

Efecto de la maduración en el contenido de lisina y triptofano en diferentes variedades de maíz opaco-2 (*Zea mays* L.)¹

Claudio Ciudad B.², Irma Pennachiotti M.³, Patricio Enrione U.⁴

INTRODUCCION

El presente trabajo tiene por objeto valorar el contenido de lisina disponible, lisina total y triptofano en diferentes variedades de maíz a medida que avanza el proceso de maduración.

Dada la importancia que merece la presencia del gene *opaco-2* en híbridos de maíz, por el aumento de la proporción de lisina y triptofano que produce en relación al maíz corriente, resulta de interés estudiar el contenido de estos aminoácidos durante las diversas etapas de maduración para determinar en cuál de éstas se encuentra en mayor cantidad. De este modo, con los datos encontrados se podría establecer líneas futuras de aplicación, mejorando las necesidades nutricionales tanto de humanos como de animales monogástricos. En éstos, el valor nutricional del maíz es poco adecuado como fuente de proteínas debido a los bajos niveles de lisina y triptofano en su endosperma, según Bressani *et al* (6).

Watson *et al* (15) concluyen que los esfuerzos para mejorar el valor nutritivo del maíz mediante fertilización nitrogenada intensiva, tratando de aumentar la cantidad de proteína total, no han tenido éxito porque se produce un gran incremento en la proporción de zeína, una proteína esencialmente desprovista de triptofano y lisina.

En la síntesis proteica que acompaña el desarrollo de semillas, la cantidad de nitrógeno proteico aumenta a expensas del nitrógeno soluble. Se sabe que los granos de cereales contienen gran cantidad de proteínas alcohol-solubles y en el grano de maíz maduro esta fracción proteica, zeína, constituye alrededor del 40% al 50% del nitrógeno proteico del grano. Muchos investigadores han demostrado que en el grano de maíz maduro, el nitrógeno alcohol-soluble está relacionado altamente con el nitrógeno total. Aún más, cualquiera modificación que se produzca en el nitrógeno del maíz por prácticas de cultivo se refleja en cambios en el contenido de nitrógeno alcohol-soluble del grano. Zeleny (16) demostró que la zeína está casi ausente en el grano inmaduro, pero

es sintetizada a gran velocidad a medida que el grano se acerca a la madurez. También encontró que el rápido aumento en la razón de N zeína a N total, es casi exactamente paralela a la disminución de N no proteico soluble en agua.

Mertz *et al* (14) y Watson (15), observaron una alteración en el contenido de lisina del maíz por la acción de genes recesivos *opaco-2* y *harinoso-2*. El mutante *opaco-2* (*o₂*) en maíz, descubierto por Singleton y Jones, es un gene que se manifiesta fenotípicamente sólo en el estado homocigoto recesivo en el núcleo triploide del endosperma de maíz. Este genotipo, a diferencia de los otros, tiene como característica principal ser un generador de proteína rica en lisina y triptofano especialmente, modificación aminoácida que sólo ocurre en semillas que son de constitución genética *o₂/o₂*.

Los valores más altos de lisina y triptofano de estos mutantes del maíz, se deben a que el gene mutante provoca una gran reducción en la cantidad del complejo de proteínas alcohol-solubles encontradas en el endosperma, conocidas como zeína. Las cantidades relativas de proteína del complejo zeína también varían, pero hay un problema concerniente a la composición aminoácida de zeína, escasa en lisina y triptofano; en el *opaco-2* se produce un aumento de glutelina, proteína con mayor cantidad de estos aminoácidos. Los descubrimientos de Watson (15) y Dalby (10), demostraron que los factores genéticos pueden alterar la calidad de la proteína y por ende el valor nutritivo del maíz.

En la actualidad el maíz *opaco-2* se cultiva en varios países casi exclusivamente en forma experimental. En Chile, el cultivo de *opaco-2* es netamente experimental y se desarrolla en el Instituto de Investigaciones Agropecuarias (Estación Experimental La Platina y Estación Experimental Quilamapu).

Este tipo de grano puede contribuir también con gran eficiencia al mejoramiento de la dieta proteica de la población, como lo demuestran experiencias con niños, realizadas por Bressani (5) en Guatemala. Se ha indicado, por ejemplo, que el valor biológico de la proteína del *opaco-2* es de alrededor del 90% del de la leche. Investigaciones realizadas por Clark, citado por Watson (15), en Purdue en 1966, indican que un suministro diario de 300 g de maíz *opaco-2*, proporciona una cantidad de proteína adecuada y mantiene el equilibrio de nitrógeno en hombres de 70 Kg de peso.

