan principalmente en el embrión y en la periferia del grano (Astiasarán y Martínez, 2000; Cafaro, 2006) y se caracterizan por un elevado contenido de lisina (Yousif y El Tinay, 2000).

El concepto de calidad es variable, depende del criterio especificado con relación al mercado y la industria que utilice dichos granos; además, es dinámico, ya que se modifica en el tiempo con los distintos usos y necesidades de cada región o país, que puede cambiar de acuerdo a nuevos conocimientos o criterios de evaluación; la calidad de los granos también es afectada por factores genéticos, como la elección del genotipo a sembrar, y por factores ambientales. Dos de los factores ambientales que pueden alterar la cantidad y composición de las proteínas de modo más notorio

son la disponibilidad de N y las altas temperaturas durante el período de llenado de los granos (Cafaro, 2006).

La calidad de las proteínas en los alimentos está relacionada fundamentalmente con la composición de aminoácidos esenciales que presenta, así como por su porcentaje de digestibilidad. Las proteínas de alta calidad son las que contienen todos los aminoácidos esenciales en proporciones iguales o más elevadas que las de referencia por la FAO/OMS/UNU (Cuadro 3), y una digestibilidad comparable o superior a la clara de huevo o la leche ya que por su contenido de aminoácidos se consideran proteínas de alto valor biológico (Feldman, 1990; Fennema, 2000).

Cuadro 3. Contenido de aminoácidos esenciales recomendada para las proteínas alimentarias.

Patrón recomendado por la FAO (g/16 gN)	
Aminoácido	
Isoleucina	4
Leucina	7
Lisina	5.5
Met + Cys	3.5
Phe + Tyr	6
Treonina	4
Triptofano	1
Valina	5

Fuente: Quevedo y col., 1999.

Los cereales como el arroz, el trigo, la cebada y el maíz se consideran ricos en metionina y muy pobres en lisina. En el maíz, la lisina y el triptofano se consideran el primer y el segundo aminoácido limitante, respectivamente; es decir, se encuentran en menores cantidades a las del patrón ideal; de tal manera que su calidad proteica se encuentra limitada. Por otra parte, cabe mencionar que la calidad de las proteínas en los alimentos también puede verse afectada durante diversos procesos como la

pasteurización, la deshidratación y la condensación (Astiasarán y Martínez, 2000; Fennema, 2000).

1.8.1. Alteración de las proteínas.

Durante el almacenamiento, la preparación y el procesamiento de los alimentos para el consumo, éstos se someten a distintos tratamientos que provocan efectos, en ocasiones benéficos y en ocasiones dañinos. Desde el punto de vista de la nutrición, el mayor daño que puede ocurrir es la pérdida de aminoácidos indispensables, pero también hay que considerar que en algunos casos se dan cambios negativos en las propiedades funcionales, sensoriales y de textura (Badui, 1999).

El proceso más común es el tratamiento térmico, donde se propician diferentes reacciones en las que llegan a intervenir todos los compuestos presentes; algunos de los cambios se presentan en función de la intensidad del tratamiento. Una de las transformaciones más significativas es un cambio (positivo o negativo) en el valor de la relación de la eficiencia proteica, comportamiento que se ha comprobado en proteínas de leguminosas, leche, huevo, soya, etc. Por ejemplo, la leche, mejora su eficiencia proteica con un calentamiento ligero como la pasteurización, esto debido a que las proteínas se desnaturalizan y exponen sus enlaces peptídicos, lo que facilita el ataque por parte de las enzimas proteolíticas digestivas, aprovechándose mejor sus aminoácidos; pero los calentamientos fuertes como la deshidratación y la condensación, así como los pHs alcalinos reducen su digestibilidad y valor nutritivo (Badui, 1999; Fennema, 2000).

1.8.2. Lisina.

La lisina, al igual que el resto de los aminoácidos cuenta con un grupo amino y un ácido carboxílico (Figura 3). Dado que su cadena lateral tiene un grupo básico se clasifica como un aminoácido básico, al igual que la histidina y la arginina. Forma parte de los ocho aminoácidos esenciales para el organismo y ocupa una posición

especial en el metabolismo de los mismos ya que la velocidad con la que se llevan a cabo los procesos de síntesis y degradación, es menor en comparación con los otros aminoácidos (Mathews y Van Holde, 1999).

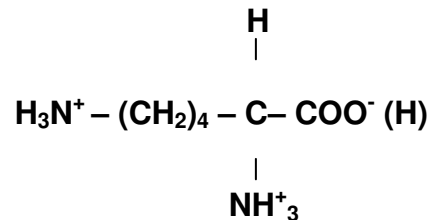


Figura 3. Estructura de la Lisina.

Como se mencionó anteriormente, la lisina es el principal aminoácido limitante en el maíz, encontrándose en cantidades menores a los 5.5 g de lisina/16 g N. El maíz, junto con el trigo son los cereales que presentan menor cantidad de lisina en comparación con otros alimentos (Cuadro 4). La FAO le asigna una puntuación química a los alimentos; esta puntuación está dada por los miligramos del aminoácido limitante existentes por gramo de la proteína en cuestión entre los miligramos del mismo aminoácido por gramo de una proteína de referencia. De acuerdo a lo anterior, el maíz presenta una puntuación química de 43 % que es considerablemente baja con respecto a las proteínas de origen animal, sin embargo, el valor químico de una proteína no tiene en cuenta otros factores, como la digestibilidad de la proteína o el hecho de que algunos aminoácidos pueden estar en formas químicas no utilizables (Fennema, 2000).

La baja disponibilidad de este aminoácido esencial, además del triptófano hacen que la proteína del maíz sea de baja calidad, sin embargo, dado que las leguminosas son ricas en lisina y bajas en metionina se ha encontrado que si estos dos alimentos se combinan, proporcionan un contenido completo y bien equilibrado de aminoácidos, que puede ser comparable a las proteínas de origen animal (Feldman, 1990).

Cuadro 4. Contenido de aminoácidos esenciales en proteínas de diversos orígenes.

Aminoácido (mg/g proteína)	Fuente de proteínas.											
	Huevo	Leche	Carne	Pescado	Trigo	Arroz	Maíz	Centeno	Soya	Alubias	Frijol	Cacahuete
Histidina	22	27	34	35	21	21	27	20	30	26	26	27
Isoleucina	54	47	48	48	34	40	34	35	51	41	41	40
Leucina	86	95	81	77	69	77	127	67	82	71	70	74
Lisina	70	78	89	91	23 ^a	34 ^a	25 ^a	32 ^a	68	63	71	39 ^a
Metionina + Cisteína	57	33	40	40	36	49	41	37	33	22 ^b	24 ^b	32
Fenilalanina + Tirosina	93	102	80	76	77	94	85	79	95	69	76	100
Treonina	47	44	46	46	28	34	32 ^b	29 ^b	41	33	36	29 ^b
Triptofano	17	14	12	11	10	11	6 ^b	11	14	8 ^a	9 ^a	11
Valina	66	64	50	61	38	54	45	46	52	46	41	48
Puntuación Química (%)*	100	100	100	100	40	59	43	55	100	73	82	67

* Basada en el patrón de la FAO/OMS.

^a Principal aminoácido limitante.

^b Segundo aminoácido limitante.

Tomado y modificado de: Fennema, 2000.

1.8.2.1. Métodos empleados para determinar lisina en alimentos.

Los métodos más utilizados para la determinación de lisina son (Hurrell y col., 1979):

El método descrito por Carpenter, que se utiliza principalmente en alimentos que han sido sometidos a diferentes tratamientos para obtener harinas, cereales de mesa, aceites, entre otros; tiene como principio la reacción de los grupos NH₂ con el fluordinitrobenzoceno; se realiza una hidrólisis ácida por formación de dinitrofenil lisina para posteriormente cuantificar este compuesto por espectrofotometría.

El método descrito por Hurrell y col., la técnica se basa en la cantidad de colorante ligado electrovalentemente a los grupos amino básicos, precipitándose como un complejo colorante-proteína.

1.9. Digestibilidad.

La digestibilidad de un alimento se define como la proporción de nitrógeno del mismo que es absorbida tras su digestión. La digestibilidad de las proteínas se mide a partir de balances de nitrógeno, ya que las proteínas se degradan en péptidos y aminoácidos libres durante la digestión en el hombre, este valor se encuentra en un intervalo de 95 a 97 % para el huevo, la leche y el queso; para la carne y las leguminosas entre un 94 y 78 % respectivamente y para el maíz es de 85 % (Cuadro 5), que disminuye a 70 % tras los procesos térmicos y de refinación que lleva durante su transformación a cereal de maíz (Fennema, 2000).

Cuadro 5. Digestibilidad de las proteínas en varios alimentos.

Fuente de proteína	% de Digestibilidad	Fuente de proteína	% de Digestibilidad
Huevos	97	Mijo	79
Leche, queso	95	Frijoles	88
Pescado, carne	94	Cacahuates	94
Maíz	85	Harina de soya	86
Arroz (pulido)	88	Refinado de proteína de soya	95
Trigo (entero)	86	Alubias	78
Harina de trigo (blanca)	96	Maíz, cereal	70
Gluten de trigo	99	Trigo, cereal	77
Harina de avena	86	Arroz, cereal	75

Fuente: FAO, 1993.

El maíz común, en comparación con el arroz y el maíz opaco presenta una baja calidad (Cuadro 6), esto debido a que el maíz opaco es un maíz mejorado que contiene el doble de los aminoácidos lisina y triptofano; se expresa en porcentaje de con respecto a caseína debido a que se considera una proteína de alto valor biológico (FAO, 1993).

Cuadro 6. Calidad de las proteínas del maíz y otros cereales.

Cereal	Calidad de la proteínas (% respecto a caseína)
Maíz común	32.1
Maíz opaco	96.8
MCP	82.1
Arroz	79.3
Trigo	38.7
Avena	59
Sorgo	32.5
Cebada	58
Mijo	46.4
Centeno	64.8

Fuente: FAO, 1993.

Aunque el contenido de aminoácidos representa el principal indicador de la calidad de la proteína, su verdadera calidad depende de la forma en que los aminoácidos son utilizados y aprovechados por el organismo. Por ello, la digestibilidad puede afectar la calidad proteica; sin embargo, existen otros factores que pueden influir, como son los factores antinutrimientales, que son aquellas sustancias presentes en el alimento, que tienen la capacidad de reaccionar o interferir con un nutrimento, disminuyendo su disponibilidad en el organismo (Martínez y col., 1996). En la mayor parte de los refinados de proteínas vegetales y de los concentrados de las mismas

se encuentran inhibidores de tripsina y de quimotripsina, los cuales inhiben la hidrólisis total de las proteínas de las leguminosas y de las oleaginosas por las proteasas pancreáticas. Las proteínas de los alimentos vegetales contienen también otros factores antinutrimientales, como taninos y fitatos; siendo estos últimos quienes intervienen con las proteínas y los minerales (Fennema, 2000).

En el caso del maíz, que es consumido en su mayoría en forma de tortilla, se somete a un tratamiento térmico-alcalino, seguido del calentamiento en el molino y por último el de la cocción final. Los cambios benéficos que trae consigo la nixtamalización es el mejoramiento de la calidad nutritiva del maíz, esto debido a que la disponibilidad de lisina, triptofano y niacina se incrementa considerablemente (Badui, 1999).

Dado que la calidad nutrimental de las proteínas puede variar de modo considerable y verse afectada por diversos factores es necesario disponer de métodos que permitan valorar su calidad. Las determinaciones de la calidad proteica de los alimentos son útiles para:

- ❖ Determinar la cantidad que se precisa para proporcionar una tasa de aminoácidos esenciales que asegure el crecimiento y el mantenimiento.

- ❖ Seguir los cambios del valor nutritivo de las proteínas durante el procesado, de modo que se puedan elegir condiciones que minimicen las pérdidas de calidad.

1.9.1. Métodos empleados para determinar la digestibilidad de la proteína en alimentos.

La calidad nutritiva de las proteínas puede valorarse por métodos biológicos, químicos o enzimáticos.

1) *Métodos biológicos.* Se basan en la ganancia de peso o en la retención de nitrógeno en ensayos con animales experimentales alimentados con dietas que contengan la proteína a analizar; estos métodos generalmente son caros y conllevan largas jornadas de trabajo.

2) *Métodos químicos.* Se calcula el valor nutritivo de la proteína determinando su contenido de aminoácidos y comparando su riqueza en aminoácidos esenciales con la de una proteína patrón ideal; generalmente se utiliza el patrón dado por la FAO que se muestra en el Cuadro 3 (Fennema, 2000; Abdel, 2002).

3) *Métodos enzimáticos.* Se basan en crear un medio muy similar al del organismo, digiriéndose las proteínas con enzimas como la pepsina y la pancreatina o con una mezcla de tripsina, quimotripsina y peptidasa intestinal porcina. Estos métodos tienen la ventaja de poder determinar la calidad de la proteína en alimentos que han sido sometidos a algún proceso y son relativamente menos costosos que los métodos biológicos. Se ha demostrado que los métodos *in vitro* e *in vivo* tienen una correlación entre 0.9 y 0.99, por lo que se recomienda utilizar los métodos *in vitro* en estudios nutricionales (Hsu y col., 1977; Arteaga y Bertorelli, 1989).

