

Análisis composicional cuanti-cualitativo de los macronutrientes del grano de híbridos de maíz con valor mejorado (VEC) desarrollados para la industria alimentaria argentina

Corcuera VR¹⁻²⁻⁴⁻⁵, Salmoral EM², Pennisi M¹⁻³, Kandus M⁴, Salerno JC⁴

¹ Com. Inv. Científ. Pcia. Bs. As.; ² Grupo de Ingeniería Bioquímica (GIB)-Fac. Ingeniería, UBA. Paseo Colón 850 (1063) CABA; ³ Inst. de Investigaciones Pediátricas Prof. Dr. Fernando E. Viteri, 1900 La Plata. ; ⁴ Inst. de Genética Ewald A. Favret CICVyA-INTA C.C. 25 – 1712 Castelar; Prof. Adj. Ordinario a cargo de la Cátedra de Análisis de los Alimentos, FCS-UNLZ. e-mail= vrcorcuera@gmail.com

Resumen

El objetivo de este trabajo ha sido determinar la calidad química del grano y de las harinas y aceites obtenidos de diferentes híbridos de maíz con valor mejorado. Entre 2012/13 a 2014/15 se condujeron ensayos de campo en el Inst. de Genética E.A. Favret-INTA Castelar y mediante polinización controlada se obtuvieron muestras representativas de grano de doce híbridos experimentales (almidón modificado y de alta calidad proteica). El contenido de aceite (*lípidos*), proteína y almidón del grano entero fue determinado mediante infrarrojo cercano (NIT). En harinas del endosperma del grano se evaluó el contenido de proteína bruta (Kjeldahl) y almidón extraíble (método del fenol-sulfúrico antrona). También se determinó la calidad del almidón, proteínas y aceites mediante análisis de laboratorio húmedo. Los híbridos analizados tienen un contenido proteico de 10,3 a 13,6%; 4,4 a 7,7 % de aceite y 67,1 a 69,8% de almidón. Los resultados de las técnicas analíticas convencionales evidencian que las harinas de endosperma de estos híbridos tienen 9,2% a 12,5% de proteína bruta y un contenido de almidón extraíble variable desde 59,0% a 65,8%. Se halló una relación significativa y negativa entre el nivel de aceite y proteína así como de aceite y almidón. Los híbridos del grupo DR sintetizan hasta 4,3 mg lisina y 1 mg triptófano/100 mg proteína del endosperma. Se detectaron dos híbridos con alto nivel de ácido oleico (HC52 y HC138). La mitad de los materiales estudiados produce granos con 6,0% o más de aceite lo que constituye una alternativa óptima por su aporte calórico y nutricional.

Palabras clave (Keywords)= *Maíz; Lisina; Almidón; Ácidos Grasos; Calidad Proteica.*

Introducción

En el mundo, el mercado de maíces con valor mejorado (VEC) crece a ritmo sostenido e influye cada vez más en las economías regionales porque aportan un mayor beneficio a la industria de la molienda y agroalimentaria entre otras.

El maíz constituye la dieta principal en numerosas regiones del mundo. Sus granos proveen macro y micro nutrientes primordiales para las necesidades metabólicas del ser humano pero el contenido de algunos de ellos resulta insuficiente o desequilibrado para

quienes utilizan este cereal como alimento base. Los granos de maíz son deficitarios en vitaminas B y C así como en hierro y yodo. La zeína es la mayor proteína de reserva del grano y aunque rica en varios aminoácidos es deficiente en lisina y triptófano, por ende es pobre desde una perspectiva nutricional.

La calidad nutricional e integridad de los granos es influenciada por factores genéticos, del medio ambiente, técnicas de cultivo, manejo poscosecha, transporte y por los procesos de transformación empleados por la industria alimentaria. No obstante, el desarrollo de híbridos modernos de alta producción de grano favoreció un mayor contenido de almidón en detrimento de la proteína (Scott *et al.*, 2006), reduciendo aún más su calidad nutricional. En Argentina, desde 1979 se inscribieron 1685 híbridos de maíz (Fuente= Catálogo Nacional del Registro de Variedades, INASE) con destacados atributos de importancia agronómica pero ninguno de ellos sobresale por producir granos con valor mejorado.

La mejora genética contribuyó a incrementar el contenido de los elementos nutricionales del grano y a mejorar su producción por unidad de superficie pero sólo en los últimos años se ha despertado el interés por optimizar los parámetros químicos de calidad del grano porque resulta necesario disponer de materiales genéticos que satisfagan los requerimientos nutricionales y tecnológicos de un mercado cada vez más exigente (Corcuera *et al.*, 2005; Corcuera, 2012, 2013).

La calidad de la materia prima, en este caso los granos de maíz, define la calidad de los productos y subproductos obtenidos en la industria de la transformación. Por consiguiente, aquellas variedades de maíz cuyos granos sobresalen por el alto contenido y/o calidad del almidón, proteína o aceite facilitan una mejor transformación en ingredientes y productos útiles aportando mayor valor agregado al cultivo. El almidón de maíz está presente en decenas de miles de productos, desde los alimentos que consumimos a diario hasta la ropa y productos derivados de la industria cosmética, farmacéutica, química, de adhesivos, papelera, productos de limpieza para el hogar, bebidas espirituosas y no alcohólicas, biopolímeros, biocombustibles, etc.

Mediante la molienda seca se obtienen harinas de maíz pero es conveniente acrecentar la cantidad y calidad de los macro y micro nutrientes para enmendar sus propiedades nutritivas. Esto puede lograrse a través de la fortificación exógena, por ejemplo agregando harina de soja, germen de maíz, pequeñas cantidades de proteínas y micronutrientes (Bressani & Marengo, 1963; Bressani & Elias, 1969; Barbieri & Casiraghi, 1983; Hernández *et al.*, 1999). Sin embargo, la evolución de los paradigmas alimentarios está registrando una demanda de productos más saludables, nutritivos y con menor utilización de aditivos-fortificantes. Por lo tanto, la fortificación endógena también conocida como biofortificación (Nuss & Tanumihardjo, 2010) es el modo más adecuado de optimizar la calidad nutricional del grano de maíz. Esta última vía implica la utilización de alguna de las siguientes estrategias para incrementar el contenido de lisina en el grano= *mejora genética convencional, caracterización de mutantes espontáneos, mutagénesis inducida y producción de plantas transgénicas* (Azevedo *et al.*, 2003; Huang *et al.*, 2006). El desarrollo de estrategias que permitan mejorar el aporte nutricional de las proteínas del endosperma del grano de maíz constituye un objetivo prioritario en muchos países (Gibbon & Larkins, 2005; Kriz, 2009). El valor biológico (PER) de las proteínas de los maíces de alta lisina alcanza el 90%, pero es tan solo del 40% en los maíces convencionales (FAO, 1993; Vivek *et al.*, 2008). En los últimos veinticinco años, utilizando el gen mutante Opaco-2 y seleccionando otros genes modificadores de la dureza del endosperma, el CIMMYT desarrolló sintéticas e híbridos de maíz de alta lisina y endosperma vítreo genéricamente conocidos como maíz QPM

