



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS
MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

**Caracterización del Perfil de Aminoácidos y Fracciones
Proteicas de Maíces con Alto Contenido de Aceite**

TESIS

Que presenta

IBQ. JEANETTE ANGULO REYES

Para obtener el Grado de

MAESTRA EN CIENCIA

Y

TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Directores

DR. JOSÉ ÁNGEL LÓPEZ VALENZUELA

DRA. NANCY YARELI SALAZAR SALAS

Culiacán, Sinaloa, México

Agosto de 2024



Dirección General de Bibliotecas
Ciudad Universitaria
Av. de las Américas y Blvd. Universitarios
C. P. 80010 Culiacán, Sinaloa, México.
Tel. (667) 713 78 32 y 712 50 57
dgbuas@uas.edu.mx

UAS-Dirección General de Bibliotecas

Repositorio Institucional Buelna

Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial
Compartir Igual, 4.0 Internacional



El presente trabajo se realizó en los Laboratorios de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas y Laboratorio de Proteómica y Metabolómica, Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, bajo la dirección del Dr. José Ángel López Valenzuela y la Dra. Nancy Yareli Salazar Salas. Contó con la asesoría de la Dra. Karen Virginia Pineda Hidalgo y la Dra. Jeanett Chávez Ontiveros. Contó con financiamiento del Programa de Fomento y Apoyo a Proyectos de Investigación (PROFAPI 2022/A7_015) de la Universidad Autónoma de Sinaloa. La IBQ. Jeanette Angulo Reyes recibió beca de estudios del Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT).

AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Ciencias Químico-Biológicas y Posgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos** por brindarme la oportunidad de realizar mi formación como Maestra en Ciencia y Tecnología de Alimentos.

Al **Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnología (CONAHCYT)**, por la beca otorgada para la realización de este proyecto.

A mis directores de tesis, el **Dr. José Ángel López Valenzuela** y la **Dra. Nancy Yareli Salazar Salas**, por la confianza de aceptarme en su área de investigación, así como todas las enseñanzas y consejos brindados para mi crecimiento profesional.

Al **MC. Luis Peinado** y la **Dra. Jeanett Chávez Ontiveros**, por su asesoría y apoyo en la realización de este proyecto.

A la **Dra. Karen Virginia Pineda Hidalgo**, por ser una gran guía en todo el proceso. Por el tiempo dedicado, su valiosa amistad y todos los momentos de risa.

A mis compañeros y amigos de laboratorio: **Alicia, David, Gamaliel, Edwin, Masiel, Chely, Adán y Milton**. Así como también, al integrante del laboratorio y mi mejor amigo en esta trayectoria, **Víctor**. Estoy agradecida con cada uno de ustedes por su apoyo y amistad. Hicieron de este proceso una experiencia única y divertida. Me llevo las reuniones en el sushi y las convivencias de pizza de queso. Gracias por todas las risas y enseñanzas.

A mis hermanos **Kevin y Marcela**, mis abuelos **Arturo y Tommy**, mis tíos **Arturo y Vianey**, y a mis primos **Eduardo y Michelle**. Por recibirme en Guasave todos los fines de semana, la motivación y todo el amor.

En especial a **mi madre**, por todo el esfuerzo, por esperarme en casa siempre con los brazos abiertos, por todas las noches que pasaste aconsejándome, por eso y mil cosas más.

Gracias a todas las personas que directa e indirectamente formaron parte de esta etapa, me quedo con todo lo bueno de cada uno de ustedes.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS.....	iii
ÍNDICE DE CUADROS.....	iv
I. RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	3
II. INTRODUCCIÓN.....	5
III. REVISIÓN DE LITERATURA.....	7
A. GENERALIDADES DEL MAÍZ.....	7
1. Origen.....	7
2. Taxonomía y descripción botánica.....	7
3. Estadísticas de producción.....	9
4. Estructura y composición química del grano de maíz.....	9
B. PROTEINAS DE ALMACENAMIENTO.....	16
1. Prolaminas.....	17
2. Glutelinas.....	19
3. Albúminas.....	19
4. Globulinas.....	20
C. CALIDAD PROTEÍNICA.....	23
D. MAÍZ CON ALTO CONTENIDO DE ACEITE.....	25
1. Desarrollo.....	25
2. Importancia y usos.....	28
3. Composición química.....	30
E. PROTEÓMICA.....	33
IV. JUSTIFICACIÓN.....	36
V. HIPOTESIS.....	37
VI. OBJETIVOS.....	38
A. OBJETIVO GENERAL.....	38
B. OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	38
VII. MATERIALES Y MÉTODOS.....	39
A. MATERIALES.....	39
B. MÉTODOS.....	39
1. Contenido de humedad.....	39
2. Contenido de proteína total.....	39