1.10. Ácido fítico.

El ácido fítico se considera como un factor antinutricional debido a su capacidad de reaccionar o interferir con nutrientes; generalmente minerales, disminuyendo su disponibilidad en el organismo (Martínez y col., 1996). El ácido fítico se encuentra naturalmente en diferentes alimentos, principalmente en cereales; donde se lleva a cabo la interacción del fósforo con el ácido fítico, entre el 64 y el 85% del fósforo total (Ravindran y col., 1994) localizándose la mayoría del ácido fítico en aleuronas (Lathia y col., 1989; Frossard y col., 2000), generalmente se encuentra como un complejo de fitato-mineral -proteína.

Según su estructura, el ácido fítico, a pH neutro y al pH que normalmente presentan los alimentos, es una molécula cargada negativamente y por tanto es muy reactiva, por lo que presenta una elevada capacidad para formar complejos o unirse a moléculas cargadas positivamente como cationes o proteínas (Wang, 1998).

El grado de interacción entre el ácido fítico y las proteínas es dependiente de la carga neta de la proteína, de su conformación y de las interacciones con minerales a un pH dado. A bajo pH, por debajo del punto isoeléctrico de las proteínas, éstas se encuentran cargadas positivamente y el ácido fítico negativamente. En estas condiciones, se produce una fuerte interacción electrostática entre grupos amino terminal de las proteínas, y ésteres fosfato aniónicos del ácido fítico, formándose un complejo binario. A pH intermedio, por encima del punto isoeléctrico de las proteínas, dado que la carga de las proteínas al igual que la del ácido fítico es negativa, su interacción sería imposible, sin embargo, si puede realizarse a través de la formación de un complejo ternario con cationes divalentes como el Ca^{2+} o el Mg^{2+} . Esta unión se realiza a través de los grupos carboxilos ionizados, siendo necesaria una concentración mínima de estos cationes para mantener estos complejos. A pH intermedio también pueden existir algunos complejos binarios, ya que a dicho pH los residuos lisil y arginil de las proteínas están aún cargados positivamente. A pH elevado la interacción entre las proteínas y el ácido fítico disminuye, los grupos lisil y arginil pierden su carga, y por tanto su capacidad de formar complejos binarios. Los complejos ternarios se desestabilizan ya que la fuerza iónica aumenta a pH elevado; por lo tanto, un incremento en la concentración del ión Na ocasiona la formación de dos compuestos: la unión de fitato y calcio que es insoluble y el otro compuesto, el cual es soluble formado por la unión de la proteína con el sodio. En la Figura 4 se muestran las interacciones que se llevan a cabo (Thompson, 1993; Cheryan, 1996; Dua y col., 1996).

1.10.1. Métodos empleados para determinar fitatos en alimentos.

Para determinar el contenido de fitatos en alimentos se utilizan métodos de extracción, de precipitación, de intercambio iónico, o de cromatografía líquida (Martínez y col., 2002).

1) *Métodos de extracción.* En este método se utilizan solventes como ácido clorhídrico, ácido tricloroacético y ácido sulfúrico, la extracción se realiza a temperatura ambiente y con agitación continua, durante tiempos que oscilan de media hora a tres horas, para después centrifugar y filtrar la suspensión obtenida.

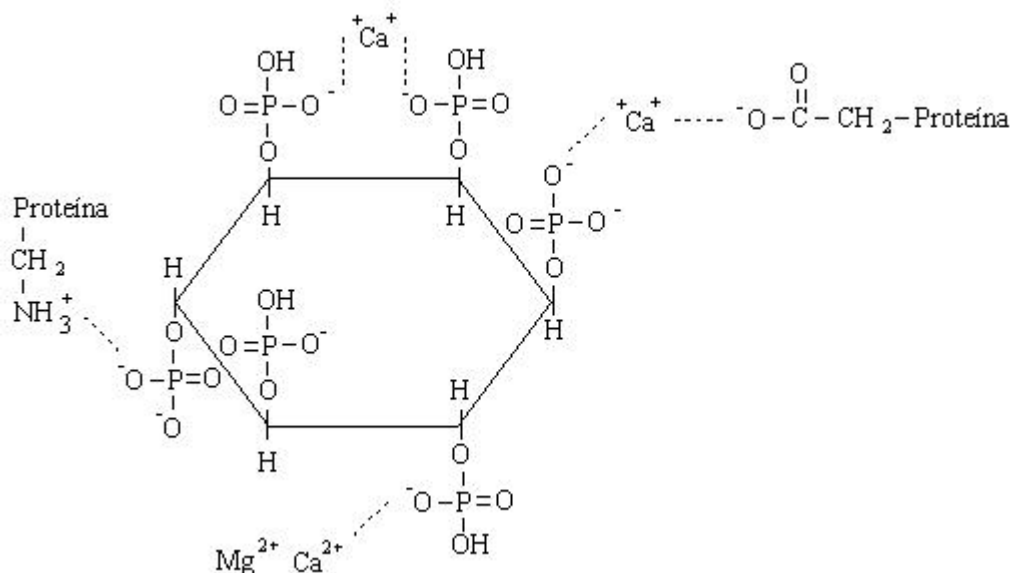


Figura 4. Interacciones del ácido fítico con proteínas y minerales.

2) *Métodos de precipitación.* Se basa en llevar a cabo una precipitación a bajo pH y la formación de un complejo fitato-hierro para posteriormente cuantificar sobre el hierro, utilizando la relación teórica Fe:P de 4:6.

3) *Métodos de intercambio iónico.* En estos métodos la etapa de precipitación es eliminada, la extracción del fitato se realiza directamente y la solución resultante es pasada a través de una resina de intercambio iónico, eluyendo primero el fósforo, y

posteriormente el fitato que es determinado por colorimetría. Los métodos de precipitación e intercambio iónico son válidos en cereales o leguminosas que se encuentran en estado natural.

4) *Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)*. En este método se lleva a cabo previamente algún método de precipitación; y se recomienda principalmente para alimentos que han sido sometidos a tratamientos tecnológicos para su transformación en harinas o algún otro producto.

2. ANTECEDENTES.

Hasta el momento, se han realizado pocas investigaciones sobre la digestibilidad, el contenido de lisina y fitatos en el maíz criollo.

En harinas de soya y cacahuete se ha reportado una digestibilidad *in vitro* de 90 %. Dentro de este mismo estudio se determinó el porcentaje de digestibilidad en trigo y grano de maíz común, con una digestibilidad de 66 y 62 % respectivamente (Mouliswar y col., 1993).

En harinas de trigo, cebada, avena, arroz y grano de maíz crudo se demostró que los procesos como la germinación y fermentación aumentan significativamente el porcentaje de digestibilidad (entre 15 y 19 %) para las harinas de los cereales ya mencionados; en el caso del grano crudo de maíz la digestibilidad aumento de 67 a 80 % (Hamad y Fields, 1979).

En otro estudio realizado en fracciones de grano de maíz común se encontró que la fermentación aumenta la digestibilidad, sobre todo en las fracciones de zeína y glutelina (Yousif y El Tinay, 2000).

En sorgo sin taninos y previamente destoxificado, se ha evaluado el efecto de la cocción en agua sobre la digestibilidad *in vitro* y se ha comparado con cereales como el arroz y el maíz local de Venezuela; y aunque no es significativa la disminución de la digestibilidad cabe mencionar que se da una disminución del 3 % en el maíz con este tratamiento (Agudelo y col., 1998).

En habas cocinadas a diferentes temperaturas (de 96 a 100 °C) e intervalos de tiempo (25, 30, 35, 40 y 45 min.) se han reportado digestibilidades entre 67.5 y 71.1% (El Moniem, 1999).

En el caso del maíz común, se ha demostrado que las altas temperaturas utilizadas durante el proceso de nixtamalización hacen que el valor nutritivo aumente, ya que la

lisina y el triptofano aumentan su disponibilidad debido a que la utilización de calor húmedo, ocasiona la desnaturalización de proteínas (Badui, 1999).

En cultivares de maíz común (Oropeza y Ortiz, 1989) se reportan valores de digestibilidad de 58.47 a 65.80 %; Cruces y col. (2002) reportan digestibilidades de 49.2 a 58.9 % en un producto de maíz compuesto principalmente por germen y pericarpio, el mismo estudio reporta un contenido de lisina que oscila entre 0.19 a 0.37 g lisina/16 g N. En híbridos de maíz de ciclo intermedio se han encontrado digestibilidades de 62.6 a 67.8 %, mientras que en híbridos precoces se reportan valores de 67.2 a 73.2 % (Núñez y col. 2001).

En el maíz común existen pocos estudios reportados con respecto al contenido de lisina, Morales y Gram en 1993 reportaron 2.28 g /16 g N en maíz común y 3.23 g /16 g N para el maíz de alta calidad de proteína.

Por otra parte, los estudios que se han realizado con fitatos han sido en su mayoría sobre sus efectos como compuestos antinutrimientales; se ha demostrado que reducen la biodisponibilidad mineral e inhiben enzimas proteolíticas y amilolíticas debido a que tienen la capacidad de formar complejos (Lee y col., 1988; Khokhar y col., 1994). En algunas investigaciones se ha encontrado que el fitato reduce la absorción intestinal de hierro (López y col., 2002; Minihane y Rimbach, 2002), zinc, calcio (López y col., 2002) y manganeso (Lönnerdal, 2002). También, se ha observado un efecto inhibitorio del fitato sobre enzimas como α -amilasa pepsina, tripsina y tirosinasa (Nair y col., 1991). Sin embargo, otros estudios han reportado efectos benéficos del fitato, tal como su acción antioxidante (Minihane y Rimbach, 2002). Así mismo, se ha observado que el fitato reduce la presencia de biomarcadores de cáncer de colon (Challa y col., 1997; Jenab y Thompson, 1998). Además, por su efecto sobre las sales de calcio, previene la formación de cálculos renales (Zhou y Erdman, 1995).

En granos enteros de híbridos de maíz se ha reportado un contenido de 729 mg/100 g de muestra, que disminuye después del proceso de nixtamalización a 613 mg/100 g de muestra; los estudios señalan que por el alto contenido de calcio, el ácido fítico se satura fácilmente, de tal manera que no existe posibilidad de interacción con otros minerales; por lo tanto el hierro y el zinc también aumentan su disponibilidad (Bressani y col., 2002).

También se han realizado estudios para disminuir el contenido de fitato en los alimentos y su efecto sobre la absorción de minerales, para ello se ha recurrido a la adición de la enzima fitasa (Türk y col., 1996; Greiner, 2000), así como la aplicación de tratamientos hidrotérmicos (Fredlund y col., 1997; Bergman y col., 1999).

En México, los trabajos realizados con maíz han sido desarrollados principalmente para obtener información sobre su mayor rendimiento para la producción. En el caso del maíz de alta calidad proteica Vasal y Villegas trabajaron durante 15 años en el CIMMYT (Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo), en el Estado de México; con el fin de que el maíz de alta calidad proteica tuviera mejores condiciones para desarrollarse en los trópicos de México. Su mayor éxito fue desarrollar el mejoramiento convencional de los genes del maíz, es decir, sin hacer uso de la ingeniería genética. Durante algunos años se detuvo la investigación y fue hasta 1996 que se reanudaron las actividades para producir nuevos híbridos de maíz; ahora el producto desarrollado además de contener casi el doble de lisina y triptofano en comparación con el maíz común, es resistente a plagas; por lo que su rendimiento en el campo es mayor al maíz común (CIMMYT, 2006).

La mayor parte de los trabajos que se encuentran sobre el maíz son en relación con el estudio de parámetros fisicoquímicos para lograr el mejoramiento de su cultivo y para obtener mejores características para la producción de tortilla. En cuanto a estudios sobre la parte nutrimental, el interés principal es sobre los componentes químicos del grano (proteína, humedad, cenizas, grasa, fibra).

Respecto a las investigaciones de maíz criollo la única información que se tiene es la proporcionada durante una entrevista con el Maestro Juan Pablo Pérez Camarillo, investigador del INIFAP (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias) campo experimental Hidalgo. En esta entrevista, se informó que en el estado de Oaxaca, se han realizado análisis de la composición química y nutrimental en variedades criollas del mismo estado.

Actualmente, en el INIFAP, campo experimental Hidalgo se encuentran realizando un proyecto similar al del estado de Oaxaca, en el se tiene como objetivo recolectar diversas muestras de maíz criollo en todo el estado, para después ser clasificadas y analizadas en cuanto a su composición química y nutrimental en el campo experimental del Estado de México (INIFAP, 2006). En éste mismo proyecto se esta realizando una investigación antropológica del maíz, la arqueóloga Yolanda Beltrán Vargas informó que la utilización de maíces mejorados en el estado ha sido en baja escala debido a que para algunos campesinos éstas variedades siguen siendo poco resistentes a las plagas con relación al maíz local; también se informó que culturalmente se tiene un gran aprecio hacia las variedades criollas, pues la mayoría de los campesinos ha tratado de preservar las semillas que sus padres y abuelos cultivaron.

3. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.

Los cereales son considerados alimentos de importancia en el mundo debido a que han sido la base de la alimentación en diversas culturas. A pesar de las modificaciones genéticas que se han realizado para obtener maíces de alta calidad proteica (MCP, mejor conocidos como QPM por sus siglas en ingles), como el maíz opaco-2, en México, como en otros países en desarrollo el maíz criollo sigue siendo el principal producto sembrado y cosechado, pues de la superficie destinada para la siembra entre el 60 y el 70 % es para el cultivo de maíces criollos, que al final terminan siendo para autoconsumo.

Los reportes en cuanto a la composición del maíz que presentan diferentes instituciones son referidos al maíz en general, no especifican ninguna variedad ni raza. En instituciones como SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación), INIFAP, y el CIMMYT, solo se encuentran algunas referencias parciales sobre la caracterización, composición química y calidad nutritiva de las variedades criollas o variedades también denominadas locales y que aún se siguen consumiendo, a pesar de la existencia de otras variedades que han sido mejoradas, como lo es el maíz de muy alta calidad proteica.

4. JUSTIFICACIÓN.

A pesar de las diversas investigaciones que se han llevado a cabo para el mejoramiento de la calidad del maíz, las variedades mejoradas no han sido del todo exitosas, debido a que los productores siguen utilizando las semillas de variedades criollas. Las nuevas variedades como el maíz de alta calidad proteínica (MCP), refieren ellos mismos, son de bajo rendimiento y poco resistentes a las plagas, durante la nixtamalización requiere mayor cantidad de agua que el maíz local; por otra parte, perder la diversidad de las variedades criollas significaría romper con el cambio dinámico que se da en la naturaleza y con ello también se perdería una parte de la cultura, pues el maíz ha sido el origen de diversas civilizaciones y durante años ha formado parte de las costumbres y tradiciones de las mismas. Su importancia es tal que en países occidentales son consideradas como patrimonio de la humanidad. Algunos estudios señalan que entre el 60 y el 70% de la superficie para la producción de maíz, de países en desarrollo, entre ellos México, es destinada para las variedades locales. Los reportes encontrados no aportan información sobre estas variedades. La información que se generará en este estudio acerca de la calidad nutrimental de variedades de maíces criollos, apoyará a la información que se realiza en estudios colaterales de trabajos que proporcionaran información acerca de la caracterización fisicoquímica; de tal forma que se pueda dar mayor sustento a la potencialización de estas variedades producidas en el Estado de Hidalgo.

5. OBJETIVOS.

5.1. Objetivo General.

Determinar algunos parámetros que permiten establecer la calidad nutrimental de la proteína así como el contenido de fitatos en variedades de maíz criollo del sureste del estado de Hidalgo.

5.2. Objetivos Específicos.

- ❖ Determinar el porcentaje de digestibilidad por actividad enzimática de las variedades de maíz criollo del sureste del estado de Hidalgo.
- ❖ Determinar el contenido de lisina disponible de las variedades criollas de maíz del estado de Hidalgo.
- ❖ Determinar el contenido de fitatos por cromatografía de intercambio aniónico de las variedades criollas de maíz del estado de Hidalgo.

6. METODOLOGIA.

6.1. Muestras.

Las unidades de estudio que se eligieron fueron muestras de maíz criollo, representativas de cada variedad de un lote total de 46 muestras; estas muestras se obtuvieron por Gómez y col., (2005) de los siguientes municipios del sureste del estado de Hidalgo: Acaxochitlán, Agua Blanca, Cuauhtepic, Tulancingo, Metepec y Santiago Tulantepec; el muestreo se realizó con asesoría de técnicos del INIFAP Hidalgo, se muestrearon de entre 30 y 50 mazorcas, avanzando en zigzag en la milpa de los agricultores, cortando mazorcas de diferentes plantas y de diferentes surcos, evitando tomar mazorcas de plantas ubicadas en las orillas de la milpa. Cuando no fue posible muestrear de la milpa, se muestreó del almacén, tomando muestras de diferentes zonas o de diferentes costales.

6.2. Metodología.

Una vez recolectadas todas las muestras, se procedió a etiquetarlas mediante un código, posteriormente fueron molidas finamente en el Instituto de Ciencias Agropecuarias (ICAP) dependiente de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Para las muestras de laboratorio se tomó 1 Kg que fue almacenado en una bolsa de polietileno y llevada a un desecador hasta el momento en que se realizaron las determinaciones, para evitar que las muestras se hidrataran. La forma en que se codificaron las variedades fueron las siguientes “A” para las variedades amarillas, “B” para las variedades blancas y “N” para las variedades azules; para las muestras se asignaron números, los cuales corresponden a diferentes productores. Se anexa la información que fue obtenida en la recolección del maíz mediante una encuesta realizada por personal del ICAP (Cuadro 7 y Fotografías 1-10).

Cuadro 7. Información de campo. Muestras colectadas en los municipios de Agua Blanca, Metepec, Tulancingo, Acatlán, Acaxochitlán, Cuauhtepic y Santiago Tulantepec, pertenecientes al sureste del estado de Hidalgo

Código de la muestra	Nombre del productor	Región	Lugar de la colecta	Tiempo de cultivar esta variedad	Color del grano	Nombre con que conoce esta variedad	Usos del cultivo	Periodo de cultivo: Siembra-cosecha	Enfermedades o plagas en la milpa	Problemas de almacenamiento	Fertilizante usado	Régimen de cultivo	Comportamiento del cultivo bajo sequía
A4	Noé Jarillo	Ejido de Calabazas, 2ª secc., Agua Blanca	Almacén	30 años	Amarillo	Maíz amarillo	Tortillas y consumo animal	Mayo-noviembre	Nene, soldado		Ninguno	Temporal	Marchitamiento
A5	Otilia Espinoza Lemus	Ranchería de Los Tules, Agua Blanca	Campo	30 años	Amarillo	Maíz amarillo	Consumo humano y animal	Marzo-noviembre	Nene, langosta	Pudrición, gorgojo, palomilla	Abono orgánico	Temporal	Bajo rendimiento, marchitamiento
B19	Irene Vargas Tapia	Los Romeros, Santiago Tulantepec	Almacén	12 años	Blanco	Maíz blanco	Consumo humano y animal	Mayo-diciembre	Chapulín	Gorgojo	Ninguno	Temporal	Bajo rendimiento
B21	Maximiliano Pérez	Ejido milpa Vieja, Agua Blanca	Campo	20	Blanco	Maíz blanco	Consumo humano y animal	Mayo-diciembre	Soldado, Chicharra	Palomilla	Urea	Riego complementario	Doblamiento
N3	Irene Vargas Tapia	Los Romeros, Santiago Tulantepec	Almacén	12 años	Negro	Maíz negro	Consumo humano y animal	Mayo-diciembre	Chapulín	Gorgojo	Ninguno	Temporal	Bajo rendimiento
N6	Froilán Barrera Jardínez	Altepemila, Santiago Tulantepec	Campo	3	Negro	Maíz negro	Consumo humano y animal	Junio-diciembre	Chapulín	Gorgojo	Urea	Temporal	Bajo rendimiento
N7	Cupertino Sosa Cabrera	Ejido de Agua Blanca	Campo	2 años	Negro	Maíz negro	Tortillas y consumo animal	Mayo-diciembre	Lombriz	Gorgojo, palomilla	Urea	Temporal	Menos rendimiento
N8	Otilia Espinoza Lemus	Ranchería de Los Tules, Agua Blanca	Campo	30 años	Negro	Maíz negro	Consumo humano y animal	Marzo-noviembre	Nene, langosta	Pudrición, gorgojo, palomilla	Abono orgánico	Temporal	Bajo rendimiento, marchitamiento
N9	Ponciano Ortiz	Tulancingo de Bravo	Almacén	10 años	Negro	Maíz negro	Tortillas	Junio-diciembre	Nene	Palomilla	Ninguno	Riego	Bajo rendimiento
N10	Teresa Rodríguez	Tortugas, Metepec	Campo	2 años	Negro	Maíz negro	Consumo humano y animal	Julio-diciembre	Chicharita	Nene	Urea	Riego	Marchitamiento

Nota: En el cuadro se le denominó maíz negro al maíz azul debido a que es el nombre con el que los campesinos lo conocen, sin embargo, para la literatura científica y para la industria la denominación correcta es "azul"; por lo que en este estudio se denominaran así.

Foto 1.
Maíz A4



Foto 2.
Maíz A5



Foto 3.
Maíz B19



Foto 4.
Maíz B21



Foto 5.
Maíz N3

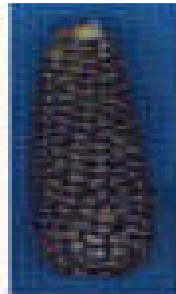


Foto 6.
Maíz N6



Foto 7.
Maíz N7



Foto 8.
Maíz N8

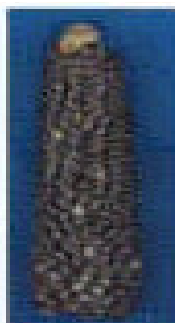


Foto 9.
Maíz N9

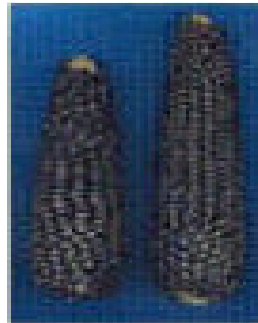
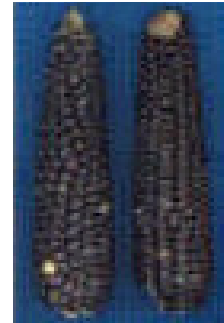


Foto 10.
Maíz N10



Posteriormente se llevó a cabo la determinación del porcentaje de digestibilidad, el contenido de fitatos y el contenido de lisina disponible en las muestras de variedades criollas de maíz (Figura 5). Una vez obtenidos los resultados, estos se integraron en una base de datos que fue analizada en el software SPSS versión 10, cada variable se evaluó por triplicado y para cada una de ellas se realizó el análisis de varianza, una prueba de comparación de medias por Duncan y Dunnet; así como una prueba de correlación.

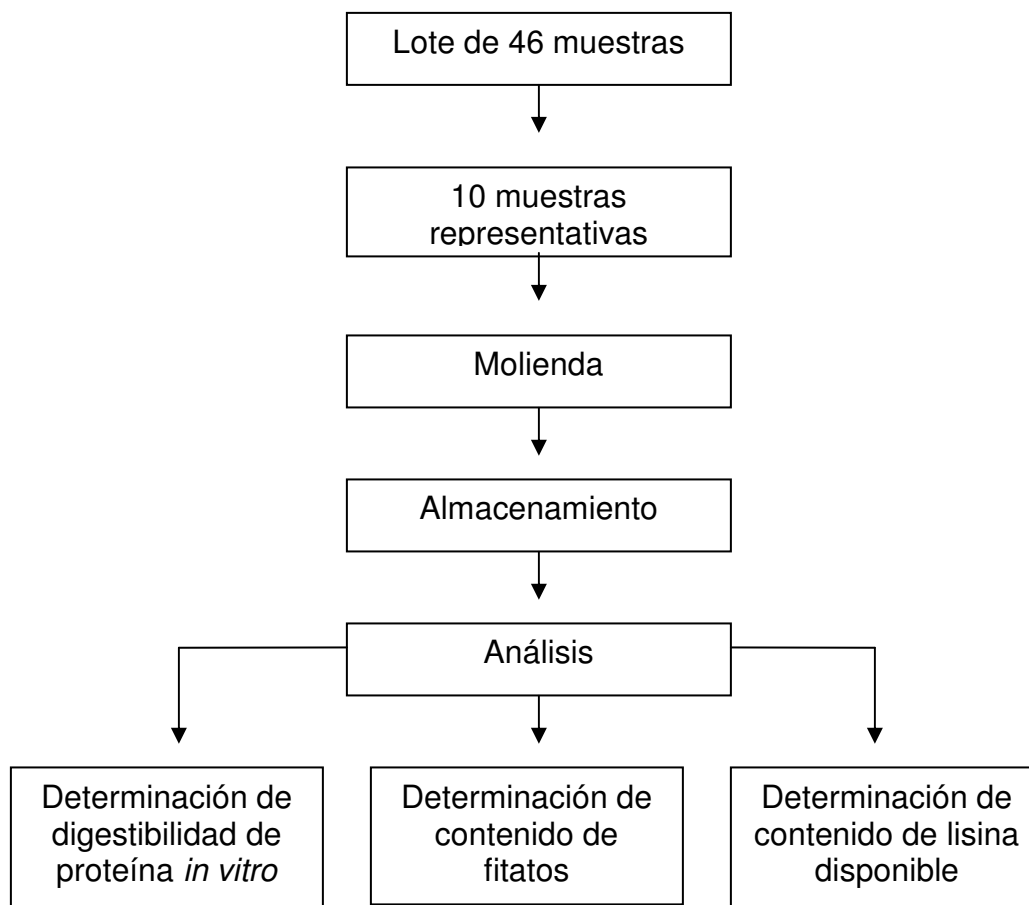


Figura 5. Diagrama del diseño metodológico.