(Pixley & Bjarmason, 1993; Gaziola *et al.*, 1999) que fueron evaluados en varios países de América, Europa, Asia y África. Los resultados demostraron que algunos híbridos son capaces de producir entre 6.000 a 6.600 Kg. de grano/ha y permiten obtener 65 Kg. de harina/100 Kg. de grano siendo muy adecuados para la producción de harina precocida. Estos materiales constituyen una de las estrategias para mitigar la desnutrición en zonas de pobreza y alta desnutrición (Bonilla, 2005; Gordón-Mendoza *et al.*, 2010) y se dispone de mucha información relativa a su utilización en alimentación y nutrición humana (Milán-Carrillo *et al.*, 2004; Alarcón-Valdez *et al.*, 2005). Su consumo está recomendado para prevenir y corregir problemas de desnutrición en grupos de riesgo como lactantes y niños hasta 6 años, madres en gestación, ancianos, inmunosuprimidos, etc. (Villegas *et al.*, 1992; Vietmeyer, 2000; Paliwal, 2001; Vivek *et al.*, 2008). También tienen ventajas comparativas en la alimentación de monogástricos porque mejoran la ganancia diaria en peso (Adams *et al.*, 1994; Sell *et al.*, 1997; Huang *et al.*, 2006).

El aceite de maíz juega un rol importante en la dieta humana porque aporta gran cantidad de energía, ácidos grasos (AG) esenciales y vitamina E. Es un aceite muy digerible que provee 9 Kcal/gramo. La FAO y la OMS recomiendan incorporar un 2 a 4% de la energía total bajo la forma de AG esenciales. Dado que este aceite contribuye con AG poli-insaturados (PUFA), favorece el control de los niveles de colesterol y la disminución de la presión sanguínea.

Los consumidores de maíz tendrían mejor estado nutricional si éste incluyera genes de alta lisina, triptófano y/o de alta amilopeptina. La ingesta de una cucharada diaria de aceite de maíz sería suficiente para satisfacer los requerimientos diarios de AG esenciales de un niño o adulto con buen estado de salud. Una mala nutrición provoca en los niños un crecimiento restringido, menor resistencia a las infecciones y daños al desarrollo intelectual.

Objetivos

El propósito de este trabajo ha sido determinar la calidad química del grano así como de las harinas y aceites obtenidos de diferentes híbridos de maíz con valor mejorado (VEC= *Value Enhanced Corn*).

Materiales y métodos

Material vegetal

Se emplearon granos de maíz (*Zea mays ssp. mayz*) de 4 híbridos simples y 8 híbridos dobles experimentales de maíz que producen granos con almidón modificado (AM) o proteínas de alta calidad y almidón modificado (DR) por acción de los genes mutantes sencillos *Waxy* (*wx*), *Opaco-2* (*o2*) y *Amylose-extender* (*ae*). Estas cruza simples fueron obtenidas mediante técnicas convencionales de mejora genética y por lo tanto son no-OGM. Durante tres años (2012/13 a 2014/15) se condujeron ensayos de campo en el Instituto de Genética E.A. Favret-INTA Castelar y multiplicaron los materiales mediante polinización controlada para evitar contaminación con polen foráneo. De cada híbrido se reservó una muestra de 50 g/año que se mantuvo en heladera a 4 °C. Las muestras de cada año fueron mezcladas y homogeneizadas antes de los análisis.

Análisis químico no destructivo

De cada híbrido se tomó una muestra de 60 g de grano entero y sano. Las muestras se analizaron en un espectrofotómetro de infrarrojo cercano modelo Infratec 1241 Grain

Analyzer (Foss NIR Systems) en el modo de transmitancia (NIT) en el rango de longitudes de onda comprendido entre los 570 a 1050 nm. Esto permitió determinar % agua, % proteína, % aceite y % Hidratos de Carbono. Este método está considerado a escala global como un estándar de referencia para el análisis composicional de macro nutrientes en granos de cereales y oleaginosas.

Análisis químico por vía húmeda

De cada híbrido se tomaron 10 granos, se quitaron el germen y el pericarpio antes de obtener harina del endosperma con un molino tipo Willey provisto de malla de 60 mesh (método AACI 62-20.02). Luego se determinó el contenido de proteína bruta mediante Kjeldahl (método AOAC 2001.11). De cada híbrido, también se trituraron 5 g de semilla con un molinillo provisto con cuchillas de acero. Los granos triturados se desgrasaron mediante Soxhlet (método AACI 30-25.01). Luego, se inhibió la actividad enzimática remojando cada muestra desgrasada en una solución acuosa de NaHSO₃ 5,0 x 10⁻³ M, a 4° C y pH 6, se filtró a través de muselina y el almidón fue separado por decantación. Éste fue sometido a varios lavados con 0,1 N NaCl, 0,1 N NaCl + tolueno; 3 lavados consecutivos con mezclas 1:3, 2:3 y 3:1 de etanol 96: agua. Por último, se lavó con etanol, se dejó secar y se pesó. Esta metodología propuesta por Corcuera *et al.* (2007) permite obtener al final del procedimiento almidón altamente purificado. El contenido de glucosa total (unidades de glucosa) se determinó por el método del fenol-sulfúrico y se realizaron los siguientes cálculos:

$$\text{Almidón Extraíble (ES}^1\text{) \%} = (A \times F \times 1000 \times 1/1000 \times 100/w \times 162/180)$$

A: absorbancia de la muestra contra absorbancia del blanco; **F:** 100 ug de glucosa/ absorbancia de 100 ug de glucosa; **1000:** factor de corrección de volumen; **1/ 1000:** conversión a miligramos; **100/w:** peso porcentual de la muestra; **162/ 180:** conversión de la forma libre de glucosa a su forma anhidra.