5. Composición de aminoácidos	42
6. Caracterización del perfil de proteínas de almacenamiento	42
a. Extracción de proteínas	42
b. Cuantificación de proteínas	43
c. Digestibilidad proteínica <i>in vitro</i> (DPIV)	43
d. Calificación química.....	44
e. Relación de eficiencia proteica calculada (c-PER) y valor biológico (VB).....	44
f. Separación de proteínas por electroforesis en geles de poliacrilamida- SDS (SDS-PAGE).....	45
g. Identificación de proteínas por espectrometría de masas	46
h. Detección inmunológica de zeínas (Western Blot)	47
7. Análisis estadístico	48
VIII. RESULTADOS Y DISCUSION	49
A. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE MAICES ACA	49
B. COMPOSICIÓN DE AMINOÁCIDOS Y CALIDAD PROTEÍNICA.....	51
1. Perfil de aminoácidos	51
2. Calidad Proteínica	58
C. CARACTERIZACIÓN DEL PERFIL DE PROTEÍNAS DE ALMACENAMIENTO	61
1. Cuantificación de proteínas por fracciones	61
3. Separación de fracciones e identificación de proteínas en maíces con alto contenido de aceite	65
a. Albúminas.....	65
b. Globulinas	71
c. Prolaminas	75
d. Glutelinas	77
IX. CONCLUSIONES.....	81
X. BIBLIOGRAFÍA	82
ABREVIATURAS.....	94

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Descripción	Página
1	Corte longitudinal del grano de maíz	10
2	Separación electroforética (SDS-PAGE) de las diferentes fracciones de zeínas	16
3	Perfil electroforético (SDS-PAGE) de globulinas del embrión de maíz	20
4	Contenido de albúminas, globulinas, prolaminas y glutelinas (mg/100 mg harina bs) en maíces ACA y un maíz híbrido comercial	60
5	Contenido de albúminas, globulinas, prolaminas y glutelinas (mg/100 mg proteína bs) en maíces ACA y un maíz híbrido comercial	62
6	Separación por SDS-PAGE de la fracción albúminas de maíces ACA y un maíz híbrido comercial	64
7	Identificación por espectrometría de masas de la proteína ARNr-N-glicosilasa6	66
8	Cuantificación densitométrica de proteínas identificadas de la fracción de albúminas en maíces ACA y un híbrido comercial.	68
9	Separación por SDS-PAGE de globulinas de maíces ACA y un maíz híbrido comercial.	70
10	Cuantificación densitométrica de proteínas tipo globulinas identificadas por espectrometría de masas en maíces ACA y un híbrido comercial.	71
11	Perfil de zeínas de maíces ACA y el híbrido comercial Armadillo	74
12	Cuantificación densitométrica de las principales prolaminas o zeínas en maíces ACA y un híbrido comercial.	76
13	Separación por SDS-PAGE de la fracción de glutelinas de maíces ACA y un maíz híbrido comercial	77

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Descripción	Página
1	Principales países productores de maíz en el año 2022	8
2	Principales estados productores de maíz en México en el año 2022	9
3	Composición química de las principales partes del grano de maíz	13
4	Composición de aminoácidos de las fracciones de albúminas, globulinas, prolaminas y glutelinas en el endospermo de maíz	19
5	Contenido de proteína y aminoácidos en maíz normal, <i>opaco2</i> y maíz de calidad proteínica (QPM)	24
6	Composición química y contenido calórico de maíces con alto contenido de aceite en relación con un maíz convencional	29
7	Contenido de proteína y aminoácidos de un maíz normal y un maíz con alto contenido de aceite (ACA)	30
8	Contenido de proteína total, almidón y grasas en maíces ACA y un maíz híbrido comercial	48
9	Contenido de aminoácidos en harina de maíces ACA y un maíz híbrido comercial	50
10	Composición de aminoácidos de las proteínas de maíces ACA y un maíz comercial.	53
11	Parámetros de calidad proteínica en maíces ACA y un maíz híbrido comercial.	57
12	Identidad de proteínas de las fracciones de albúminas y globulinas de maíces con alto contenido de aceite.	65