Nota: La marca y el país de origen de los equipos utilizados en las técnicas se indica entre paréntesis después de citarlos. En el caso de los reactivos se indica el laboratorio que lo fabrico.

6.2.1. Técnicas.

6.2.1.1. Técnica multienzimática para estimar la digestibilidad de proteína *in vitro*.

Esta técnica fue tomada de la Asociación Oficial de Analíticos Químicos (AOAC,1998); se basa en crear un medio muy similar al del organismo para que mediante la capacidad que tienen las enzimas digestivas se degraden las proteínas y con ello se pueda determinar la digestibilidad, es decir, la cantidad absorbida de este nutrimento.

Se inició el procedimiento preparando las soluciones enzimáticas. Para la solución enzimática "A" se pesaron en una báscula semianalítica modelo Adventurer (OHAUS, China) 17.29 mg de tripsina de páncreas de porcino (Sigma-Aldrich), 36.4 mg de quimotripsina de páncreas de bovino (Sigma-Aldrich) y 5.09 mg de peptidasa de mucosa intestinal de porcino (Sigma-Aldrich), se colocaron en un vaso de precipitados de 30 mL, posteriormente se disolvieron con 10 mL de agua destilada. Para la solución enzimática "B" se pesaron en una báscula semianalítica modelo Adventurer (OHAUS, China) 11.4 mg de proteasa bacteriana de *Streptomyces griseus*, se colocó en un vaso de precipitados de 30 mL y posteriormente se disolvió con 10 mL de agua destilada (Sigma-Aldrich). Ambas soluciones se almacenaron en hielo hasta el momento en que se utilizaron.

Para el control de caseína se pesaron en una báscula semianalítica modelo Adventurer (OHAUS, China) 10 g de caseinato de sodio (Sigma), que posteriormente se disolvió en 200 mL de agua, se ajustó a un pH de 8 por adición de NaOH 0.275 N y HCl 0.05 N, y se mantuvo así durante 1 hora.

Una vez preparadas las soluciones enzimáticas y el control de caseína se procedió a trabajar con las muestras. Para ello se pesó en promedio 0.7259 g de muestra

finamente molida (esta cantidad contiene aproximadamente 6.25 mg de proteína/mL) en una báscula semianalítica modelo Adventurer (OHAUS, China), la muestra fue colocada en un vaso de precipitados de 30 mL, al que posteriormente se le agregaron 10 mL de agua destilada, dejando hidratar la muestra en refrigeración a una temperatura de 5 °C durante una hora. Transcurrido ese tiempo, se ajustaron las soluciones “A” (tripsina, quimotripsina y peptidasa) y “B” (proteasa bacteriana), así como la muestra a un pH de 8.0 a 37 °C, mediante la adición de NaOH 0.275 N y HCl 0.05 N; para esto también se utilizó un potenciómetro (HANNA Instruments, Italia).

Una vez que la muestra se ajustó al pH y a la temperatura mencionada, se agregó 1 mL de solución “A” y la mezcla resultante se colocó en un baño termoregulado con agitación (VELP SCIENTIFICA, Europa), a los 10 minutos se adicionó 1 mL de solución “B” e inmediatamente, se cambió a un baño de agua a 55 °C (SHEL LAB, USA), donde permaneció 9 minutos; posteriormente, se cambió del baño de agua de 55 °C al de 37 °C donde permaneció sólo 1 minuto, pasado el tiempo se midió el pH del hidrolizado enzimático (Figura 6).

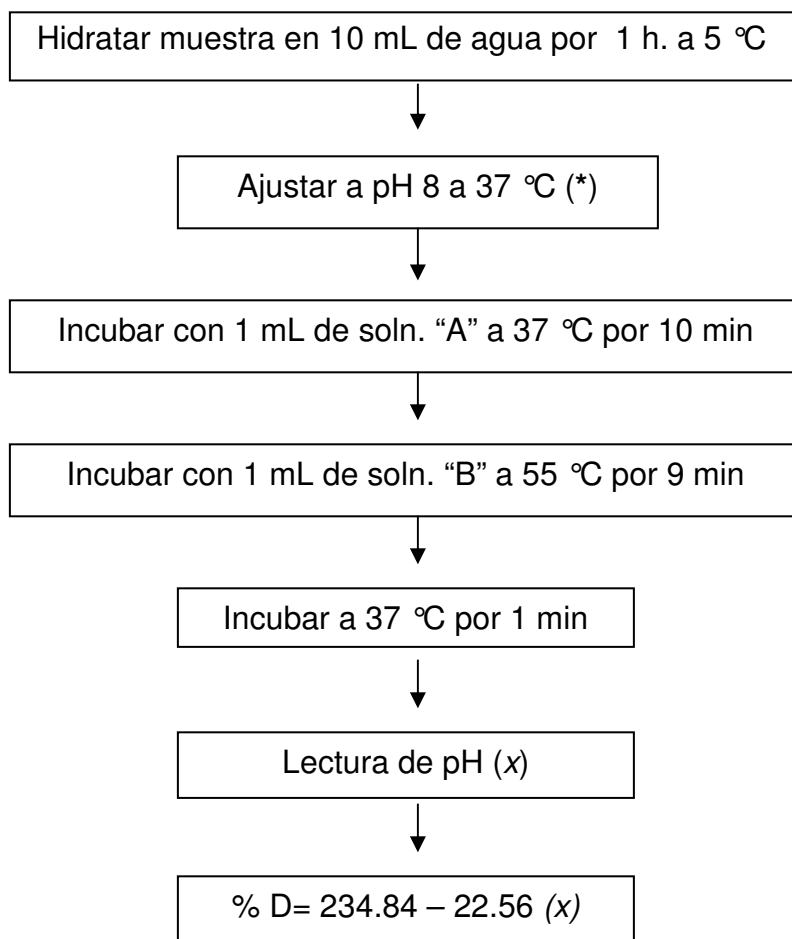
Con cada muestra o conjunto de muestras se realizó un control con caseína, esto para asegurarse que existiera actividad enzimática.

Finalmente, la digestibilidad de proteína *in vitro* de la muestra se calculó por medio de la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de digestibilidad} = 234.84 - 22.56 (x)$$

Donde:

x = lectura de pH, que se obtiene después de 20 minutos de incubación.



* La muestra control de caseína y las soluciones enzimáticas también fueron ajustadas a pH 8 a 37 °C

Figura 6. Diagrama para la determinación de Digestibilidad de Proteína *in vitro*.

6.2.1.2. Determinación de fitatos.

Técnica tomada de los Métodos Oficiales de la AOAC (1998), se basa en extraer los fitatos de la muestra en polvo, usando HCl. El extracto es mezclado con una solución de EDTA/NaOH y colocado en una columna de intercambio aniónico. La muestra es enjuagada con solución de NaCl 0.7 M, posteriormente se digiere en el con una mezcla de concentrado de $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ para liberar fósforo; el cual es medido colorimétricamente.

A continuación se describe la preparación de las soluciones a utilizar.

- HCl al 2.4 %. - Se adicionaron 54 mL de HCl (J.T. Baker) a un matraz volumétrico de 1 L y se aforó con agua desionizada.
- Solución de NaCl (J.T. Baker) al 0.1 M.- En una báscula semianalítica modelo Adventurer (OHAUS, China) se pesaron 5.84 g de sal de NaCl, después se disolvió con 100 mL de agua desionizada en un vaso de precipitados de 250 mL, posteriormente se transfirió a un matraz volumétrico de 1L y se aforó con agua desionizada.
- Solución de NaCl (J.T. Baker) al 0.7 M.- En una báscula semianalítica modelo Adventurer (OHAUS, China) se pesaron 40.9 g de sal de NaCl, se disolvió con 400 mL de agua desionizada en un vaso de precipitados de 500 mL, posteriormente se transfirió a un matraz volumétrico de 1L y se aforó con agua desionizada.
- Solución estándar de fosfato.- Se pesaron 0.350 g fosfato de potasio dibásico (J.T. Baker) en una báscula semianalítica modelo Adventurer (OHAUS, China), después se disolvió con agua desionizada en un vaso de precipitados de 500 mL,

posteriormente se transfirió a un matraz volumétrico de 1 L, se le adicionaron 10 mL de 10 N de H_2SO_4 (J.T. Baker) y se aforó con agua desionizada.

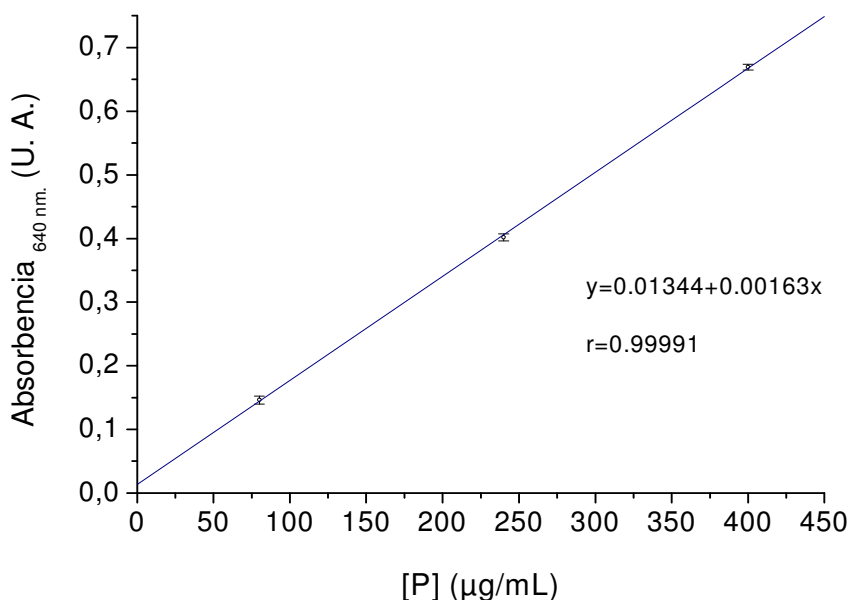
- Solución de molibdato al 2.5 %.- Molibdato de amonio tetrahidrato cristal en 1N de H_2SO_4 .- En una báscula semianalítica modelo Adventurer (OHAUS, China) se pesaron 12.5 g de molibdato de amonio (J.T. Baker), posteriormente se disolvieron con 200 mL de agua desionizada en un vaso de precipitados de 250 mL. Después se transfirió a un matraz volumétrico de 500 mL, se adicionaron 10 N de H_2SO_4 (J.T. Baker) y se aforó con agua desionizada. La solución es estable.
- Ácido sulfónico.- En una báscula semianalítica modelo Adventurer (OHAUS, China) se pesaron 0.16 g de ácido 4-Amino-3-Hidroxi-1 Nephthalenosulfónico (Sigma), 1.92 g de bisulfito de sodio granular (NaSO_3 , J.T. Baker) y 9.60 g de Sulfito de sodio anhidro (Na_2SO_3 , J.T. Baker), se colocaron en un vaso de precipitados de 100 mL y se diluyeron con 80 mL de agua desionizada (se calentó para lograr la disolución), posteriormente se transfirió a un matraz volumétrico de 100 mL y se aforó con agua desionizada. Se almacenó en el refrigerador en un frasco color ámbar, esta solución es estable por una semana.
- $\text{Na}_2\text{EDTA-NaOH}$.- Se pesaron 10.23 g de sal disódica del ácido etilendiaminotetracético - EDTA 0.11 M (J.T. Baker) y 7.5 g de NaOH 0.75 M (J.T. Baker), en una báscula semianalítica modelo Adventurer (OHAUS, China), posteriormente en un vaso de precipitados de 250 mL se disolvieron con 200 mL de agua desionizada, se transfirió a un matraz volumétrico de 250 mL y se aforó con agua desionizada. La solución es estable.

Primero se realizó una curva estándar de fosfato, para ello se tomaron 1, 3 y 5 mL de solución estándar de fosfato, se colocaron dentro de matraces volumétricos de 50 mL, se agregaron aproximadamente 20 mL de agua desionizada y se mezcló,

posteriormente se adicionaron 2 mL de solución de molibdato, se mezcló, se agregó 1 mL de solución de ácido sulfónico, se mezcló nuevamente, se aforó con agua desionizada y se dejó reposar. Pasados 15 minutos se leyó en el espectrofotómetro (modelo UV-1601, SHIMADZU, Japón) a 640 nm (Gráfica 1). En el cuadro 8 se muestran los datos utilizados para la curva estándar, los cuales también son utilizados en la ecuación final para determinar el contenido de fitatos en la muestra.