¹: por sus siglas en inglés, *Extractable Starch*.

Cuantificación de lisina y triptófano

Se prefirió el modo de cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa (rp-HPLC) por ser el método más utilizado para la separación y determinación de aminoácidos libres. De cada híbrido se obtuvo harina del endosperma mediante un molino tipo Willey con malla de 100 mesh (método AACI 62-20.02). Se hidrolizaron las proteínas de las harinas para obtener el perfil de lisina y triptófano. Al momento de la separación cromatográfica, las muestras fueron retiradas del refrigerador y filtradas a través de un filtro Millex LCR-13 de Millipore. A cada muestra se le adicionaron 10 ml del estándar interno AABA (snc. 2.5 mM ácido α-amino-butírico) y el buffer borato correspondiente. Cada muestra fue tratada en precolumna con buffer AccQ-Tag y el reactivo de derivatización AccQ-Fluor. Se utilizó un cromatógrafo Shimadzu Prominence LGE-UV equipado con bomba cuaternaria, columna Hypersil C18, desgasificador en línea, detector UV-vis y detector de fluorescencia. Los resultados fueron expresados en concentración de aminoácidos sobre proteína (mg aminoácido/100 mg proteína de endosperma).

Determinación de la calidad del almidón

Se tomó 1 gramo de harina de granos secos y desengrasada, se suspendió en 4 volúmenes de una solución al 3% de HgCl₂, pH 7 a 28°C y se agitó durante una hora (Curá & Krisman, 1990; Corcuera *et al.*, 2007). La suspensión resultante fue centrifugada a 5.000 x g durante 15 minutos. Se separó el sedimento y éste se

resuspendió en una mezcla 1:7 de 1-butanol: agua que luego fue autoclavada durante 3 hs a una atmósfera de presión y 110°C (Schoch & Maywald, 1956) modificado por Curá y Krisman (1990) y con purificación adicional mediante cromatografía de filtración en Biogel P6 Amersham Biotech (100-200 mesh) en una columna de 10 cm x 0,8 cm de diámetro con buffer piridina-acetato 0,1M (Corcuera *et al.*, 2007) para fraccionar el almidón. Las concentraciones de amilosa y amilopectina fueron controladas con el reactivo de yodo y la absorbancia (λ_{max}) de los complejos coloreados se determinó con un espectrofotómetro Shimadzu UV-240 Graphicord.

Determinación del perfil de ácidos grasos

De cada híbrido se separaron 10 granos representativos y se les extrajo el germen para obtener la grasa cruda mediante la técnica propuesta por Folch en 1957. La grasa cruda fue utilizada como materia prima del análisis de ácidos grasos mediante cromatografía gaseosa. Se empleó un cromatógrafo Hewlett Packard 6890 provisto con una columna capilar Chrompack CP SIL 88. Las condiciones de análisis fueron: 1- temperatura inicial: 185° C durante 3 minutos; 2-Rampa de calentamiento a razón de 3 grados por minuto hasta alcanzar los 230 grados y 3-Mantenimiento de la temperatura de 230 grados durante 25 minutos. El perfil de AG de cada muestra se obtuvo comparando los tiempos de retención relativos de cada uno de ellos respecto de estándares comerciales (NuCheck prep.) analizados previamente en la misma columna. Los contenidos de AG fueron promediados a partir de los valores correspondientes a tres lecturas y expresados en g /100 g del contenido de grasa total.

Resultados y discusión

Análisis químico no destructivo

En la Tabla 1 se presentan los resultados del análisis por infrarrojo cercano (NIT) correspondiente a los materiales ensayados y multiplicados a campo durante tres años. Los híbridos estudiados presentaron 12,5 a 14,8% de humedad; 10,3 a 13,6% de proteína; 4,4 a 7,7% de aceite; 67,1 a 69,8% de carbohidratos y una densidad variable entre 1,243 a 1,327 g/cm³. El valor medio de contenido proteico (13,6%) superó en un 43,1% al promedio de 9,5% indicado por ILSI Argentina (2006) para materiales cultivados en nuestro país. Asimismo, el contenido proteico medio del grano de estos nuevos materiales difiere significativamente del valor de 11,5% publicado por MAIZAR (Asociación Maíz Argentino) para híbridos convencionales producidos en Argentina y debe destacarse que el 58% de los híbridos HC analizados superó notoriamente ese valor. Los híbridos HC59, HC138, HC82, HC67, HC74, HC92 y HC98 (Figura 1) se destacan en orden decreciente por el alto nivel proteico de sus granos.

El aceite se encuentra mayoritariamente en el germen en un nivel comprendido entre 3,0 – 5,0%. Según la Corn Refiners Association (2006) el contenido medio de aceite es 4,3% con un intervalo comprendido entre 3,1 a 5,7%. Datos publicados por ILSI (2006) ubican el rango mundial para el contenido de aceite del maíz entre 1,7 a 5,6% mientras que en Argentina los valores oscilan entre 2,7 a 5,6%. En cambio, MAIZAR reportó que el contenido de aceite de híbridos de maíz comerciales muestreados en la Zona Maicera Tradicional y sudeste de la provincia de Buenos Aires (campaña 2004/05) está comprendido dentro del intervalo de 3,9 a 6,2%. Por lo tanto, al observar los valores incluidos en la Tabla 1 y siguiendo el criterio fijado por el U.S. Grain Council (1999) de considerar únicamente como maíz de alto aceite (HOC) a los

materiales con 6% o más puede considerarse a los híbridos experimentales HC52, HC69, HC98, HC49, HC81 y HC59 como tales y en orden decreciente.

El contenido de almidón determinado mediante la tecnología NIT en estos maíces fluctuó en el rango de 67,1 a 69,8% especial. Estos valores resultan similares a los publicados por Hourquescos *et al.* (1999) y también al valor de referencia publicado por Paulsen *et al.* (2003), correspondiendo los mayores valores a los híbridos HC138 y HC81.