I. RESUMEN

El maíz (*Zea mays* L.) es uno de los cultivos de mayor importancia a nivel mundial y constituye la base de la alimentación en México, siendo Sinaloa el principal productor de este cereal a nivel nacional. El contenido de aceite y proteínas de un maíz normal es de aproximadamente 4.5% y 10%, respectivamente. El programa de mejoramiento del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) desarrolló maíces especializados con alto contenido de aceite (ACA) (6-8%), los cuales además incrementan su contenido de proteínas debido al aumento en el tamaño del germen. En este sentido, es importante caracterizar estos materiales para obtener información que pueda ser útil para el desarrollo de maíces híbridos con una mejor calidad nutricional con respecto a los maíces normales. Por ello, el objetivo del presente estudio fue caracterizar el perfil de aminoácidos y de las principales fracciones proteínicas de cruzas de maíces ACA. Se utilizaron cuatro cruzas de maíz ACA, dos blancos (PBN85xPBB183, PNB11xPBN84) y dos amarillos (CML451/CML486xPAN133 y PAN157xPAB218), así como el híbrido comercial Armadillo. Se determinó el contenido de proteína total, grasa y almidón, perfil de aminoácidos y parámetros de calidad proteínica como digestibilidad, relación de eficiencia proteica calculada (c-PER), calificación química (CQ) y valor biológico (VB). Se obtuvieron las fracciones albúminas (agua), globulinas (NaCl 0.5 M), prolaminas (EtOH 70%) y glutelinas ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$). Las fracciones se cuantificaron colorimétricamente, se separaron electroforéticamente (SDS-PAGE) y algunas de las proteínas se identificaron por espectrometría de masas. El contenido de grasas y proteínas de los maíces ACA varió de 6.53 a 8.5% y de 11.0 a 13.6%, respectivamente, siendo la craza PAN157 x PAB218 la que presentó los mayores contenidos en ambas

características comparado con el híbrido comercial (4.36% y 10.6%). Este incremento de proteína total en los maíces ACA resultó en un aumento del contenido de aminoácidos (g/100 g harina), entre ellos lisina y triptófano cuyos valores se incrementaron hasta en un 26% y 33%, respectivamente. También se observó un aumento considerable en los aminoácidos azufrados metionina y cisteína (hasta un 70 y 40%, respectivamente). La cruza PBN11 x PBN84 presentó los mayores valores de digestibilidad (80%), c-PER (1.42) y valor biológico (96.97), lo que correspondió con un mayor incremento en la proporción de albúminas y glutelinas que tienen un mejor balance de aminoácidos esenciales. El perfil electroforético de las fracciones albúminas y globulinas mostró una mayor acumulación de algunas proteínas en los maíces ACA con respecto al híbrido comercial, destacando las albúminas lactoil glutatión liasa y ARNr-N-glucosidasa, las globulinas 1 y 2S y una proteína de unión a ARN, las cuales poseen altos contenidos de lisina y triptófano y podrían estar contribuyendo al aumento en el contenido de estos aminoácidos esenciales limitantes en maíz, así como otros importantes como metionina, cisteína y treonina. Los resultados indican que algunos maíces ACA tienen buenas características nutricionales y sugieren que su introducción como alimento podría proporcionar mejores beneficios a la salud que los maíces comerciales.

ABSTRACT

Corn (*Zea mays* L.) is one of the most important crops worldwide. It is a staple food in Mexico and the state of Sinaloa is the main producer of this cereal. The lipid and protein content of normal corn is about 4.5% and 10%, respectively. The breeding program of the National Institute of Forestry, Crop and Livestock Research (INIFAP) developed high oil corn (HOC, 6-8%), which also increase their protein content due to the increase in germ size. Therefore, the characterization of these materials is important for the development of hybrid corn with a better nutritional quality than normal hybrids. The objective of the present study was to characterize the amino acid profile and the main protein fractions of HOC crosses. Two white HOC crosses (PBN85xPBB183 and PNB11xPBN84) and two yellow ones (CML451/CML486xPAN133 and PAN157xPAB218) were used, as well as a commercial hybrid (Armadillo). The content of total protein, fat and starch was evaluated, as well as the amino acid profiles and the protein quality parameters *in vitro* protein digestibility (IVPD), chemical score (CS), calculated protein efficiency ratio (c-PER) and biological value (BV). Protein fractions were obtained based on their solubility: albumins (water), globulins (NaCl 0.5 M), prolamins (EtOH 70%) and glutelins ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$). The fractions were quantified colorimetrically and separated by electrophoresis (SDS-PAGE); some of the proteins were identified by mass spectrometry. Fat and protein content in HOC varied from 6.53 to 8.5% and from 11.0 to 13.6%, respectively; the cross PAN157 x PAB218 showed the higher content of both characteristics compared to the commercial hybrid (4.6% and 10.6%). This increase in total protein of HOC also increased the amino acid content (g/100 g flour), including lysine and tryptophan whose content increased 26% and 33%, respectively. A

considerable increase in sulfur amino acids cysteine (up to 40%) and methionine (up to 70%) was also observed. The cross PBN11 x PBN84 showed the highest values of digestibility (80%), c-PER (1.42) and BV (96.97), which corresponded with a greater increase in the proportion of albumins and glutelins that contain a better balance of essential amino acids. The electrophoretic profile of the fractions albumins and globulins showed a greater accumulation of some proteins in HOC compared to the commercial hybrid, highlighting the albumins lactoylglutathione lyase and RNAr-N-glucosidase, the globulins 1 and 2S, and a RNA binding protein, which contain high proportions of lysine and tryptophan and they may be contributing to the increase of these essential amino acids in corn; they may be also contributing other important amino acids such as methionine, cysteine and threonine. The results indicate that some HOC crosses have good nutritional characteristics. The introduction of these materials could provide better health benefits than the commercial corn.