Cuadro 8. Datos utilizados para la curva estándar de fosfato.

Estándar de P (ml)	mg P	Absorbencia	Concentración/A (K)
1 ml	80	0.1463	546.82
3 ml	240	0.4017	597.46
5 ml	400	0.6694	597.55
Media de K			580.61



Gráfica 1. Curva patrón utilizada para la determinación de fitatos.

Una vez realizada la curva se hizo la determinación como se describe a continuación:

Se pesaron 2 g de muestra y se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 125 mL, se adicionaron 40 mL de HCl al 2.4 %, se cubrió el frasco y se agitó con una barra magnética en una parrilla con agitación (VWR Scientific, E.U.A.) por 3 horas a temperatura ambiente.

Preparación de columnas:

Se pesaron 0.5 gramos de resina de intercambio aniónico (AG1-X4, 100-200 mesh. Bio-Rad) en una báscula semianalítica modelo Adventurer (OHAUS, China), después se colocó dentro de la columna (de 0.7 x 15 cm. Bio-Rad); posteriormente se adicionaron 3 mL de agua desionizada hacia la base de la columna y una vez formada la cama de resina se lavó la columna con 15 mL de NaCl 0.7 M, posteriormente se realizó otro lavado con 15 mL de agua desionizada.

Se quitó la muestra de la agitación y se filtró a través de papel filtro Whatman del número 1 en vasos de precipitados de 50 mL. El extracto de la muestra es estable por una semana en refrigeración.

En un matraz de 25 mL se preparó el blanco mezclando 1 mL de HCl al 2.4 % con 1 mL de Na₂EDTA-NaOH, después se aforó a 25 mL con agua desionizada.

Se colocó 1 mL del filtrado en un matraz volumétrico de 25 mL, se adicionó 1 mL de Na₂EDTA-NaOH, se aforó con agua desionizada a 25 mL, se mezcló y después se transfirió a la columna. Se desechó el eluido.

Posteriormente se enjuagó con 15 mL de agua desionizada, después con 15 mL de NaCl 0.1 M y finalmente con 15 mL de NaCl 0.7 M; se recogió esta última fracción en un tubo de digestión, se adicionaron 0.5 mL de H₂SO₄ concentrado, 3 mL de HNO₃ concentrado y 3 perlas de ebullición.

Nota: Después de la elusión de cada muestra, la columna se lava con 15 mL de agua desionizada. La resina se desplaza por una nueva después de una semana o 3 muestras.

Se digirió en el Kjendahltherm Vap. 50 (Gerhardt, Alemania) sobre calor medio (230 °C) hasta que el hervir activo cesó y la nube de vapor amarillo llenó el cuello del frasco, después se calentó 5 minutos más en el calor medio (230 °C) y 5 minutos en calor bajo (120 °C).

Una vez que el tubo de digestión se enfrió se agregaron 10 mL de agua desionizada y se agitó manualmente, posteriormente, se transfirió la solución a un matraz volumétrico de 50 mL, se agregaron 2 mL de solución de molibdato y 1 mL de ácido sulfónico y se mezcló. Se aforó en el matraz de 50 mL con agua desionizada, se mezcló y se dejó reposar 15 minutos (Figura 7).

Finalmente se leyó la absorbencia a 640 nm y se calculó la concentración de fitatos con la siguiente ecuación:

$$\text{mg de fitato / g de muestra} = \text{media de K} * A * 20 / (0.282 * 1000)$$

Donde:

Media de K = Estándar de P en $\mu\text{g} / A/n$

A = Absorbencia.

n = Número de puntos estándar.

Fitato = 28.2 % P.

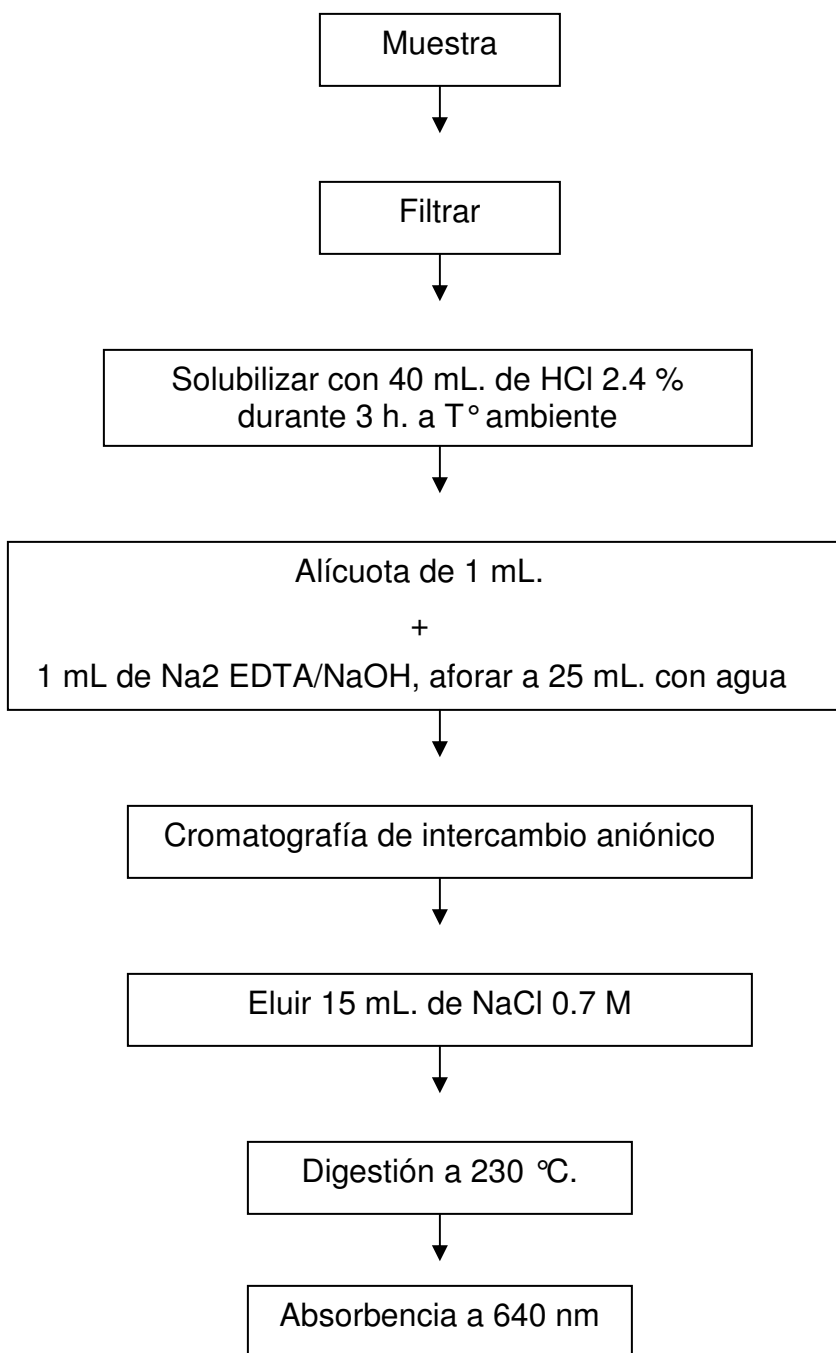


Figura 7. Diagrama para la determinación de Fitatos.

6.2.1.3. Determinación de lisina (Hurrel y col., 1979).

Esta técnica se basa en la cantidad de colorante ligada electrovalentemente con los grupos amino básicos arginina, histidina y lisina, precipitándose la proteína como un complejo colorante-proteína. En la medición A, estos tres aminoácidos se unen al colorante y en la medición B sólo se unen a los aminoácidos arginina e histidina debido a que el anhídrido propiónico inhibe la reacción de la lisina con el colorante; una vez obtenidas las absorbencias de ambas mediciones se realiza una resta para obtener el contenido de lisina disponible.

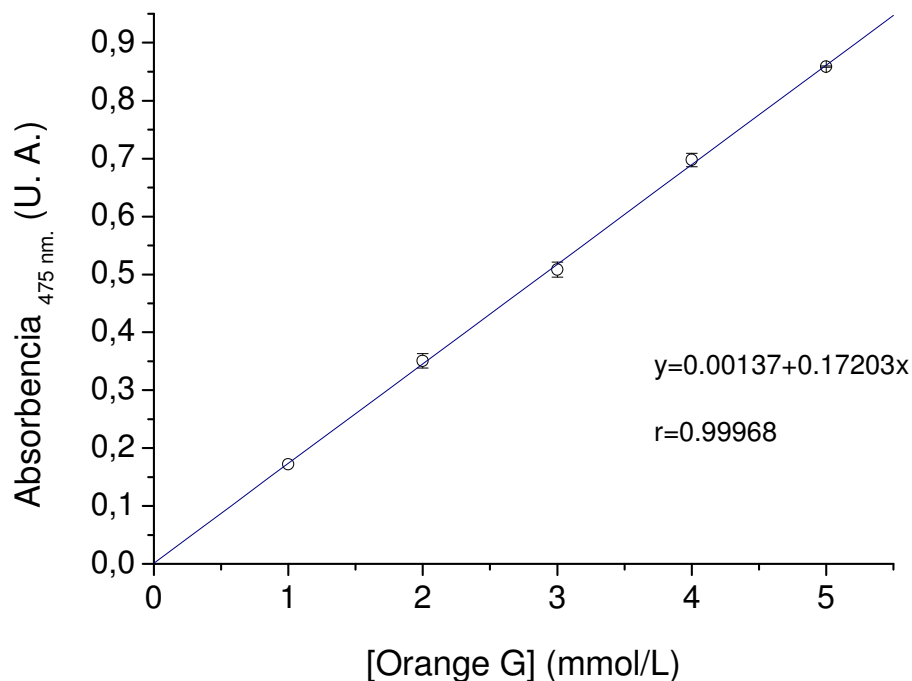
Primero se prepararon las soluciones de trabajo. Para la solución Orange G, se pesaron en una báscula semianalítica modelo Adventurer (OHAUS, China) 1.759 g de colorante Orange G (Sigma- Aldrich), 10 g de ácido oxálico (J.T. Baker), 3.4 g de fosfato de potasio dibásico en polvo (J.T. Baker), se colocaron en un vaso de precipitados de 100 mL, después se disolvieron con 60 mL de ácido acético glacial (J.T. Baker), posteriormente se transfirió a un matraz volumétrico de 1 L y se aforó con agua; se utilizó sonicador (Se prepararon 5 L en total).

También se preparó acetato de sodio al 16.4 %, para ello se pesaron 16.4 g de acetato de sodio trihidrato (J.T. Baker) en una báscula semianalítica modelo Adventurer (OHAUS, China), se diluyó con aproximadamente 400 mL de agua en un vaso de precipitados, se transfirió a un matraz volumétrico de 1 L y se aforó con agua.

Nota: Para la preparación de la solución Orange G es necesario utilizar además de la bata, guantes, lentes de seguridad y la campana de extracción debido a que se desprenden gases de olor muy fuerte y el colorante es considerado cancerígeno, por lo que se recomienda no tener contacto con él.

Se realizó una curva de calibración o curva patrón en el espectrofotómetro (modelo UV-160, SHIMADZU, Japón) a 475 nm con la solución colorante en una

concentración alta, de 5 mmol/L; a partir de esta se hicieron diluciones de 4, 3, 2 y 1 mmol/L (Gráfica 2) y se llevaron a cabo las mediciones.



Gráfica 2. Curva patrón utilizada para la determinación de lisina.

Medición A.

En una báscula semianalítica modelo Adventurer (OHAUS, China) se pesó una cantidad promedio de 1.95 g de muestra finamente molida (mediante bibliografía se estima que contiene aproximadamente 15 mg de lisina, arginina e histidina). Posteriormente se colocó la muestra en un matraz Erlenmeyer con 40 mL de la solución colorante Orange G y 4 mL de la solución de acetato de sodio; se agitó por 75 minutos con una barra magnética en una parrilla con agitación (VWR Scientific, USA). Después de este tiempo, se colocaron 10 mL de cada mezcla de la reacción en un tubo de ensayo y se centrifugaron (en una centrifuga Jouan, Francia) durante

10 minutos a 5, 000 rpm. Posteriormente se tomó un alícuota de 0.1 mL y se aforó con acetato de sodio a 10 mL. Finalmente, se tomó la lectura en el espectrofotómetro (SHIMADZU, Japón) a 475 nm.

Medición B.

En una báscula semianalítica modelo Adventurer (OHAUS, China) Se pesó una cantidad promedio de 2.77 g de muestra finamente (mediante bibliografía se estima que contiene aproximadamente 15 mg de arginina e histidina). Posteriormente se colocó la muestra en un matraz Erlenmeyer, conteniendo 0.4 mL de anhídrido propiónico concentrado y 4 mL de solución saturada de acetato de sodio al 16.4 %, se agitó con una barra magnética en una parrilla con agitación por 15 minutos, después se agregaron 40 mL de solución colorante Orange G al mismo matraz y se agitó por 1 hora más. Una vez llegado el tiempo se tomó una alícuota de 10 mL de la mezcla de reacción y se centrifugó durante 10 minutos a 5, 000 rpm. Finalmente se tomó una alícuota de 1 mL del filtrado, se aforó a 10 mL con acetato de sodio y se leyó en el espectrofotómetro a 475 nm (Figura 8).