El contenido de aceite, proteína y almidón son características que pueden estar correlacionadas (Dudley & Lambert, 2004; Narváez-González *et al.*, 2007). Al analizar los datos obtenidos mediante NIT se observó una correlación estadística negativa y significativa entre los niveles de aceite y almidón ($r = -0,47$; $\pm t = 2,7$; $p \geq 0,025$) tal como indicó Wassom *et al.* (2008) y a diferencia de lo reportado por Panthee *et al.* (2005), Soderlund & Owens (2006) y Saleem *et al.* (2008). También se halló una correlación negativa y significativa entre los niveles de proteína y aceite ($r = -0,64$; $\pm t = 2,6$; $p \geq 0,025$) que dificulta mejorar ambos caracteres simultáneamente y ello coincide con los resultados publicados por Song *et al.* (1999), Panthee *et al.* (2005) y Saleem *et al.* (2008) aunque no con otros reportados por Mittelman *et al.* (2003) y Coutiño Estrada *et al.* (2008). El análisis de los resultados obtenidos evidenció una asociación negativa pero no significativa entre el contenido de proteína y almidón del grano ($r = -0,11$; $\pm t = 0,3$; *n.s.*) de manera opuesta a lo publicado por Soderlund & Owens (2006) o Idikut *et al.* (2009). Una asociación estrecha pero de sentido negativo entre el contenido de dos macro nutrientes dificulta mejorar genéticamente la concentración de los mismos al mismo tiempo.

Se halló una asociación significativa y negativa entre la densidad del grano y el contenido de aceite ($r = -0,63$; $\pm t = 2,6$; $p \geq 0,025$), una asociación estrecha aunque de signo positivo entre densidad y concentración de proteína ($r = 0,55$; $\pm t = 2,1$; $p \geq 0,025$) y ausencia de correlación entre el contenido de almidón y la densidad del grano ($r = 0,094$; $\pm t = 0,3$; *n.s.*). La densidad de los granos de los híbridos pertenecientes al grupo AM varió entre 1,243 y 1,314 g/cm³ con una media de 1,286 g/cm³. En cambio, los granos producidos por los materiales del grupo DR tienen una densidad comprendida entre 1,262 a 1,327 g/cm³ y su valor medio es 1,307 g/cm³. Se halló una diferencia estadística significativa para este parámetro entre ambos grupos de materiales ($\pm t = 1,38$; $p \geq 0,1$).

La calidad del grano de maíz es un “*atributo integrador*” que refleja su constitución química, variable en términos de contenido y/o calidad de proteínas, almidón o aceite y también determina la textura, el valor nutricional y las propiedades tecnológicas. En este sentido, los resultados sugieren que los granos que sintetizan mayor cantidad de proteína resultan con mayor peso específico.

Tabla 1. Análisis composicional de los granos mediante análisis químico no destructivo.

HIBRIDO	TIPO	Análisis Infrarrojo Cercano por transmitancia - NIT				
		% H2O	% PROT ¹	% ACEITE ¹	% H de C. ¹	DENSIDAD ²
HC49	AM	14,1	10,6	6,2	69,1	1,280
HC52	AM	14,8	10,4	7,7	67,1	1,243
HC59	DR	13,0	13,6	6,0	67,4	1,323
HC67	DR	14,4	12,3	5,1	68,2	1,290
HC69	DR	12,7	11,8	6,4	69,1	1,262
HC74	DR	14,3	12,2	5,5	68,0	1,321
HC81	AM	14,3	10,3	6,1	69,3	1,314
HC82	DR	13,9	12,8	5,7	67,6	1,327
HC91	DR	13,0	12,0	5,8	69,2	1,319
HC92	DR	13,4	12,2	5,8	68,6	1,308
HC98	AM	13,1	12,2	6,3	68,4	1,288
HC138	AM	12,5	13,3	4,4	69,8	1,307

¹= s.b.h.; ²= g/cm³; ³= s.s.s

Análisis químico por vía húmeda

En la Tabla 2 se presentan los valores medios porcentuales de proteína bruta y almidón extraíble (ES= *Extractable Starch*) obtenidos mediante técnicas analíticas convencionales en el laboratorio húmedo. El contenido de proteína bruta determinado mediante Kjeldahl en harinas de endosperma resultó inferior en un valor cercano al 1% en comparación con el valor obtenido vía NIT a partir de grano entero. Esa diferencia radica en la distribución de las proteínas en el grano de maíz (Soderlund y Owens, 2006; Eckhoff & Watson, 2009).

Los resultados incluidos en las Tablas 1 y 2 evidencian asimismo que el contenido de almidón determinado por el método del fenol-sulfúrico resultó en promedio un 5,9% inferior al establecido mediante espectroscopia de infrarrojo cercano (62,9 vs. 68,5% respectivamente). Esta diferencia puede deberse, en parte, a que la tecnología NIR/NIT presenta dificultades para el análisis de carbohidratos no estructurales (CNES) cuya composición es similar a la de los carbohidratos estructurales (CES) (Hall, 2007) y en consecuencia no es posible cuantificarlos con precisión absoluta mediante esta técnica (Vásquez *et al.*, 2004). Anteriormente, Orman & Schumann (1991) ya habían señalado que la espectroscopia de infrarrojo cercano es más precisa para determinar el contenido de las proteínas que el de aceite y almidón de los granos. Adicionalmente, debe considerarse que el espectrofotómetro de infrarrojo cercano se calibra según el método A-20 de CRA (*Corn Refiners Association*, USA) y en estos estudios el contenido porcentual del almidón se determinó a partir de las unidades de glucosa obtenidas por hidrólisis de la amilosa y amilopectina. La falta de coincidencia entre esta metodología con la técnica utilizada para calibrar el equipo de infrarrojo cercano puede haber contribuido en parte a la disparidad de resultados. En base a esto, se sugiere que el espectrofotómetro de infrarrojo cercano ha permitido determinar el contenido de carbohidratos y no la cantidad de almidón que puede recuperarse del grano (*almidón extraíble*).

Tabla 2. Resultados del análisis composicional del grano mediante técnicas convencionales de laboratorio húmedo.

HIBRIDO	TIPO	Análisis Convencional *	
		% PROT*	% ES*
HC49	AM	9,4	62,2
HC52	AM	9,5	59,0
HC59	DR	12,5	62,1
HC67	DR	11,3	63,6
HC69	DR	10,6	60,1
HC74	DR	11,9	61,7
HC81	AM	9,2	64,5
HC82	DR	12,0	62,3
HC91	DR	10,9	62,7
HC92	DR	11,7	64,5
HC98	AM	11,3	62,2
HC138	AM	12,1	65,8

*= S.S.S.