¹ Parte de la Tesis de Grado presentada por el autor Patricio Enrione U. para optar al título de Químico-Farmacéutico, Universidad de Chile.

Recepción manuscrito: 14 de mayo de 1970.

² Bioquímico Laboratorio Central de Bromatología, Estación Experimental La Platina, Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Casilla 5427, Santiago, Chile.

³ Profesora de la Cátedra de Bromatología de la Facultad de Química y Farmacia, Universidad de Chile.

⁴ Químico-Farmacéutico, Laboratorio Central de Bromatología, Estación Experimental La Platina, Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Dirección actual: Instituto Bacteriológico de Chile.

MATERIAL Y METODO

Se estudiaron tres variedades de maíz, proporcionadas por el Proyecto Maíz de la Estación Experimental La Platina. De cada variedad se recogieron muestras de diez mazorcas cada vez, a intervalos de dos semanas desde el momento en que habían transcurrido cuatro semanas desde la polinización, realizándose esta operación por ocho semanas.

Se analizó el grano proveniente de los siguientes tratamientos:

Tratamiento 1

Híbrido opaco Trojan TX 102, endosperma $O_2/O_2/O_2$, dentado-amarillo, autopolinizado.

Tratamiento 2

Opaco dentado blanco homocigoto, autopolinizado (colección marcadores genéticos de la Estación Experimental La Platina), endosperma $O_2/O_2/O_2$.

Tratamiento 3

Trojan TX 102, opaco dentado amarillo homocigoto, polinizado con polen de la línea EC 26 no opaco. Endosperma de la semilla híbrida $O_2/O_2/O_2$.

Las muestras inmediatamente después de la cosecha se sometieron previamente a desecación en estufa a 60° C con corriente de aire y posteriormente se molieron y tamizaron (40 mesh).

En las muestras se determinó:

- a) Humedad.— Se siguió el método propuesto por la AOAC (1).
- b) Proteína bruta.— Método según la AOAC (1), empleándose el factor 5,7 para convertir el nitrógeno total en proteína (3).
- c) Lisina disponible.— Se aplicó el método propuesto por Carpenter *et al* (7) y (8), basado en la reacción de los grupos epsilon amino libres de la proteína intacta con el 1-flúor, 2,4 dinitro benceno (FDNB) y la determinación espectrofotométrica del complejo dinitro-fenil-lisina, obtenido por hidrólisis ácida posterior.
- d) Lisina total.— Para valorar la lisina total se utilizó el método microbiológico según la técnica señalada por E. C Barton Wright (2), usando el medio de cultivo "Difco" y como microorganismo el *Leuconostoc mesenteroides* cepa P-60.
- e) Triptofano.— En la valoración microbiológica de triptofano se utilizó la técnica propuesta por Horn (13), que emplea papaina en medio alcalino para la hidrólisis del material a ensayar. Se usó medio "Difco" y como microorganismo de prueba el *Lactobacillus plantarum* cepa ATCC-8014.

Las muestras se analizaron en cuadruplicado y a cuatro niveles de concentración. Las escalas correspondientes se realizaron en triplicado y en un rango de 0-300 mg y 0-12 mg para lisina y triptofano, respectivamente.

Dentro del estudio estadístico, se realizó el análisis de variancia de diseño de bloque al azar con arreglo factorial de 3 x 4 (tres variedades, cuatro épocas); también se realizó una prueba de Duncan para establecer si existían diferencias significativas entre los promedios de los diferentes tratamientos y se calcularon los correspondientes coeficientes de variación de cada técnica analítica utilizada.

RESULTADO Y DISCUSION

Conocido el hecho de que el maíz opaco-2 tiene un mayor contenido de lisina y triptofano, resultaba de interés efectuar una valoración de estos aminoácidos a través de la maduración. Esta investigación con respecto a la lisina, se orientó en dos sentidos: hacia el estudio de lisina disponible y lisina total, tomando en cuenta que sólo la primera está en relación con el valor biológico de la proteína.

Al comparar los Cuadros 1 y 2 se observa que el valor de lisina disponible es significativamente más bajo que el de lisina total. Sobre este aspecto se debe considerar que el concepto de lisina disponible nació de las observaciones de que parte de la lisina se complejaba al someter un producto alimenticio a tratamientos relativamente energéticos, como aplicación de calor, produciéndose una reacción de condensación de los grupos epsilon amino de la lisina con grupos carbonilos, de otros compuestos. Estos productos de condensación no son aprovechables por el organismo.