Al obtener las lecturas correspondientes de A y B se hizo el cálculo de la concentración de la siguiente manera:

$$\text{Concentración} = a + b (A)$$

Donde:

a = Intercepto.

b = Pendiente.

A = Absorbencia.

Posteriormente se calculó la concentración tanto de A como de B, para ello se realiza una resta entre la concentración inicial del colorante (3.89 mmol/) y la concentración obtenida mediante la ecuación anterior. Después se realiza la conversión de mmol/L a mmol/16 g de N de la siguiente manera:

$$\text{Contenido de Lisina en g de lisina/16 g de N} = \frac{[L] * VO * 1460}{pm * Pm}$$

Donde:

[L] = Concentración de lisina en mmol/L

VO = Volumen de Orange G que se utilizó durante la determinación.

pm = Peso de la muestra en g.

% Pm = Porcentaje de proteína de la muestra.

Una vez realizados los cálculos anteriores el contenido de lisina se obtiene mediante la diferencia de ambas lecturas.

$$\text{Cont. de Lisina en g de lisina/16 g de N} = \text{Lectura de A} - \text{Lectura de B}$$

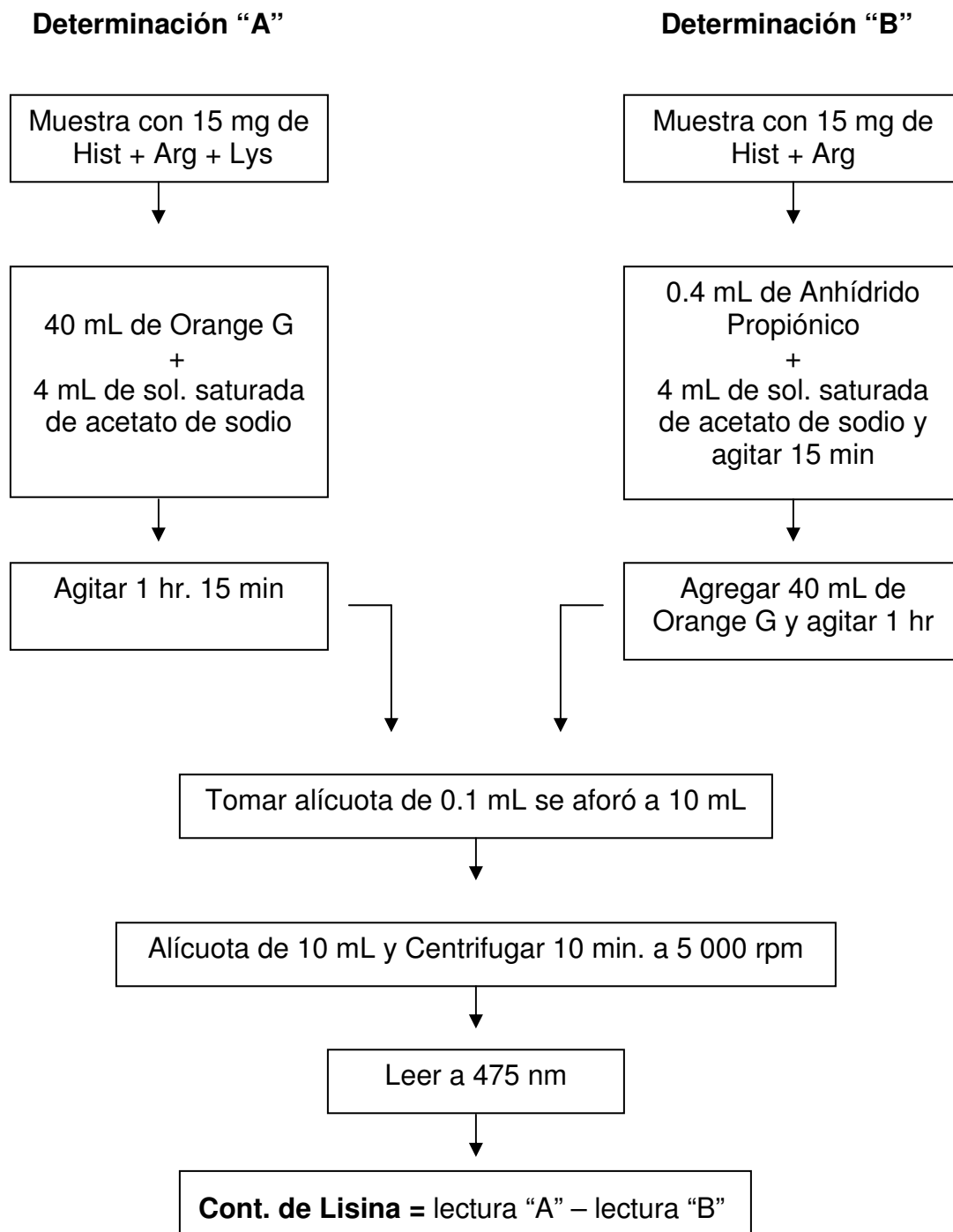


Figura 9. Diagrama para la determinación de Lisina Disponible.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

En las tres variedades de maíz criollo estudiadas se encontró una digestibilidad promedio de 68.61 ± 6.85 %, al realizarse el análisis de comparación múltiple de medias se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre las tres variedades; siendo las variedades amarillas quienes presentaron menor digestibilidad con un promedio de 60.97 ± 1.26 %, en contraste con las variedades de maíz blanco que presentaron un promedio de 73.42 ± 0.82 %, siendo el valor más alto, como se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Porcentaje de digestibilidad, contenido de fitatos y lisina disponible por variedad.

VARIEDAD	DIGESTIBILIDAD (%)‡	FITATOS (mg/g muestra)	LISINA (g de lisina/ 16 g de N)
Amarillo	$60.97 \pm 1.26^a *$	$9.13 \pm 0.42^a *$	0.87 ± 0.43^a
Blanco	$73.42 \pm 0.82^{c*}$	10.48 ± 1.84^{ab}	$0.72 \pm 0.28^a *$
Azul	$72.14 \pm 1.08^b *$	$11.68 \pm 1.86^b *$	$1.11 \pm 0.66^a *$
Promedio	68.61 ± 6.85	10.38 ± 1.28	0.89 ± 0.20

Diferentes letras en la misma columna representan diferencias estadísticamente significativas entre variedades. Duncan ($p < 0.05$).

* Diferencia estadísticamente significativa entre muestras. Dunnett ($p < 0.05$).

‡ Control de caseína = a 99.03 %

Las muestras de las variedades estudiadas presentaron las siguientes digestibilidades: En el caso de las variedades amarillas, se encontró una digestibilidad entre 59.85 y 62.11 %, existiendo diferencias significativas ($p < 0.05$) entre ellas. En cuanto a las variedades de maíz blanco, se encontró una

digestibilidad similar entre las muestras oscilando entre 72.86 y 73.98 %. Para la variedad azul, las muestras presentaron similitudes entre ellas con un promedio de 72.39 ± 0.85 %; la muestra Az7 tuvo un comportamiento diferente 70.90 ± 1.47 , al resto de las del grupo, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre ellas. Cabe mencionar que se obtuvo una digestibilidad promedio de 99.03 % para el control de caseína (Tabla 2).

Tabla 2. Porcentaje de digestibilidad, contenido de fitatos y lisina disponible por muestra.

MUESTRA	DIGESTIBILIDAD (%)‡	FITATOS (mg/g muestra)	LISINA (g de lisina/16 g de N)
A4	$59.85 \pm 0.35^{a*}$	$8.77 \pm 0.12^{a*}$	1.20 ± 0.41^{abc}
A5	$62.11 \pm 0.13^{b*}$	$9.51 \pm 0.12^{ab*}$	0.75 ± 0.39^{ab}
B19	73.98 ± 0.81^g	11.30 ± 2.27^{abc}	0.87 ± 0.37^{ab}
B21	72.86 ± 0.23^f	9.93 ± 1.37^{ab}	0.66 ± 0.14^{ab}
Az3	71.20 ± 0.65^{cd}	13.81 ± 3.47^c	1.75 ± 0.24^{cd}
Az6	72.56 ± 0.35^{ef}	12.11 ± 2.55^{bc}	0.56 ± 0.29^a
Az7	70.90 ± 1.47^c	10.94 ± 1.01^{abc}	1.29 ± 0.61^{bc}
Az8	73.54 ± 0^{fg}	11.44 ± 0.69^{abc}	1.17 ± 0.12^{abc}
Az9	72.03 ± 0.35^{de}	10.74 ± 0.49^{abc}	0.74 ± 0.08^{ab}
Az10	72.63 ± 0^{ef}	11.78 ± 0.07^{abc}	2.20 ± 0.55^d
Promedio	70.17 ± 0.88	11.03 ± 0.36	1.12 ± 0.11

* Diferencia estadísticamente significativa entre muestras de las variedades. Dunnett ($p < 0.05$).

‡ Control de caseína= a 99.03 % **A:** Maíz amarillo; **B:** Maíz blanco; **Az:** Maíz azul.

Diferentes letras en la misma columna representan diferencias estadísticamente significativas entre todas las muestras. Duncan ($p < 0.05$).

Los resultados en cuanto a digestibilidad en las variedades criollas de este estudio fueron similares a los presentados por Hamad y Fields (1979), quienes reportaron una digestibilidad de 67 % en el grano de maíz crudo; también a lo reportado por Mouliswar y col. (1993), quienes realizaron un estudio con diferentes alimentos, entre ellos el maíz, encontrando una digestibilidad de 62 %. Por otro lado Núñez y col. (2001) encontraron valores de digestibilidad *in vitro* de 62.6 a 67.8 en híbridos de maíz de ciclo intermedio. Estos últimos autores, en estudios realizados en maíces híbridos precoces encontraron valores más altos de los reportados, de 67.2 a 73.2 %; estas variaciones presentadas en los maíces precoces y de ciclo intermedio hablan sobre los cambios que se pueden encontrar en este parámetro medido en diferentes periodos de crecimiento. Agudelo y col. (1998) encontraron una digestibilidad de 80.4%; esto debido a que la determinación en ese estudio se realizó en endospermos de maíz, donde se sabe se encuentra el germen y las proteínas de mejor calidad. Lo que se corrobora con el estudio presentado por Cruces y col. (2002) que obtuvieron valores de 49.2 a 58.9 % de digestibilidad en un producto de maíz compuesto principalmente por germen y pericarpio, esto debido a que en el pericarpio se encuentra un menor contenido de proteínas y una mayor cantidad de fibra (FAO, 1993).

Dado que dependiendo de la parte estructural del grano la digestibilidad de la proteína se va a incrementar o disminuir, es por esto que se encuentran diferencias en los valores reportados por los autores antes mencionados y debido a que este estudio se realizó en el grano total, al igual que otros autores se encuentra una digestibilidad baja. Además, la calidad de los granos y las variaciones que pudieran presentarse en los maíces podría ser afectada también por factores genéticos, como la elección del genotipo a sembrar y por factores ambientales, los cuales pueden alterar la cantidad y composición de las proteínas de modo más notorio; estos son principalmente la disponibilidad de N y las altas temperaturas durante el período de llenado de los granos (Cafaro, 2006).

Por otra parte, si se compara la digestibilidad obtenida con alimentos como la leche, el queso y el huevo, los cuales presentan digestibilidades de entre 95 y 97 % la digestibilidad de las variedades criollas de maíz es baja; ya que las proteínas de origen animal contienen cantidades mayores de aminoácidos esenciales, presentando un patrón similar al referido por la FAO (Feldman, 1990; FAO, 1993; Fennema, 2000).

Esta digestibilidad en el maíz puede incrementarse con procesos tecnológicos o biotecnológicos. La fermentación es un proceso que puede mejorar la digestibilidad de los alimentos; Hamad y Fields (1979) reportaron un incremento de la digestibilidad en un 13 % tras fermentaciones a 25 y 37 °C; Yousif y El Tinay (2000) encontraron que tras 1 día de fermentación a 37 °C la digestibilidad de la proteína en maíz se incrementa aproximadamente 20%, esto debido a que las fracciones de globulina y albúmina incrementan significativamente, también se ve incrementada de manera importante la fracción de zeína después de 16 horas de fermentación.

La nixtamalización, que es un proceso muy utilizado para la previa elaboración de la tortilla también ha demostrado efectos sobre el aumento de la digestibilidad, pues se incrementa la disponibilidad de lisina, triptofano, niacina (Badui, 1999), calcio, zinc y hierro (Bressani y col., 2002). Otra opción para aumentar la calidad proteica es complementarlo con alimentos como las leguminosas ya que estas contienen mayor cantidad de proteína y no son deficientes en lisina; o lácteos, que por ser alimentos de origen animal tienen un contenido de aminoácidos similar a lo recomendado por la FAO (Feldman, 1996; Mahan y Escott, 2001).