HC69



HC98



HC74



Figura 1. Espigas de híbridos simples y dobles de los híbridos analizados.

Quantificación de lisina y triptófano

Los resultados de rp-HPLC revelaron que los híbridos experimentales HC poseen 1,5-4,3 mg lisina/100 mg proteína y 0,3-1,0 mg triptófano/100 mg proteína del endosperma, siendo estos valores similares a los encontrados por otros autores en maíces argentinos o de otros orígenes (Azevedo *et al.*, 2003; Krivanek *et al.*, 2007; Pereira *et al.*, 2008). Los híbridos experimentales HC incluidos en el grupo DR se destacan por la alta calidad de sus proteínas (lisina= 3,1 a 4,3 mg/100 mg proteína y triptófano= 0,6 a 1,0 mg/100 mg proteína). Los híbridos HC dobles mutantes (DR) difieren significativamente de los de almidón modificado (AM) por su contenido de lisina ($\pm t= 9,7$; $p \geq 0,01$) y también por su concentración de triptófano ($\pm t= 8,1$; $p \geq 0,01$). El rango hallado para contenido de lisina y triptófano en los materiales del grupo DR sugiere que el fondo genético influye sobre la concentración de estos aminoácidos en el grano. Los resultados alcanzados

evidencian que el contenido de lisina y triptófano de los maíces de alta calidad duplica o puede incluso triplicar el correspondiente a materiales convencionales (Tabla 3).

Determinación de la calidad del almidón

En relación a la calidad del almidón, los resultados presentados en la Tabla 3 indican que los híbridos analizados tienen 72,3% (HC138) a 100,0% (HC52, HC67 y HC82) de amilopectina, diferenciándose fuertemente entre sí por la concentración de la misma y también de la amilosa (ANAVA, F_{12-38} : 1161,8 y F_{12-38} : 1161,1; $p \leq 0,0001$). Se observó un patrón típico para ambos polímeros con picos de absorbancia (λ_{max}) de 520 a 635 nm para la amilosa y 484 a 526 nm para la amilopectina. Los espectros de absorción mostraron de modo constante un punto de inflexión (*shoulder*) en 398 nm para la amilopectina y 410 nm para la amilosa. El híbrido HC69, con endosperma homocigota recesivo para el locus *waxy*, tiene 2,5% de amilosa y su almidón entero en presencia del reactivo de Krisman dio una coloración orquídea o violeta pálido lo que sugiere la presencia de tres dosis del alelo *wx^a* descubierto en materiales argentinos en el año 1947 por Andres & Bascialli y también estudiado por Mc Clintock (1948) y Sager (1951). Aunque la supuesta amilosa de este híbrido se colorea de azul claro, su reducido λ_{max} (520–530 nm) pone en duda su naturaleza sugiriendo que puede tratarse de una forma ramificada del homopolímero y con cadenas de menor longitud como señalaron Curá *et al.* (1995) y Wang *et al.* (1998). Los híbridos portadores de alelos recesivos de los genes *Waxy* y *Amylose-extender* y cuyos granos expresan genotipo *wxwxwxaeeae* (HC49 y HC138) tienen un almidón constituido por 80,7 y 77,3% de amilopectina.

Tabla 3. Calidad de las proteínas y del almidón de los híbridos experimentales HC.

HIBRIDO	CALIDAD DE PROTEÍNA		CALIDAD DE ALMIDÓN	
	lisina *	triptófano *	%amilosa	%amilopect.
HC 49	2,0	0,3	19,3	80,7
HC 52	1,5	0,3	0,0	100,0
HC59	3,1	0,6	0,2	99,8
HC67	3,8	0,9	0,0	100,0
HC69	3,3	0,8	2,2	97,8
HC74	4,0	1,0	0,5	99,5
HC81	1,8	0,4	0,8	99,2
HC82	3,9	1,0	0,0	100,0
HC91	4,1	0,8	0,4	99,6
HC92	4,3	1,0	0,1	99,9
HC98	2,2	0,3	0,3	99,7
HC138	1,9	0,4	22,7	77,3

*= mg aa/100 mg proteína del endosperma

Determinación del perfil de ácidos grasos

Los resultados del análisis del perfil ácido de estas cruza simples y dobles se resume en las Tablas 4 y 5. El contenido de ácido palmítico varió desde 9,2% (HC59) a 16,4% (HC52) mientras que el nivel de esteárico fluctuó entre 1,2% (HC69) y 2,5% (HC59) coincidiendo con valores publicados por Eyherabide *et al.* (2005), ILSI Argentina (2006)

y Saleem *et al.* (2008). El nivel de ácido palmítico resultó menor al indicado por SAGPyA y ASAGA y el de esteárico ligeramente superior. Las cruces HC tienen un nivel de AG insaturados similar al reportado por la SAGPyA, ASAGA e ILSI Argentina (2006) (ver Tabla 4). El ANAVA reveló diferencias entre genotipos altamente significativas ($p \leq 0,01$) debidas a los AG saturados e insaturados. Se halló una correlación negativa y altamente significativa entre el contenido de ácido oleico y linolénico ($r = -0,92$; $p \leq 0,01$) y en este sentido los resultados coinciden con Lambert (2000) y Wassom *et al.* (2008). En estos materiales no se halló una asociación estadística significativa entre el nivel de ácido oleico o linoleico y el contenido de aceite ($r = 0,17$ y $r = -0,08$ respectivamente) a diferencia de lo comunicado por Wassom *et al.* (2008).

Los híbridos HC138 y HC52 presentan el mayor contenido de ácido oleico (45,2% y 50,3%, respectivamente) y el último híbrido tiene además un elevado contenido de aceite (6,5%). Estos resultados permiten considerar a ambos híbridos como *maíz alto oleico* y además ambos producen almidón modificado. La genética y el medio ambiente son los dos factores principales que afectan el perfil de ácidos grasos del aceite de maíz. Izquierdo (2007) así como Alezones *et al.* (2010) señalaron que el aceite producido en zonas cálidas posee mayor contenido de ácido oleico que el obtenido en zonas de clima más fresco. En un sentido similar se expresaron Eyherabide *et al.* (2005) quienes señalaron que los maíces producidos en Argentina tienen un contenido de ácido oleico significativamente superior al de aquellos producidos en el medio oeste norteamericano. Sin embargo, para poder competir exitosamente con los aceites comerciales de alto oleico obtenidos a partir de cártamo, girasol, soja o colza sería conveniente incrementar por lo menos en un 15% la concentración de oleico lograda en HC138.