Aunque las evidencias sugieren que la reacción de pardeamiento de Maillard está definitivamente relacionada con el problema, no es la verdadera y única causa del daño. El daño a las proteínas provocado por el calor no puede ser explicado simplemente en términos de formación de complejos aminoácidos-azúcar. La naturaleza completa del fenómeno queda aún por ser aclarada (9).

En el presente estudio el material utilizado fue maíz al estado natural, es decir, sin someterlo a ningún proceso drástico de temperatura. Por lo tanto, los valores más bajos de lisina disponible se pueden explicar por el hecho de que parte de la lisina sufre la reacción de Maillard u otras, y otra parte se encuentra intacta con sus dos grupos amino libres, la que no es determinada por el método espectrofotométrico de Carpenter, pero sí por el método microbiológico. Esta lisina libre tendrá, al contrario de la forma complejada, valor biológico es decir, sería aprovechada por el organismo.

En el Cuadro 1 se observa la variación de lisina total en el tiempo. A medida que avanza

Cuadro 1 — Contenido promedio de lisina total g/100g de materia seca en maíces opacos y no opaco .

Tratamientos	Semanas transcurridas desde la polinización				Promedio de las 4 tomas de muestra	Ecuación de regresión
	4	6	8	10		
1	1,05	0,70	0,56	0,51	0,70 a	$Y = -0,088 x + 1,321$
2	0,65	0,61	0,45	0,41	0,53 b	$Y = -0,044 x + 0,838$
3	0,50	0,53	0,44	0,42	0,45 c	$Y = -0,016 x + 0,588$
Promedio de las tres variedades	0,73 a 0,60 b 0,47 c 0,44 d					

$P \leq 0,05$

Tratamiento 1 = opaco dentado amarillo autopolinizado

$O_2/O_2/O_2$

Tratamiento 2 = opaco dentado blanco autopolinizado

$O_2/O_2/O_2$

Tratamiento 3 = opaco dentado amarillo polinizado con no opaco

$O_2/O_2/O_2$

la maduración, la cual puede estimarse por el contenido de agua de cada muestra, la lisina total disminuye en los tres tratamientos estudiados. Esta disminución en cada caso ocurre a una velocidad diferente. En el tratamiento 1 es más pronunciada que en el 2 y en éste, a su vez, más pronunciada que en el tratamiento 3, observaciones que se aprecian en la ecuación de regresión para cada análisis.

En el Cuadro 2 se encuentran los valores de lisina disponible. Se observa también una disminución a través de la maduración, siendo ésta diferente para cada variedad. El fenómeno observado es similar al caso de la lisina total.

En el Cuadro 3 se muestra la variación de triptofano con la maduración. En el tratamiento 1 se observa una disminución con el tiempo, en forma regular. En el tratamiento 2 se aprecia cierta diferencia con respecto al caso

anterior. En una segunda etapa de maduración se observa un leve aumento y luego una disminución en las etapas posteriores. Estudiando su ecuación de regresión, se aprecia una disminución menos acentuada que en el tratamiento 1, según el valor de la inclinación. En el tratamiento 3, se obtuvo en las dos primeras etapas un valor igual de triptofano y luego una disminución que se mantiene en la etapa siguiente.

En el Cuadro 4 se observan los cambios del contenido de proteína para cada tratamiento. Para el tratamiento 1 el cambio del contenido de proteína es bastante grande, pues desciende de un 21% en la primera etapa hasta un 10% en la última etapa. En el caso del tratamiento 2 este descenso es menos marcado, llegando al mismo 10% de proteína. Por último el tratamiento 3 presentó un descenso de poca inclinación comparado con el trata-

Cuadro 2 — Contenido promedio de lisina disponible g/100g de materia seca en maíces opacos y no opaco .

Tratamientos	Semanas transcurridas desde la polinización				Promedio de las 4 tomas de muestra	Ecuación de regresión
	4	6	8	10		
1	0,87	0,55	0,50	0,45	0,59 a	$Y = -0,065 x + 1,051$
2	0,52	0,45	0,38	0,38	0,43 b	$Y = -0,024 x + 0,604$
3	0,40	0,44	0,38	0,33	0,39 c	$Y = -0,013 x + 0,482$
Promedios de las tres variedades	0,60 a 0,48 b 0,42 c 0,39 d					

$P \leq 0,05$

Cuadro 3 — Contenido promedio de triptófano g/100g de materia seca en maíces opacos y no opaco .