Con lo que respecta al contenido de fitatos se encontró un promedio de 10.38 ± 1.28 mg/g entre las variedades estudiadas. Entre las variedades de maíz amarillo y blanco se observaron similitudes, este fenómeno de igual forma se presentó entre las variedades blancas y azules; las diferencias significativas ($p < 0.05$) que se presentaron fueron en las variedades amarillas y azules con un contenido menor y

mayor al promedio presentado, 9.13 ± 0.42 y 11.68 ± 1.86 mg/g muestra respectivamente (Tabla 1).

Entre las muestras de las variedades amarillas se encontró un promedio de 9.14 mg/g muestra, presentando diferencias significativas ($p < 0.05$) entre ellas. Por su parte, las muestras de las variedades blancas mostraron similitudes oscilando entre 9.93 ± 1.37 y 11.30 ± 2.27 mg/g muestra. Para las muestras de las variedades azules se encontraron contenidos entre 10.74 ± 0.49 y 13.81 ± 3.47 mg/g muestra; con excepción de la muestra Az3 se presentaron similitudes entre ellas (Tabla 2).

Al realizar comparaciones con otros trabajos se encontró que el contenido promedio de fitatos obtenido se presentó elevado en comparación con los estudios realizados por Bressani y col. (2002), quienes refieren un contenido de 7.29 mg/g muestra, el bajo contenido en el estudio referido puede deberse a que la nixtamalización disminuye el contenido de fitatos, además la determinación fue realizada en maíces híbridos que por ser mejorados contienen menor cantidad de antinutrientes, en este mismo estudio Bressani y col. (2002) encontraron que la cantidad de ácido fítico depende de la fracción del grano de maíz, pues en el germen se encuentra un mayor contenido de estos y en el endospermo el menor. Otros trabajos que han estudiado al ácido fítico y cómo disminuir su acción o su contenido; son los presentados por Türk y col. (1996;) así como por Greiner (2000), en donde para disminuir el contenido de fitato en los alimentos y su efecto sobre la absorción de minerales se ha recurrido a la adición de la enzima fitasa así como a la aplicación de tratamientos hidrotérmicos (Fredlund y col., 1997; Bergman y col., 1999). La germinación y la fermentación son tratamientos que también han demostrado la disminución de ácido fítico en alimentos. Durante la germinación son importantes el tiempo de germinación, la luz y la temperatura, ya que estos van a ser factores determinantes para el contenido de humedad, la que a su vez va a determinar los cambios físicos y químicos en la planta, entre ellos el contenido de fitatos. Por otra parte, durante la fermentación la enzima fitasa proveniente de los microorganismos y de la propia

semilla se activa y reduce los fitatos de manera significativa, de tal manera que no hay posibilidades de interacción con minerales, además este proceso también incrementa el porcentaje de digestibilidad del alimento (Hamad y Fields, 1979; Yadav y Khetarpaul, 1994; Yousif y El Tinay, 2000; Elkhalil y col., 2001; Dávila y col., 2003).

El ácido fítico no sólo ejerce una acción antinutritiva uniéndose a metales como hierro, calcio y zinc evitando su biodisponibilidad en el organismo; sino también se ve implicado de manera positiva en algunos procesos, donde los beneficios son tanto de naturaleza tecnológica para la industria como fisiológica para el consumidor. Se considera un antioxidante natural de la semilla ya que al formar complejos con metales como el Fe^{3+} se evita la lipoperoxidación en el alimento. En productos de la pesca que han sido enlatados, así como en frutas y verduras es utilizado como conservador, evitando la putrefacción al impedir la utilización de hierro por los microorganismos. También se ha demostrado que su capacidad de unión con el zinc, disminuye el cociente zinc/cobre, factor que está relacionado con una disminución del nivel de colesterol y triglicéridos en ratas; por otra parte, también se ha sugerido que su unión con los metales disminuye el riesgo de cáncer de colon y mama, pues al unirse con estos evita la lipoperoxidación, quedando mermada la formación de radicales libres durante la oxidación de los lípidos, que pueden alterar las membranas celulares y estimular la proliferación celular (Martínez y col., 1996). Con lo anterior queda claro que el ácido fítico ejerce efectos negativos y positivos sobre la salud, por lo que se requiere saber con exactitud la cantidad de estos y la conformación química que puede ocasionar alteraciones en la biodisponibilidad mineral y/o producir una disminución de riesgo de cáncer.

En cuanto al contenido de lisina disponible, se encontró un promedio de 0.89 ± 0.20 g de lisina/16 g de N entre las tres variedades estudiadas, presentándose diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las variedades de maíz blanco y azul con un contenido de 0.72 ± 0.28 y 1.11 ± 0.66 g de lisina/16 g de N, respectivamente. Al realizar el

análisis estadístico entre las muestras, se observaron comportamientos similares entre cada grupo, con excepción de la muestra Az3 que tuvo los valores más altos, sin embargo no presentó diferencias significativas con el resto de su grupo (Tablas 1 y 2).

Cruces y col. (2002) reportaron contenidos de lisina disponible de 0.19 a 0.37 g lisina/16 g N en un producto de maíz compuesto por germen y pericarpio, siendo similares a los obtenidos en este trabajo; sin embargo, en comparación con lo reportado por Morales y Gram (1993) quienes encontraron 2.28 g lisina/16 g N para el maíz común y 3.23 g lisina/16 g N para el maíz de alta calidad proteica (MCP) los valores de lisina disponible encontrados en este estudio son muy bajos. La diferencia en el contenido de lisina disponible entre el maíz común y el maíz de alta calidad proteica se debe a que este último ha sido mejorado en cuanto al contenido de aminoácidos esenciales. Por otra parte, el bajo contenido de lisina encontrado en el presente trabajo también podría explicarse a las diferentes técnicas de cultivo, sobre todo a la fertilización que se lleva a cabo en las regiones de cultivo.

Dado que los valores del aminoácido lisina se encuentran por debajo de lo recomendado por la FAO (5.50 g/16g de N), se ha encontrado que el maíz criollo es de baja calidad; sin embargo, estos resultados no pueden ser concluyentes, pues para ello se debe realizar una determinación completa del contenido de aminoácidos. Para aumentar la disponibilidad de lisina en el maíz

Algunos autores han reportado que los procesos de nixtamalización y germinación (El Mahady y El Sebaiy, 1985; Badui, 1999) aumentan la disponibilidad de lisina en el maíz, por lo que pueden utilizarse como una alternativa para mejorar su calidad.

En el análisis de correlación realizado no se encontró relación alguna entre las variables estudiadas, de tal manera que el porcentaje de digestibilidad no depende del contenido de fitatos y tampoco del contenido de lisina (Tabla 3).

Tabla 3. Correlación entre los parámetros estudiados.

	Digestibilidad	Fitatos	Lisina
Digestibilidad	1.000	0.483	0.070
Fitatos	0.483	1.000	0.346
Lisina	0.070	0.346	1.000

* La correlación es significativa en niveles menores a 0.01

Tanto la digestibilidad como la cantidad de lisina son muy limitadas en las variedades de maíz criollo, pero se puede recurrir a procesos como la fermentación para aumentar el porcentaje de digestibilidad; por otro lado tanto la fermentación como la germinación se pueden utilizar para disminuir el contenido de fitatos y aumentar el valor nutritivo del alimento. La nixtamalización, es otro proceso que aumenta valor nutritivo ya que al saturarse el ácido fólico con el calcio, no hay posibilidades de interacción con otros minerales o proteínas y por acción del pH y la temperatura se desnaturalizan las proteínas haciendo que sean un poco más digeribles; durante años este proceso ha sido utilizado entre las comunidades que consumen este alimento en forma de tortilla; sin embargo, los campesinos no saben que es una alternativa para incrementar su valor nutritivo sobre todo si consideramos que los maíces amarillos son los que comúnmente se utilizan para la elaboración de tortillas.

Difundir la información obtenida en este trabajo podría ser la base de estudios posteriores para encontrar alternativas de procesamiento y uso que incrementen su calidad proteica. Una vez que los estudios colaterales realizados con estas mismas variedades demostraron que por sus propiedades reológicas, físicas, térmicas y de rendimiento son de calidad y pueden ser utilizados tanto para molienda como para la elaboración de tortilla se pueden realizar estudios en mezclas de maíz y leguminosas

como haba, frijol, lenteja o soya por ser ricas en lisina. Esto, con el fin de seguir preservando las variedades criollas en el estado de Hidalgo y de obtener una proteína de bajo costo y al alcance de la mayor parte de la población que por situaciones económicas y de infraestructura les es muy difícil consumir alimentos de origen animal.

8. CONCLUSIONES.

- En general, las variedades criollas cosechadas en el estado de Hidalgo, obtuvieron un porcentaje de digestibilidad similar al reportado en otros estudios presentados y menor a otros maíces estudiados, entre ellas los híbridos y maíces mejorados.
- De los maíces criollos estudiados, los maíces amarillos presentaron el menor porcentaje de digestibilidad así como el menor contenido de fitatos.
- Las variedades blancas presentaron el porcentaje de digestibilidad más elevado, sin embargo, el contenido de lisina disponible fue bajo.
- Las variedades de maíz azul presentaron un contenido alto de fitatos y lisina.
- No se encontró correlación entre el porcentaje de digestibilidad, el contenido de lisina y fitatos.
- Las variedades criollas producidas en el Estado de Hidalgo presentan menor porcentaje de digestibilidad y lisina en comparación con lo reportado en variedades híbridas.
- El maíz tiene que ser complementado con algún otro alimento que complete su contenido de aminoácidos esenciales (por ejemplo, las leguminosas) para que aumente su calidad proteica.

9. RECOMENDACIONES.

- Utilizar los resultados del presente trabajo como antecedente para trabajos posteriores con éstas variedades.
- Aumentar la calidad nutrimental de estas variedades recurriendo a procesos como la fermentación; o complementarlo con alimentos como las leguminosas, esto con el fin de proporcionarle a la población un alimento de calidad proteica y bajo costo.
- Encontrar nuevas alternativas de proceso y uso que no impliquen costos elevados.
- Difundir los beneficios de la nixtamalización sobre la calidad proteica de los maíces entre las comunidades que los utilizan.
- Recurrir a procesos hidrotérmicos o a la adición de enzimas como la fitasa. para disminuir el contenido de fitatos y evitar la formación de complejos con minerales como zinc, hierro y manganeso.
- Estudiar la digestibilidad en este mismo alimento una vez que ha sido procesado.
- Estudiar la cantidad de fitatos que puede causar baja disponibilidad de minerales y la cantidad que puede ejercer cierto efecto benéfico previniendo el cáncer de colon y mama.

10. BIBLIOGRAFIA.

Abdel, H. Aminoacid composition and *in vitro* protein digestibility of selected ancient wheats and their end products. *J. Food Comp. Anal.* 2002. 15:737-747.

Agudelo, R.A., Alarcón O.M., Fliedel, G. Efecto de la cocción sobre la digestibilidad proteica del sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). *ALAN.* 1998. 48(1):47-51.

Altieri, M.A. Aspectos socioculturales de la diversidad del maíz nativo. Comisión para la Cooperación Ambiental de América del norte. Consulta en línea: <http://www.cec.org>. Enero, 2006.

Arteaga, J. y Bertorelli, L.O. Evaluación nutricional de la proteína del grano de seis cultivares de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). *Rev. Fac. Agron. (Maracay)*, 1989. 15:213-224. Consulta en línea: <http://www.redpav-fpolar.info.ve/fagro/v1534/1534m040.html>. Febrero, 2006.

Astiasarán, A.I. y Martínez, H.A. Alimentos. Composición y Propiedades. 2^a ed. Edit. Mc Graw Hill-Interamericana. 2000, Madrid, España. p. 139.

AOAC. Official Methods of Analysis of Chemistry International 16 th edition, 1998.

Barampama, Z. y Simard, R.E. Nutrient composition, protein quality and antinutritional factors of some varieties of dry bean (*Phaseolus vulgaris*) grown in Burundi. *Food Chem.* 1993. 47: 159-167.

Badui, D.S. Química de los alimentos. 3^a ed. Edit. Pearson Educacion. 1999, México, D.F. p. 151,170-173.

Bergman, E.L., Fredlund K., Reinikainen P. y A.S. Sandberg. Hydrothermal processing of barley (*cv. Blenheim*): Optimization of phytate degradation and increase of free myo-inositol. *J. Cereal Sci.* 1999; 29(3):261-272.

Bressani, R., Turcios, J.C. y de Ruiz A.S. Nixtamalization effects on the contents of phytic acid, calcium, iron and zinc in the whole grain, endosperm and germ of maize. *Food Sci. Technol. Int.* 2002. 8(2): 81-86.