Los ácidos linoleico y linolénico poseen propiedades antiartríticas, antiescleróticas, anti-inflamatorias e hipocolesterolímicas. Para un correcto funcionamiento del organismo es deseable que la relación $\Omega 6/\Omega 3$ sea de 4:1 pero en maíz y otros aceites vegetales de importancia dicha razón aparece muy desequilibrada (Olivera Carrión, 2006). En los híbridos estudiados esa relación está sumamente alterada ($\text{rango} = 40,9 - 107,7$) y podría derivar en enfermedad coronaria, diabetes, o depresión en caso de que sólo se consumiere aceite de maíz (Olivera Carrión, 2006). Sin embargo, la alta concentración de PUFA's (*linoleico* y *linolénico*) favorecería la reducción de la concentración sérica de colesterol y de la presión sanguínea, aunque no en igual proporción que la ingesta de ácido oleico según afirman numerosos estudios clínicos. La relación normal entre ácidos grasos insaturados y saturados del aceite de maíz es de 6,7 (*Fuente*=<http://www.scientificpsychic.com/fitness/fattyacids1.html>) y los híbridos estudiados presentan para ese radio un valor medio de 5,6 ($\text{rango} = 4,3-7,7$) (Tabla 5). Este valor, inferior al normal puede atribuirse a la baja concentración de ácido linoleico hallada en los híbridos HC 52 y HC 138 sumados a una mayor concentración de palmítico en ambos.

Las grasas y aceites que tienen un valor de índice P/S (*poli-insaturados/saturados*) superior a 1 resultan de gran valor nutricional. Numerosos estudios demuestran que a mayor valor del índice P/S resulta menor la deposición de lípidos en el cuerpo (Lawton *et al.*, 2000). Todos los aceites extraídos de los híbridos ensayados presentan un índice P/S superior a 1 ($\text{rango} = 1,6 - 4,5$). Los resultados incluidos en la Tabla 5 sugieren que los materiales analizados serían beneficiosos para consumo humano en este sentido.

Tabla 4. Perfil de ácidos grasos de los materiales HC analizados.

HIBRIDO	% AG SATURADOS		% AG INSATURADOS		
	Palmítico	Estearico	Ω9-oleico	Ω6-linoleico	Ω3-linolénic
HC 49	12,3	1,7	31,1	51,2	0,6
HC 52	16,4	1,9	50,3	28,6	0,7
HC59	9,2	2,5	38,3	47,6	0,8
HC67	16,0	2,0	35,8	47,3	0,8
HC69	10,0	1,2	36,4	49,2	0,6
HC74	12,4	1,8	36,0	43,1	0,8
HC81	14,2	2,0	31,2	51,9	0,5
HC82	11,3	1,6	40,1	42,6	0,9
HC91	15,9	1,7	32,4	51,8	0,6
HC92	16,4	2,1	26,0	54,7	0,7
HC98	12,9	1,8	33,7	49,7	0,7
HC138	14,7	2,2	45,2	32,3	0,3

Tabla 5. Parámetros de calidad de los AG presentes en los híbridos HC.

HIBRIDO	∑ Saturados	∑ Insaturados	∑ PUFA	Insat:Sat	RADIO Ω6/Ω3	ÍNDICE P/S
HC 49	14,0	82,9	51,8	5,9	85,3	3,7
HC 52	18,3	79,6	29,3	4,3	40,9	1,6
HC59	11,7	86,7	48,4	7,4	59,5	4,1
HC67	18,0	83,9	48,1	4,7	59,1	2,7
HC69	11,2	86,2	49,8	7,7	82,0	4,5
HC74	14,2	79,9	43,9	5,6	53,9	3,1
HC81	16,2	83,6	52,4	5,2	103,8	3,2
HC82	12,9	83,6	43,5	6,5	47,3	3,4
HC91	17,6	84,8	52,4	4,8	86,3	3,0
HC92	18,5	81,4	55,4	4,4	78,1	3,0
HC98	14,7	84,1	50,4	5,7	71,0	3,4
HC138	16,9	77,8	32,6	4,6	107,7	1,9

Conclusiones

Los híbridos HC59 y HC98 se destacan por su contenido de proteína y aceite. En cambio, el híbrido HC52 sobresale por su capacidad de sintetizar hasta un 7,7% de aceite con 50,2% de ácido oleico. El híbrido HC138 también sintetiza un nivel destacable de ácido oleico (45,2%). Estos últimos dos híbridos sintetizan almidón de características especiales por acción de los genes *waxy* y/o *amylose-extender*. La posibilidad de disponer de estas materias primas caracterizadas por un alto valor nutricional permitirá desarrollar una diversidad de productos de alto valor agregado destinados a la alimentación humana y animal así como a diferentes industrias.

Bibliografía

Adams MH, Watkins SE, Waldroup AL, Waldroup PW. (1994). Utilization of high-oil corn in diets for broiler chickens. *J. Appl. Poultry Res.* vol. 3: 146.156.

Revista de Divulgación Técnica Agropecuaria, Agroindustrial y Ambiental Facultad de Ciencias Agrarias. UNLZ. Vol. 3 (2) 2016: 37-51

Alarcón-Valdez C., Milán-Carillo OG, Cárdenas-Valenzuela R, Mora-Escobedo LA, Bello-Perez C, Reyes-Moreno A. (2005). Infant food from quality protein maize and chick peas: optimization for preparing and nutritive properties. *Intl. J. of Food Sci. & Nutrition* Vol.56:273-285.

Alezones J, Ávila M, Chassaigne A, Barrientos V. (2010). Caracterización del perfil de ácidos grasos en granos de híbridos de maíz blanco cultivados en Venezuela. *Archivos Latinoam. de Nutrición* vol. 10(4):397-404.