Tratamientos	Semanas transcurridas desde la polinización				Promedio de las 4 tomas de muestra	Ecuación de regresión
	4	6	8	10		
1	0,28	0,19	0,16	0,15	0,19 a	$Y = - 0,021 x + 0,342$
2	0,15	0,17	0,13	0,12	0,14 b	$Y = - 0,006 x + 0,188$
3	0,15	0,15	0,12	0,12	0,13 b	$Y = - 0,009 x + 0,177$
Promedios de las tres variedades	0,20 a	0,17 b	0,14 c	0,13 d		

P ≤ 0,05

Cuadro 4 — Contenido promedio de proteína g/100g de materia seca en maíces opacos y no opaco .

Tratamientos	Semanas transcurridas desde la polinización				Promedio de las 4 tomas de muestra	Ecuación de regresión
	4	6	8	10		
1	21,0	16,0	12,7	10,0	14,9 a	$Y = - 1,82 x + 27,63$
2	12,9	11,3	10,0	10,0	11,1 b	$Y = - 0,54 x + 14,25$
3	16,6	14,1	13,5	12,2	14,6 c	$Y = - 0,69 x + 18,93$
Promedios de las tres variedades	16,8 a	13,8 b	12,1 c	10,7 d		

P ≤ 0,05

miento 1, estabilizándose en un 12,2% de proteína, cifra superior a la de los dos maíces opacos homocigotos estudiados.

En el tratamiento 3 se observa que, aunque el contenido de lisina y triptofano es marcadamente más bajo que en los otros 2 tratamientos, sus valores de proteína son altos.

Los coeficientes de variación respectivos para los tratamientos analíticos utilizados son: Lisina total, 4,4%; lisina disponible, 3,3%; triptofano, 12,4%, y proteína, 1,3%.

En general se puede asegurar que existe una disminución de los aminoácidos estudiados y de la proteína bruta cuando avanza el proceso de maduración.

Por una parte, existe una poderosa razón para pensar que la velocidad de síntesis de carbohidratos supera, en la maduración, a la velocidad de síntesis de proteínas, lo que resulta en una notable baja de la fracción proteica. Simultáneamente, en este período, aumenta la proporción de zeína, proteína escasa en lisina y triptofano, siendo más intenso este

fenómeno en las variedades no opacas (14).

En el material opaco-2, además del fenómeno señalado por su característica genética diferente, se produce un aumento de la proporción de glutelina, en la fracción proteica del maíz, lo que da un grano con contenidos relativamente altos en los aminoácidos estudiados (15).

También se observa que uno de los tratamientos estudiados, el 1, es el que tiene más alto contenido de lisina y triptofano; desde luego, resulta interesante este tratamiento, pues si es desarrollado convenientemente, podría ser una excelente vía de solución a la deficiencia en calidad proteica de este cereal.

Se aprecia a la vez un hecho ya expresado por Hernández y Bates (12), en la relación que existe entre el contenido de lisina y triptofano. Ambos aminoácidos sufren variaciones, en general similares en las muestras estudiadas. Comparando los Cuadros 1 y 2 con el 3, puede comprobarse la observación anterior.

Un hecho que podría ser motivo de discu-

sión, considerando el objetivo del presente trabajo y los resultados, es que el momento más adecuado para cosechar el maíz opaco, podría ser el correspondiente a las primeras etapas de la maduración por su alto contenido en lisina y triptofano, pero aparece también el hecho de que en estas primeras etapas el maíz tiene un alto contenido de agua, y de este modo una cosecha realizada en ese momento daría un bajo rendimiento.

No se ha encontrado en la literatura experiencias similares realizadas en opaco-2 y por este motivo se han comparado estos datos con las cifras de experiencias en maíz corriente, realizada por Gómez et al (11) y Bressani (4),

observándose en ambos casos la misma tendencia.

Los análisis de variancia realizados para los valores de lisina disponible, lisina total y proteína y para sus interacciones con el tiempo de maduración, muestran una significancia al 0,001 y los de triptofano al 0,01.

Se encontró diferencias significativas al 0,05 mediante la prueba de Duncan, entre los promedios de los tratamientos, tanto para las variedades como para las semanas en que se tomaron las muestras, excepto para contenido promedio de triptofano en las variedades opaco dentado blanco y opaco dentado amarillo heterocigoto, que tienen promedios iguales.