II. INTRODUCCIÓN

El maíz es un cultivo anual de alta productividad y excepcional adaptabilidad geográfica que ha favorecido dispersión por todo el mundo. Es uno de los cereales más importantes ya que se utiliza para la alimentación humana y animal, así como materia prima en una amplia gama de aplicaciones industriales, desde el procesamiento de alimentos hasta la fabricación de etanol (Singh y col 2014).

La investigación de maíz en el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) contribuye al desarrollo de genotipos mejorados competitivos que por sus características proporcionan un valor agregado al productor de grano, al industrial y al consumidor, ya sea por su productividad o calidad (Estrada y col 2008). Un maíz de especialidad es un maíz desarrollado y utilizado para fines específicos. El maíz de calidad proteínica (QPM), el maíz dulce y el maíz con alto contenido de aceite (ACA) son algunos de los maíces especializados más importantes que se cultivan en todo el mundo. Estos maíces se consideran mejores en comparación con el maíz normal en muchas características nutricionales y de calidad (Sanjeev y col 2014).

El maíz normal es rico en almidón (72%) y contiene alrededor del 4% de aceite, mientras que el maíz ACA contiene más del 6% de aceite y también posee una mayor concentración de proteínas, debido al incremento en el tamaño del germen que contiene 33% de aceite y 18% de proteínas (Singh y col 2014).

Los maíces ACA incrementan el contenido y la calidad de las proteínas (Singh y col 2014). La calidad nutricional de una proteína se define generalmente con base en su digestibilidad y la proporción de aminoácidos esenciales para el ser humano (Moughan 2005). La calidad de las proteínas en maíz se ve limitada por la deficiencia

de algunos aminoácidos esenciales como lisina y triptófano, pero contiene cantidades importantes de metionina (Barboza y col 2005). Por lo tanto, es de gran importancia caracterizar estos maíces en cuanto a su composición de proteínas y aminoácidos, lo cual es de gran utilidad para conocer su valor nutricional, además del alto contenido de aceite. En el caso particular de los maíces ACA, existe poca información acerca de su calidad proteínica y se desconoce cuáles son las principales proteínas que se ven incrementadas y contribuyen al mayor contenido de aminoácidos en el grano. El objetivo del presente estudio fue caracterizar el perfil de aminoácidos y de las principales fracciones proteínicas de cruza de maíces ACA desarrollados por le INIFAP.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

A. GENERALIDADES DEL MAÍZ

1. Origen

El maíz (*Zea mays* L.) tiene su origen en Centroamérica, específicamente en México, ya que estudios arqueológicos en el Valle de Tehuacán reportan que los primeros cultivos de este cereal ocurrieron alrededor de 7,000 A.C. Algunas teorías basadas en estudios moleculares indican que el maíz es descendiente de la especie *Zea mays* spp. *parviglumis*, comúnmente conocido como Teosinte (Carvalho y col 2018) un “pasto” silvestre que pertenece a la familia de las gramíneas (Benítez-Cardoza 2006).

El maíz fue llevado primeramente a España por los exploradores a finales del siglo X, desde donde se difundió a climas más cálidos del Mediterráneo y de ahí a Europa septentrional. Colón lo descubrió por primera vez en la isla de Cuba en octubre de 1492; los comerciantes Portugueses lo llevaron a África a principios del siglo XVI, mientras que los comerciantes Árabes y Portugueses lo llevaron a Asia, aunque también es probable que se haya introducido mediante comerciantes que utilizaban la ruta de la seda por el Himalaya. En menos de 300 años se estableció como uno de los cultivos más importantes (Sánchez-Ortega y Pérez-Urria 2014).