Azevedo RA, Damerval C, Landry J, Lea PJ, Bellato CM, Meinhardt LW, Le Guilloux M, Delhay S, Toro AA, Gaziola SA, Berdejo BDA. (2003). Regulation of maize lysine metabolism and endosperm protein synthesis by opaque and floury mutations. *Eur. J. Biochem.* 270:4898-4908.

Barbieri R, Casiraghi EM. (1983). Production of a food-grade flour from defatted corn germ meal. *J. Food Technol.* Vol. 18:33-38.

Bonilla N. (2005). Análisis de estabilidad de cultivares de maíz (*Zea mays* L.) en ambientes de Costa Rica. San José, Costa Rica. *Alcances Tecnológicos* Vol. 3(1):63-71.

Bressani R, Marengo E. (1963). The enrichment of lime-treated corn flour with proteins, lysine and tryptophan and vitamin. *J. Agr. Food Chem.* Vol. 6:517-522.

Bressani R, Elías LG. (1969). Studies on the use of Opaque-2 corn in vegetable protein-rich foods. *J. Agri. & Food Chem.* Vol. 17:659-662.

Corcuera VR, Bernatené EA, Naranjo CA. (2005). Analysis of the chemical composition of quality maize inbreds and their hybrids. *Maize Genet. Cooperation Newsletter* 79:23. ISSN: 1090-4573, Univ. of Missouri, United States of America.

Corcuera VR, Salmoral ME, Salerno JC, Krisman CR. (2007) Starch molecular fractionation of bread wheat varieties (Fraccionamiento molecular del almidón de variedades de trigo pan)". *Agriscientia* Vol. XXIV, No. 1, ISSN 0327-6294 (edición on line: ISSN 1668-298X)

Corcuera VR (2012). Desarrollo y evaluación de nuevo germoplasma de maíz (*Zea mays* L.) para uso especial en Argentina. Tesis doctoral. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos y Medio Natural (ETSIAMN), Universidad Politécnica de Valencia, Valencia-España, 355 páginas.

Corcuera VR. (2013). Mejora Genética del Maíz. Desarrollo de Híbridos de Uso Especial. (*Uso de Descriptores Agronómicos, Químicos y Métodos Estadísticos aplicados al Análisis de Ensayos Multiambientales*), 521 páginas. Ed. PUBLICIA, AV Akademikerverlag GmbH & Co. KG, Saarbrücken, Alemania. ISSN 978-3-639-55207-2.

Corn Refiners Association. (2006). *Corn Starch*, 11th edition, Corn Refiners Assoc. Inc., Washington DC, 41 páginas.

Coutiño Estrada B, Ortega Corona A, Vidal Martínez VA, Sánchez Grajalez G, García Acuña SI. (2008). Selección recurrente para incrementar el contenido de aceite en maíz comiteco. *Rev. Fitotec. Mex.* vol. 31(Núm. Especial 3): 5-8.

Curá JA, Krisman CR. (1990). Cereal grains: A study of their (α 1,4)- (α 1,6) glucopolysaccharides composition. *Starch/Stärke* 42(5): 171-175.

Curá JA, Per-Erik J, Krisman CR.(1995). Amylose is not strictly linear. *Starch /Stärke* 47:207-209.

Dudley JW, Lambert RJ. (2004). 100 generations of selection for oil and protein in corn. *Plant Breed. Rev.* 24: 79-110.

Eckhoff SR, Watson SA. (2009). Corn and Sorghum starches: Production. En: J. BeMiller & R. Whistler (Eds.) *Starch. Chemistry and Technology*, 3rd edition, pp: 374-439. Academic Press (Elsevier Inc), New York and London. ISBN 0127462759, 9780127462752.

Eyherabide GH, Percibaldi NM, Borrás FS, Presello DA. (2005). Mejoramiento de la calidad nutricional del aceite de maíz mediante el desarrollo y selección recurrente intrapoblacional. Proceedings del VIII Congreso Nacional de Maíz, 16 a 18 de Noviembre de 2005, Rosario, Argentina, pp: 336-339.

FAO. (1993). *Maize in human nutrition*. 168 págs., Roma, Italia. ISBN= 9251030138

Gaziola SA, Alessi ES, Guimarães PEO, Damerval C, Azevedo RA. (1999). Quality protein maize: a biochemical study of enzymes involved in lysine metabolism. *J. Agric. Food Chem.* 47: 1268-1275.

Gibbon BC, Larkins BA. (2005). Molecular Genetic approaches to developing quality protein maize. *Trends Genet.* Vol. 21:227-233.

Gordón-Mendoza R, Franco-Barrera J, Camargo-Buitrago I. (2010). Adaptabilidad y estabilidad de 20 variedades de maíz, Panamá. *Agronomía Mesoamericana* Vol. 21(1):11-20.

Hall MB. (2007). Methodological challenges in carbohydrate analysis. *Rev. Brasileira de Zootecnia* 36 supl. especial: 359-367.

Hernández BD, Guerra MJ, Rivero F. (1999). Obtención y caracterización de harinas compuestas de endospermo-germen de maíz y su uso en la preparación de arepas. *Cienc. Tecnol. Aliment.* Vol. 19(2):194-198.

Hourquescos MJ, Eyherabide GH, Robutti JI, Percibaldi NM, Borrás FS. (1999). Características de interés industrial en híbridos simples de maíz. Informe Técnico No. 320, EERA INTA Pergamino.

Huang S, Frizzi A, Florida CA, Kruger DE, Luethy MH. (2006). High lysine and high tryptophan transgenic maize resulting from the reduction of both 19- and 22-kD α -zeins. *Pl. Mol. Biol.* 61:525-535.

Idikut L, Atalay AI, Kara SN, Kamalak A. (2009). Effect of hybrid on protein, starch and yields of maize grain. *J. of Animal and Veterinary Advances*, 8 (10): 1945-1949.

ILSI Argentina. (2006). Perfil de la composición de la producción del maíz cultivado en la Argentina. *Serie de Informes Especiales de ILSI Argentina, Volúmen II: Maíz y Nutrición*, pp: 53-61.

Izquierdo NG. (2007). Factores determinantes de la calidad de aceites en diversas especies. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina, 292 págs.