Cafaro, M.J. Inducción de la senescencia en plantas de trigo y arroz. N° 175. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Licenciatura en Ciencias Biológicas. Universidad de Belgrano. Buenos Aires, Argentina. Consulta en línea: http://www.ub.edu.ar/investigaciones/tesinas/175_cafaro.pdf. Febrero de 2006.

Carnovale, E., Lugaro, E. y Lombardi-Boccia, G. Phytic acid in faba bean and pea: effect on protein availability. *Cereal Chem.* 1988; 65: 114-117.

Challa A., Rao R.D., y Reddy S.B. Interactive supresión of aberrant crypt foci induced by azoxymethane in rat colon by phytic acid and green tea. *Carcinogenesis.* 1997; 18(10): 2023-2026.

Cheryan, M. Phytic acid interactions in food systems. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 1980; 13: 297-305.

CIMMYT, Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. Consulta en línea: <http://www.cimmyt.org>. Enero, 2006.

Cruces, J., González C., Campos J., Melito C. y Tepper R. Análisis químico y digestibilidad *in vitro* de la torta gruesa de maíz hidrolizada tratada con enzimas exógenas. *Rev. Cient.* 2002. XII (2):461-465.

Dávila, M.A., Sangronis, E. y Granito, M. Leguminosas germinadas o fermentadas: alimentos o ingredientes de alimentos funcionales. *ALAN.* 2003. 53(4). Consulta en línea: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=0004-0622&script=sci_serial. Febrero, 2006.

- Desrosier, N.W.** Elementos de Tecnología de Alimentos. 1989. Edit. CECOSA. México. p. 159.
- Deshpande, SS. y Damodaran, S.** Effect of phytate on solubility, activity and conformation of trypsin and chymotrypsin. J. Food Sci. 1989; 54: 695-699.
- Dua, S., Mahajan, A. y Mahajan, A.** Improvement of functional properties of rapeseed (*Brassica campestris* var. *Toria*) preparations by chemical modifications. J. Agric. Food Chem. 1996; 44: 706-710.
- Elkhalil, E.I.A., El Tinay, A.H., Mohamed, B.E. y Elsheikh, E.A.E.** Effect of malt pretreatment on phytic acid and *in vitro* protein digestibility of sorghum flour. Food Chem. 2001. 72(1): 29-32.
- El-Madhy, A.R., El Sebaiy, L.A.,** Proteolytic activity, amino acid composition and protein quality of germinating fenugreek seeds (*Trigonella foenum-graecum* L.). Food Chem. 1985; 18(1): 19-33.
- El Moniem, G.M.** Sensory evaluation and *in vitro* protein digestibility of mung bean as affected by cooking time. J. Sci. Food Agric. 1999; 79: 2025-2028.
- FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.** 1993. Colección FAO: Alimentación y Nutrición, No. 25.
- FAO/OMS/ONU.** Reporte de Requerimientos de Energía y Proteína. 1985. Serie 724.
- FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.** El Maíz Blanco: Un grano alimentario tradicional en los países en desarrollo. Consulta en depósito FAO en línea: <http://www.fao.org>. Septiembre, 2005.

- Feldman, E.B.** Principios de Nutrición clínica. 3^a reimpresión, 1990. Edit. Manual Moderno. México, D.F. p. 10-13.
- Fennema, O.R.** Química de los alimentos. 2^a ed. 2000. Edit. Acribia. Zaragoza, España. p. 471-480.
- Fredlund, K., Asp N.G., Larsson M., Marklinder I. y Sandberg A.S.** Phytate reduction in whole grains of wheat, rye, barley and oats after hydrothermal treatment. *J. Cereal Sci.* 1997. 25(1): 83-91.
- Frossard, E., Bucher, M., Mächler, F., Mozafar, A. y Hurrell, R.** Potential for increasing the content and bioavailability of Fe, Zn, and Ca in plants for human nutrition. *J. Sci. Food Agric.* 2000. 80: 861-879.
- Gómez, R., Figueroa, J.D., Gayosso, M. y Ramírez, E.** Potencial de industrialización de las variedades criollas de maíz cultivadas en el estado de Hidalgo. UAEH. SIZA-CONACYT. 2005.
- Greiner, R., Jany K.D. y Larsson, M.L.** Identification and properties of *myo*-inositol hexakisphosphate phosphohydrolases (phytases) from barley (*Hordeum vulgare*). *J. Cereal Sci.* 2000. 31(2): 127-139.
- Hamad, A. y Fields M.L.** Evaluation of protein quality and available lysine of germination and fermented cereals. *J. Food Sci.* 1979. 44: 456 -459.
- Hurrell, R.F., Lerman, P. y Carpenter, K.J.** Reactive lysine in foodstuffs as measured by a rapid dye-binding procedure. *J. Food Sci.* 1979; 44: 1221-1227, 123.
- Hsu, H.W., Vavak, D.L., Satterlee, L.D. y Millar, G.A.** A multienzyme technique for estimating protein digestibility. *J. Food Sci.* 1977. 42(5): 1269-1273.

INEGI. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Anuario estadístico por entidad federativa 2003, p. 393-398.

INIFAP. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, campo experimental Oaxaca. Desplegable informativo No. 1 y No. 3, Santo Domingo, barrio bajo Etna, Oaxaca. Diciembre de 2004.

INIFAP. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, campo experimental Hidalgo. Entrevista personal con los investigadores Juan Pérez Camarillo y Yolanda Beltrán Vargas. 20 de Enero de 2006.

Jenab, M. y Thompson, U.L. The influence of phytic acid in wheat bran on early biomarkers of colon carcinogenesis. *Carcinogenesis* 1998. 19(6): 1087-1092.

Khokhar, S., Pushpanjali y Fenwick G.R. Phytate content of indian foods and intakes by vegetarian indians of Hisar region, Haryana State. *J. Agric. Food Chem.* 1994. 42: 2440-2444.

Lathia, D.N. y Koch, M. Comparative study of phytic acid content, *in vitro* protein digestibility and amino acid composition of different types of flat breads. *J. Sci. Food Agric.* 1989. 47: 353-364.

Lee, D., Schoroeder, J. y Gordon, D.T. Enhancement of copper bioavailability in the rat by phytic acid. *J. Nutr.* 1988. 118: 712-717.

López, W.H., Leenhardt, F., Coudray, C. y Remesy, C. Minerals and phytic acid interactions: is it a real problem for human nutrition? *Int. J. Food Sci. & Technol.* 2002. 37(7): 727-731.

Lønnerdal, B. Phytic acid-trace element (Zn, Cu, Mn) interactions. *Int. J. Food Sci. & Technol.* 2002. 37(7): 749-753.

- Mahan, K.L., Escott-Stump, S.** Nutrición y dietoterapia de Krause. 10^a ed. 2001. Edit. Mc Graw Hill. México, D.F. p. 63-64.
- Martínez, C., Ros, G., Periago, M.J., López, G., Ortuño, J. y Rincón, F.** El ácido fítico en la alimentación humana. Food Sci. & Technol. Int. 1996. 2:201-209.
- Martínez, D.B., Ibáñez, G.V. y Rincón, L.F.** Acido fítico: aspectos nutricionales e implicaciones analíticas. ALAN. 2002. 52(3). Consulta en línea: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=0004-0622&script=sci_serial. Agosto, 2005.
- Martínez, S.J.** El maíz criollo y su singular biodiversidad. Consulta en línea: <http://www.invdes.com.mx>. Enero, 2006.
- Martínez, S.J.** Maíz, ¿Regalo de dioses o esclavo de mortales? En línea: <http://www.bioplanet.net>. Enero, 2006.
- Mathews, C.K. y Van Holde K.E.** Bioquímica. 2^a ed. 1999. Edit. Mc Graw Hill-Interamericana. Madrid, España. p. 149.
- Minihane, A.M. y Rimbach, G.** Iron absorption and the iron binding and anti-oxidant properties of phytic acid. Int. J. Food Sci. & Technol. 2002. 37(7): 741-753.
- Morales G. M. y Galomo, R.T.** Nixtamalización de maíces de alta calidad proteínica. Desplegable informativo No. 3 del INIFAP, Campo Experimental Oaxaca. 2004.
- Morales, E. y Gram, G.G.** Maíz peruano de alta calidad proteica: Digestibilidad y utilización en niños malnutridos. ALAN. 1993. 43(2): 176-183.
- Mouliswar, P., Kurien, S., Daniel, V.A., Malleshi, N.G. y Venkat Rao, S.** *In vitro* digestibility of protein and starch of energy food and its bulck reduction. J. Food Sci. Technol. 1993. 30(1): 36-39.

Nair, V.C., Laflamme J. y Duvnjak Z. Production of phytase by *Aspergillus ficcum* and reduction of phytic acid content in canola meal. J. Sci. Food Agric. 1991. 54: 355-65.

Núñez, G.H., Faz, R.C, Tovar, M.R.G. y Zavala, A.G. Híbridos de maíz para la producción de forraje con alta digestibilidad en el norte de México. Tec. Pec. Mex. 2001; 39 (2): 77-88.

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

Peter, L. Pellet, Vernon R.Y. Nutritional evaluation of protein foods. Edit. The United Nations University. 1980.p. 15-16, 19-20.

Quevedo, M.H., Cabrales, Q.M., Arceo, A.A. y Nazario, H.L. Composición bioquímica y evaluación de la calidad proteica de la biomasa autotrófica de *chlorella vulgaris*. Rev. Cubana Aliment. Nutr. 1999. 13(2): 123-128. Consulta en línea: http://www.bvs.sld.cu/revistas/ali/vol13_2_99/ali07299.htm. Enero de 2006.

Ramírez, M., Alejandra, O. y Ortiz, B.L. Estudio de algunas características de las proteínas de Canavalia. ALAN. 2000; 50:1. Consulta en línea: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=0004-0622&script=sci_serial. Febrero, 2006.

Ravindran, V., Ravindran, G. y Sivalogan, S. Total and phytate phosphorus contents of various foods and feedstuffs of plant origin. Food Chem. 1994; 50: 133-136.

SAGARPA. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación e INIFAP. Instituto Nacional de Investigación Forestal, Agrícola y Pecuaria. Diagnóstico de Producción de Maíz de Grano en el Distrito de Mixquiahuala. 2003, p. 2, 5,19.

SAGARPA. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación Avance comparativo de siembras y cosechas. Año agrícola 2005. Consulta en línea: <http://www.sagarpa.gob.mx/cgcs/>. Enero, 2006.

Serratos, H. J. La vigilancia del maíz modificado genéticamente. ¿Qué se necesita y cómo podemos manejarlo?. Consulta en línea: <http://pewagbiotech.org-/events/0929/presentations/serratos.pdf>. Enero, 2005.

Shills, M.E., Olson, J.A., Shike, M. y Ross, A.C. Nutrición en Salud y Enfermedad. 9ª ed. Edit. Mc Graw Hill. 2002. México, D.F. p. 13-56.

Thompson, LU. y Serraino, M. Effect of phytic acid reduction on rapeseed protein digestibility and aminoacid absorption. J. Agric. Food Chem. 1986. 34: 468-469.

Thompson, LU. Potential health benefits and problems associated with antinutrients in foods. Food Res. Int. 1993. 26: 131-149.

Türk, M., Carlsson, N.G. y Sandberg, A.N. Reduction in the Levels of Phytate During Wholemeal Bread Making: Effect of Yeast and Wheat Phytases. J. Cereal Sci. 1996. 23(3): 257-264.

UACH. Universidad Autónoma Chapingo y Secretaría de Economía. Valor Agregado del Maíz. 2002, p. 57-62.

Wang, J. Improvement of citric-acid production by *Aspergillus niger* with addition of phytate to beet molasses. Bioresource Technol. 1998. 65: 243-45.

Watson, S.A. Structure and composition. En Corn: chemistry and technology. S.A. Watson y P.E. Ramstad. eds. Am. Assoc. Cereal Chem. 1987; 53-82.

Wellhausen, E.J., Roberts L.M., y E. Hernández, X. en colaboración con Mangelsdorf, P.C. Races of Maize in Mexico: their origin. characteristics and distribution. 1952. Cambridge, Bussey Institution, Harvard University.

Wilkes, H.G. El teocintle en México: Panorama retrospectivo y análisis personal. Consulta en línea: <http://cimmyt.org>. Enero, 2006.

Wolf, M.J., Khoo, V. y Seckinger, H.L. Distribution and subcellular structure of endosperm protein in varieties of ordinary and high-lysine maize. *Cereal Chem.* 1969. 46: 253-263.

Yadav, S. y Khetarpaul, N. Indigenous legume fermentation: Effect on some antinutrients and *in vitro* digestibility of starch and protein. *Food Chem.* 1994. 50(4): 403-406.

Yousif, N.E. y El Tinay, A.H. Effect of fermentation on protein fractions and *in vitro* protein digestibility of maize. *Food Chem.* 2000. 70: 181-184.

Zhou, J.R. y Erdman Jr., J.W. Phytic acid in health and disease. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 1995. 35: 495-508