2. Taxonomía y descripción botánica

El maíz pertenece al reino Plantae, división Magnoliophyta, clase Liliopsida, orden Poales, familia Poaceae, subfamilia Panicoideae, tribu Maydeae, género *Zea* y especies *Zea mays* L. Los estudios publicados reconocen cinco especies del género *Zea*: *Zeadiploperennis*; *Zeaperennis*; *Zealuxurianos*; *Zeanicaraguensis*; y *Zea mays*

L. Las cuatro subespecies reconocidas de *Zea mays* L. son: *Zea mays* L. ssp. *huehuetenangensis*; *Zea mays* L. ssp. *mexicana*; *Zea mays* L. ssp. *parviglumis*; y el maíz cultivado *Zea mays* L. ssp. *mays* (Carvalho y col 2018).

Los cereales en general se adaptan a diversas condiciones climáticas. Sin embargo, específicamente en las plantas de maíz, el rendimiento depende de las condiciones climáticas en las que estas crecen, como lo son la humedad relativa, la temperatura y la disponibilidad de agua (Urango 2018). En el maíz, el sistema radicular puede extenderse de 1.5 a 3 metros de largo. Las raíces son seminales (primarias) y laterales (adventicias), su tallo es cilíndrico, formado por nudos rígidos y entrenudos con interior denso. Las hojas se disponen alternativamente alrededor del tallo y presentan nervaduras paralelas con una raya rígida en el centro, el limbo es largo, ancho y plano con presencia de pelos y lígulas. Las hojas son largas, lanceoladas, alternas y paralelinervias. Se localizan abrazadas al tallo y por el haz demuestra vellosidades. Los extremos de las hojas son muy afilados y cortantes (Carvalho y col 2018).

Las flores del maíz son monoicas en las que las flores masculinas y femeninas se ubican en diferentes inflorescencias en un mismo tallo (Hasanudin y col 2012). La inflorescencia masculina (espiga) se encuentran en la parte superior de la planta y es la que produce polen, mientras que, en las axilas de las hojas nace la inflorescencia femenina, conocida como mazorca, que incluye el eje central o «coronta» y donde se insertan las flores que darán origen a los granos. Estos son de formas y colores muy variables, entre blanco, amarillo, rojo, gris y morado (Fries y Tapia 2007).

3. Estadísticas de producción

En términos de producción global, los cuatro cultivos más importantes son caña de azúcar, trigo, arroz y maíz (Martínez-Romero y Leyva-Galán 2014). De acuerdo con la FAO, la producción mundial de maíz en el año 2022 fue de 1,163,497,383.13 toneladas, siendo Estados Unidos de América el principal país productor que aportó aproximadamente el 30% del maíz producido a nivel mundial, mientras que México ocupó el séptimo lugar con una producción total de 26,625,693 toneladas (Cuadro 1) (FAOSTAT 2024). A nivel nacional, Sinaloa es el principal estado productor de maíz contribuyendo con un 20% del total en el año 2022, seguido de Jalisco y Michoacán que aportaron un 15 y 8%, respectivamente (Cuadro 2) (SIAP 2024).

4. Estructura y composición química del grano de maíz

El grano de maíz es una cariósida ya que cada grano contiene el revestimiento de la semilla, o cubierta seminal, y la semilla, donde se observan también las cuatro estructuras físicas fundamentales del grano: el pericarpio (conocido también como cáscara o salvado), el endospermo, el germen también conocido como embrión y el pedicelo (tejido inerte mediante el cual se unen el grano y el olote) (Figura 1) (FAO 1993).

En cuanto a la composición del grano, el endospermo ocupa entre 82 y 84% de la masa seca del grano entero, seguido del germen (10-12%), pericarpio (5-6%) y pedicelo (1%) (Ai y Jane 2016).

Las tres principales estructuras del grano (pericarpio, germen y endospermo) tienen funciones diferentes. El germen sirve de almacenamiento tanto de nutrientes como de hormonas que son movilizados durante la etapa inicial de germinación.

Cuadro 1. Principales países productores de maíz en el año 2022

País	Producción (Ton)
Estados Unidos de América	348,750,930
China	277,415,553
Brasil	109,420,717
Argentina	59,037,179
Unión Europea	52,970,670
India	33,729,540
México	26,625,693
Ucrania	26,186,930
Sur África	16,474,920
Canadá	14,538,878
Otros	198,346,373

FAOSTAT (2024)

Cuadro 2. Principales estados productores de maíz en México en el año 2022

Estado	Producción (Ton)
Sinaloa	5,309,195.07
Jalisco	3,984,289.04
Michoacán	2,093,142.37
Guanajuato	1,898,924.59
México	1,779,468.40
Chihuahua	1,731,210.97
Guerrero	1,490,519.35
Chiapas	1,379,252.44
Veracruz	1,353,531.25
Otros	5,533,705.82

SIAP (2024)