Krivaneck AF, De Groote H, Gunaratna NS, Diallo AO, Friesen D. (2007). Breeding and disseminating quality protein maize (QPM) for Africa. *Afr. J. of Biotech.* 6(4): 312-324

Kriz AL. (2009). Enhancement of amino acid availability in corn grain. En: T. Nagata, H. Lörz & J.H. Widholm (Eds.), *Molecular genetic approaches to maize improvement*, Biotechnology in Agriculture and Forestry Series, vol. 63, pp. 79-89, Springer Berlin Heidelberg, ISSN 0934-943X.

Lambert RJ. (2000). High oil corn hybrids. En: A.R. Hallauer (Ed.) *Specialty corns*, 2da. ed., CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 479 págs. ISBN: 0-8493-2377-0.

Lawton CL, Delargry HJ, Brockman J, Simith RC, Blundell JE. (2000). The degree of saturation of fatty acids influences in post ingestive satiety, *British Journal of Nutrition*, vol. 83 (5), pp. 473 - 482.

Mc Clintock B. (1948). Mutable loci in maize. *Carnegie Inst. of Washington Yearbook* 47: 155-169.

Milan-Carrillo J, Gutiérrez-Dorado R, Cuevas-Rodríguez EU, Garzón-Tiznado JA, Reyes-

Moreno C. (2004). Nixtamalized flour from Quality Protein Maize (*Zea mays* L.) optimization of alkaline processing. *Plant Food Hum. Nutr.* Vol.59:35-44.

Mittelmann A, de Miranda Filho JB, Mello Monteiro de Lima GJ, Hara-Klein C, Tanaka RT. (2003). Potential of the ESA23B maize population for protein and oil content improvement. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)* vol. 60(2): 319-327.

Narváez-González ED, Figueroa JD, Taba S, Castaño E, Martínez-Peniche RA. (2007). Efecto del tamaño del gránulo de almidón de maíz en sus propiedades térmicas y de pastificado. *Rev. Fitotec. Mex.* 30:269-277.

Nuss ET, Tanumihardjo SA. (2010). Maize: A Paramount Staple Crop in the Context of Global Nutrition. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* Vol. 9:417-436.

Olivera Carrión M. (2006). Aporte nutricional de las principales formas de consumo del maíz en la alimentación humana. En: *Maíz y Nutrición. Informe sobre los usos y las propiedades nutricionales del maíz para la alimentación humana y animal*. Recopilación de ILSI Argentina. Serie de Informes Especiales, vol.II, pp. 56-62.

Orman BA, Schumann R.A. Jr. (1991). Comparison of near-read spectroscopy calibration methods for the prediction of protein, oil and starch in maize grain. *J. Agric. Food Chem.*, 39(5): 883-886.

Paliwal RL. (2001). Mejoramiento del maíz con objetivos especiales. En: Marathée J.P. (Ed.) *El maíz en los trópicos: Mejoramiento y producción*. Colección FAO: Producción y protección vegetal-28, Roma, Italia. ISBN: 9253044578. Disponible en: http://www.fao.org/docrep/003/x7650s/x7650s20.htm#P0_0

Panthee DR, Pantalone VR, West DR, Saxton AM, Sams CE. (2005). Quantitative trait loci for seed protein and oil concentration, and seed size in soybean. *Crop Sci.* 45: 2015-2022.

Paulsen MR, Pordesimo LO, Singh M, Mbuvi SW, Ye B. (2003). Maize starch yield calibrations with near infrared reflectance. *Biosystems Engineering* 85(4): 455-460.

Pereira RC, LC Davide, Pedrozo CA, Carneiro CP, Souza IRP, Paiva E. (2008). Relationship between structural and biochemical characteristics and texture of corn grains. *Genet. Mol. Res.*7(2): 498-508.

Pixley KV, Bjamason MS. (1993). Combining ability for yield and protein quality among modified-endosperm opaque-2 tropical maize inbreds. *Crop Sci.* 33: 1229-1234.

Sager R. (1951). On the mutability of the waxy locus in maize. *Genetics* 36: 510-540.

Saleem M, Ahsan M, Aslam M, Majeed A. (2008). Comparative evaluation and correlation estimates for grain yield and quality attributes in maize. *Pak. J. Bot.* 40(6):2361-2367.

Schoch TJ, Maywald EC. (1956). Fractionation of starch by selective precipitation with butanol. *Analytical Chemistry* 28: 382-389.

Scott MP, Edwards JW, Bells CP, Schussler JR, Smith JS. (2006). Grain composition and amino acid content in maize cultivars representing 80 years of commercial maize varieties. *Maydica* 51: 417-423.

Sell JL. (1997). Últimos avances en alimentación de aves. XIII Curso de Especialización FEDNA, 12 págs., Madrid, España.

Disponible en: http://www.etsia.upm.es/fedna/capitulos/97CAP_XII.pdf

Song TM, Kong F, Li CJ, Song GH. (1999). Eleven cycles of single kernel phenotypic recurrent selection for percent oil in Zhongzong no. 2 maize synthetic. *J. of Genetics and Breeding* 53: 31-35.

U.S. Grains Council. (1999). 1998-1999 Value-enhanced corn quality report. U.S. Grains Council, Washington D.C., USA.

Vásquez DR, Abadia B, Arreaga LC. (2004). Aplicación de la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) para la caracterización nutricional del pasto Guinea y del grano de maíz. *Revista CORPOICA* 5(1): 49-55.

Vietmeyer ND. (2000). A drama in three long acts: the story behind the story of the development of quality-protein maize. *Diversity* 16: 29-32.

Villegas E, Vasal SK, Bjamason M, Mertz ET. (1992). Quality protein maize-what is it and how was it developed. En: E.T. Mertz (Ed.) *Quality protein maize*, pp. 27-48, Am. Assoc. Cereal Chem., St. Paul, MN, USA.

Vivek BS, Krivanek AF, Palacios-Rojas N, Twumasi-Afryie S, Diallo AO. (2008). Mejoramiento de maíz con calidad de proteína. Protocolos para generar variedades QPM. México D.F., CIMMYT, 66 págs. ISBN= 9789706481641.

Wassom JJ, Wong JC, Martinez E, King JJ, DeBaene J, Hotchkiss, Mikkilineni V, Bohn MO, Rocheford TR. (2008). QTL associated with maize kernel oil, protein and starch concentrations; kernel mass; and grain yield in Illinois high oil x B73 backcross-derived lines. *Crop Sci.*48: 243-252.