RESUMEN

En el presente trabajo se estudió las variaciones que sufren los contenidos de lisina total, lisina disponible, triptofano y proteína en tres variedades de maíz a medida que avanza el proceso de maduración. Se estudiaron dos variedades de maíz opaco-2 homocigotas y una opaco-2 heterocigota.

La lisina total y el triptofano se determinaron por el método microbiológico usando los microorganismos de prueba *Leuconostoc mesenteroides*, cepa P-60 y *Lactobacillus plantarum*, cepa ATCC-8014, respectivamente.

La lisina disponible se valoró por el método descrito por Carpenter.

Los valores expresados, basados en materia seca, demostraron que las variedades opaco-2 homocigotas, tienen un contenido de los aminoácidos estudiados significativamente mayor, que la variedad heterocigota.

Se observa además que el contenido de proteína, lisina total disponible y triptofano disminuyen en forma significativa, a medida que avanza el proceso de maduración.

SUMMARY

The present experiment was carried out to study the total lysine, available lysine, tryptophane and crude protein in three varieties of corn. Two of these varieties were homozygous and the other heterozygous. The four variables measured and its variation with the stages of maturity of the plant was observed.

Total lysine and tryptophane were determined by microbiological assay, using *Leuconostoc mesenteroides* strain P-60 and *Lactobacillus plantarum*, strain ATCC-8014, respectively.

Available lysine was determined by the Carpenter method. The results indicated that both homozygous varieties show significantly higher content of total lysine, available lysine and tryptophane compared to the heterozygous variety, when the variables measured were expressed in dry weight basis. The contents of the variables studied decrease with the advance in maturity.

LITERATURA CITADA

1. ASSOCIATION OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMIST. Official methods of analysis of the Association of Official Agricultural Chemist, Nenasha, Wisconsin, George Banta Company Inc. 1964. 283 p.
2. BARTON WRIGHT, D. C. The Microbiological Assay of the vitamin B complex and aminoacids, New York, Pitman, 1952. 154 p.
3. BREESE, J. Factors for converting percentages of nitrogen in foods and Feeds into Percentages of Proteins. USDA, Circular 183. 1931.
4. BRESSANI, R. and CONCHE, R. Changes in the chemical composition and the distribution of nitrogen of maize endosperm, at different stages of development. Cereal Chem. 38 (1): 76-84. 1961.
5. ————. Protein quality of opaque-2 corn in children High Lysine corn conference, Purdue University, Lafayette, Indiana. 1966. p. 34-39.
6. ———— et al. El contenido de nitrógeno y de aminoácidos esenciales de diversas relaciones de maíz. Arch. Venez. de Nutrición, 10 (2): 7-8. 1960.
7. CARPENTER, K. J. The estimation of available lysine in animal-protein foods. Biochem. J. 77: 604-607. 1960.

8. ————— The DNFB available lysine test for protein concentrates. Georgia Nutrition Conference for Feeds Manufacturers. Atlanta, 1968. 106 p.
9. ————— and ELLINGER, G. M. Fish products as protein supplements to cereals. British Journal of Nutrition, 11: 162-173, 1957.
10. DALBY, A. and DAVIES, I. Ribonuclease activity in the Developing Seeds of normal and opaque-2 Maize. Science. 155 (3769): 1573. 1967.
11. GOMEZ BRENES, R. A., ELIAS, L. C. y BRESSANI, R. Efecto del proceso de la maduración del maíz sobre su valor nutritivo. Arch. Latinoamericanos de Nutrición, 18 (1): 65-79. 1968.
12. HERNÁNDEZ, H. H. and BATES, L. S. A modified method for rapid tryptophane analysis of maize. México, Cimmyt. Research Bulletin N° 13, 1969. 7 p.
13. HORN, M. and JONES, B. A microbiological method for determination of tryptophane in food. J. of Biol. Chem. 157 (1): 153-160. 1945.
14. MERTZ, W. T., BATES, L. S. and NELSON, O. E. Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. Science 145 (3629): 279-280. 1964.
15. WATSON, S. A. and YAHL, K. R. Comparisson of the wet milling properties of opaque-2 high lysine corn and normal corn. Cereal chem. 44 (5): 488-498. 1967.
16. ZELENY, L. The distribution of nitrogen in the seed of *Zea mays* at different stages of maturity. Cereal Chem. 12: 536-542. 1935.