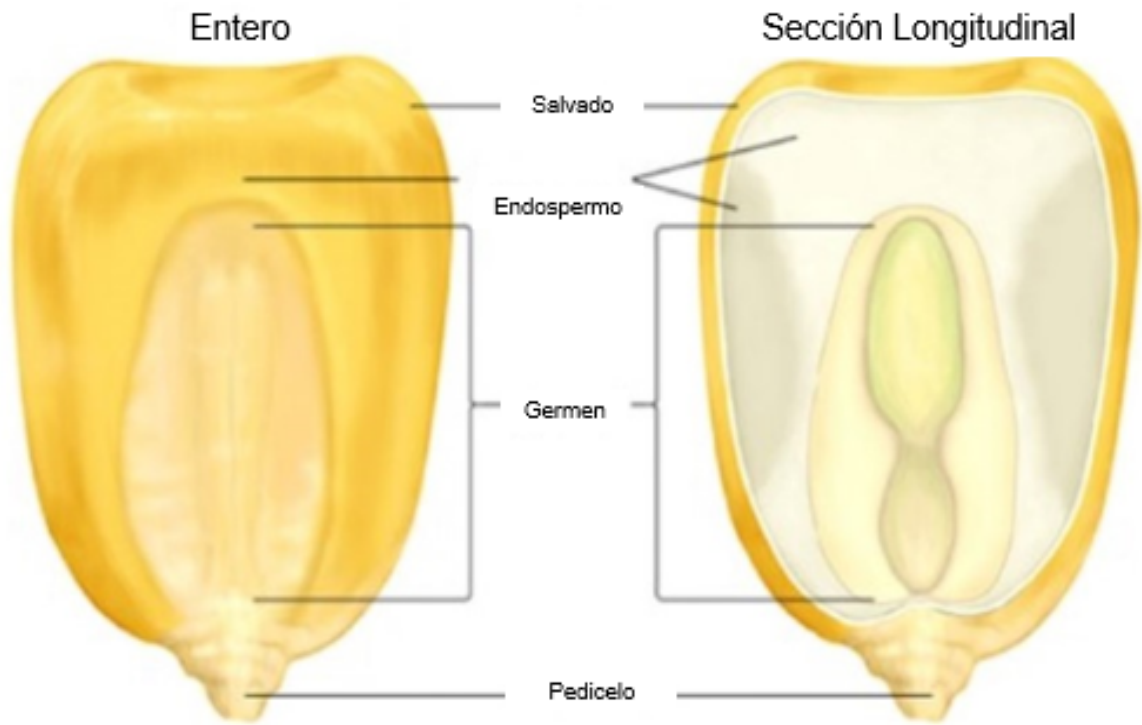


Figura 1. Corte longitudinal del grano de maíz.

Adaptada de Ai y Jane (2016).

Esta estructura, corresponde al primer tejido de reserva del grano de maíz. Por otro lado, las funciones principales del pericarpio son la distribución de agua y nutrientes durante la etapa de germinación. Además, ofrece protección al grano, ya sea de agentes bióticos externos o de la pérdida de humedad. Por último, el endospermo constituye la principal reserva del grano (Ramírez de León 2016).

El pericarpio está dividido en cuatro capas delgadas que son epicarpio, mesocarpio, células cruzadas y células tubulares. La capa más externa que cubre al grano es el epicarpio, el cual está compuesto de células de paredes gruesas. Por otro lado, se conoce como mesocarpio a las capas que están constituidas por pocas células, donde la última capa más externa, es la más gruesa, llegando a ser similar a la capa del epicarpio. Esto a diferencia de las células internas, las cuales son planas y de paredes delgadas. En relación con las células cruzadas, son capas de células delgadas y cuenta con muchos espacios intercelulares. Por último, las células tubulares son capas de células largas paralelas, las cuales no cuentan con ramificaciones (FAO 1993).

En cuanto al endospermo, éste está compuesto por tres tipos de células que son endospermo corneo, endospermo harinoso y la capa de aleurona. Ésta última contiene vitaminas y minerales, así como proteína y aceite. Por otro lado, el endospermo corneo está formado por células que son de forma irregular y alargadas, a diferencia del endospermo harinoso el cual está localizado en la parte central del grano de maíz, formado de células de mayor tamaño en comparación con las demás células que componen el endospermo.

Por otro lado, el germen, que también recibe el nombre de embrión, está conformado por el escutelo y el eje embrionario. El primero, es un órgano que se

encarga de la alimentación del germen en la etapa de germinación. En cambio, el eje embrionario está constituido por una plúmula, conformada de cinco a seis hojas y una radícula.

Existen diferentes factores que pueden afectar tanto la composición dentro del grano como la composición entre las diferentes variedades. Estos factores pueden ser la variedad, la edad de la planta, antecedentes genéticos y la ubicación geográfica. Debido a esto, el análisis nutricional del grano de maíz debe considerarse una cantidad numérica estimada en lugar de una cantidad constante (Nuss y Tanumihardjo 2010).

En general, los granos de maíz son una excelente fuente de carbohidratos, grasas, proteínas e importantes vitaminas y minerales. Además, el maíz también presenta el mayor contenido energético de todos los cereales (3,350 kcal/kg). Casi el 80% de los minerales de un grano se encuentran en el germen, mientras que el endospermo contiene menos del 1%. El germen también contiene vitamina E, la cual es un buen antioxidante (Kaul y col 2019). Aunque el maíz es deficiente en calcio, hierro y ácido fólico, así como vitamina B12 y C, éste otorga muchas de las fibras, vitaminas B y minerales esenciales (Ranum y col 2014)

El almidón y otros polisacáridos, las proteínas y los lípidos se distribuyen de forma heterogénea en el grano de maíz (Cuadro 3) (Ai y Jane 2016). El almidón es el principal constituyente, con un total de 72% bs. En cuanto a los azúcares varían de 1% a 3%, siendo sacarosa el componente principal, mientras que maltosa, glucosa, fructosa y rafinosa se encuentran en cantidades más pequeñas. La fibra cruda constituye aproximadamente el 7% de la composición total del grano.

Cuadro 3. Composición química de las principales partes del grano de maíz

Componente Químico	Pericarpio	Endospermo	Germen
Almidón	7.3	87.6	8.3
Azúcares	0.34	0.62	10.8
Fibra Cruda	86.7	2.7	8.8
Proteína	3.7	8.0	18.4

Los valores están expresados en %. Adaptado de Nuss y Tanumihardjo (2010).

En las variedades comunes de maíz, el porcentaje de fibra insoluble es generalmente del 12%, mientras que la fibra soluble es inferior al 2%. Contienen aproximadamente un 10% de proteína, que se distribuye principalmente entre el endospermo y el germen. La grasa en forma de aceite es el tercer componente nutricional más grande del grano, con un rango de 3.5% a 6% del peso total con un promedio de 4.5% (Nuss y Tanumihardjo 2010).

El endospermo del grano está constituido en un 88% de almidón, 1% de aceite y 8% de proteína, mientras que en el embrión se encuentra un 8% de almidón, 33% de aceite y 18% de proteína (Coutiño-Estrada y col 2008).

B. PROTEINAS DE ALMACENAMIENTO

El contenido promedio de proteínas en el grano de maíz es de 10%. Estas se clasifican en cuatro tipos de acuerdo a su solubilidad: albúminas (solubles en agua), globulinas (solubles en soluciones de sales), prolaminas (solubles en soluciones alcohólicas) y glutelinas (solubles en soluciones alcalinas o ácidas diluidas) (Paredes López y col 2009).

Las prolaminas son las principales proteínas del endospermo de maíz y reciben el nombre de zeínas, mientras que las glutelinas se encuentran en la matriz proteínica de esta misma estructura. Por el contrario, las proteínas del germen son casi en su totalidad albúminas y globulinas (Paredes López y col 2009). Las albúminas y las globulinas regulan y controlan el metabolismo de los granos, mientras que las prolaminas y glutelinas almacenan el nitrógeno necesario para la germinación de las semillas. En términos cuantitativos, las proteínas de grano de maíz están compuestas

mayoritariamente por prolaminas o zeínas (40%), seguido de glutelinas (30%), encontrándose en menor cantidad globulinas y albúminas (5%) (Díaz-Gómez 2017).

1. Prolaminas

Alrededor del 60-70% del total de proteínas en el endospermo corresponden a las prolaminas o zeínas; siendo su principal y única función la de almacenar nitrógeno para la germinación del embrión (Hernández-Espinosa y col 2015). Este tipo de proteínas tienen como función el almacenamiento de azufre, carbono y de nitrógeno, esto con el fin de aportar estos elementos que son de importancia para la semilla cuando está en la etapa de germinación (Prasanna y col 2001). En la fracción de prolaminas, los aminoácidos que se encuentran en mayor proporción son alanina, leucina, glutamato y prolina (Díaz-Gómez 2017).

Se han descrito cuatro tipos de zeínas: α -, β -, γ - y δ -, cada una con diferencias de peso molecular, secuencia de aminoácidos y solubilidad (Figura 2) (Larkins y col 2017). Las α -zeínas son la subfracción de zeínas más abundantes y predominan dos grupos con pesos moleculares de 22 kDa y 19 kDa. Esta subfracción es la de mayor importancia dentro de la fracción de zeínas ya que almacena la cantidad predominante de nitrógeno (Díaz-Gómez 2017); sin embargo, las α -zeínas carecen del aminoácido lisina (Ramírez de León 2016). En cuanto a la subfracción γ -zeína, la segunda más abundante, la banda de mayor acumulación es la γ -zeína de 27 kDa, seguida de las γ -zeínas de 16 kDa, mientras que la menos abundante es la de 50 kDa (Woo y col 2001). Esta fracción es rica en azufre, presenta una región conservada de residuos de cisteína que permite la formación de enlaces disulfuro entre cadenas (Larkins y col 2017).

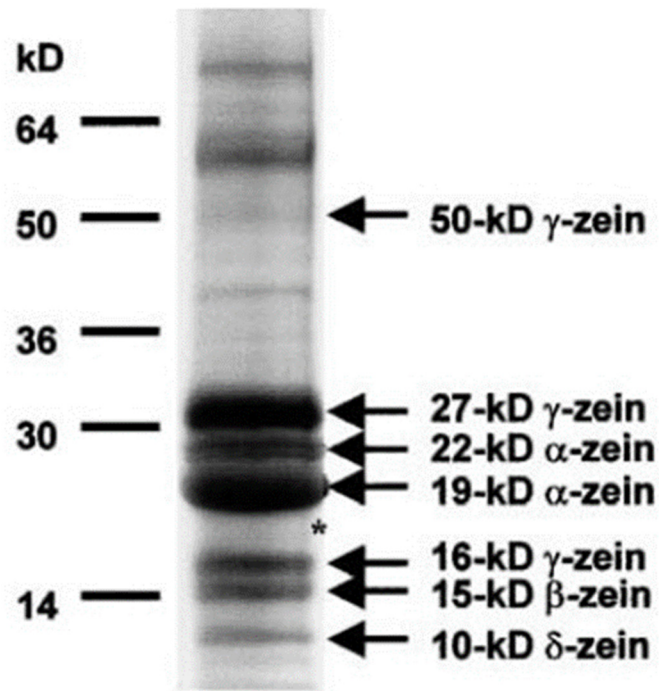


Figura 2. Separación electroforética (SDS-PAGE) de las diferentes fracciones de zeínas. Las diferentes clases y sus respectivos pesos moleculares aparentes se indican a la derecha.

Tomada de Woo y col (2001).

Las dos prolaminas de maíz más pequeñas son ricas en metionina y se conocen como β y δ zeína. La subfracción β -zeína presenta una banda de alrededor de 15 kDa, mientras que dos polipéptidos de 18 y 10 kDa pertenecen a la clase δ -zeína (Coleman y Larkins 1999).

2. Glutelinas

Las glutelinas son proteínas con pesos moleculares de 10, 15, 18 y 27 kDa, las cuales están presentes en los cuerpos proteínicos junto con las zeínas. Su función y composición de aminoácidos es similar a la de las zeínas (Díaz-Gómez 2017). Sin embargo, las glutelinas poseen un mejor balance de aminoácidos en comparación con las zeínas (Ramírez de León 2016). Se han encontrado además glutelinas de 35, 43, 48, 52, 84, 92 y 100 kDa (Yau y col 1999).

3. Albúminas

Las albúminas son solubles en agua y en soluciones salinas muy diluidas. Estas proteínas fueron definidas como un grupo cuando Youle y Huang (1981) aislaron y caracterizaron fracciones de albúminas 2S de semillas de 12 especies. Poseen en general pesos moleculares inferiores a 100 kDa (Linares-González 2014).

En cuanto a su estructura, éstas tienen forma esférica o globular. Algunos componentes de la albumina 2S han presentado actividades biológicas como inhibidores de proteasas y además como proteínas de defensa, aunque se ha encontrado que la principal función es sin duda alguna de reserva (Svendsen y col 1994; Genov y col 1997).

En cuanto a su composición, las albúminas presentan altos contenidos de aminoácidos como glutamato, alanina, glicina y lisina, entre otros; pero un bajo contenido de cisteína, metionina y fenilalanina (Cuadro 4) en comparación con las otras fracciones.

4. Globulinas

Las globulinas contribuyen tanto a la calidad nutricional de los granos como a las propiedades funcionales de éstos (Peralta 2004). En maíz, las globulinas se clasifican en globulina-1 (GLB1), la proteína de almacenamiento más abundante en los embriones, seguida de la globulina-2 (GLB2). Ambas globulinas se degradan rápidamente en las primeras etapas de la germinación de las semillas para proporcionar una fuente de nitrógeno y carbono para el desarrollo de las plántulas. Según su separación mediante SDS-PAGE (Figura 3), los componentes principales de las globulinas del embrión de maíz son polipéptidos de 23, 26, 45 y 63 kDa (Ning y col 2017).

Esta fracción de proteínas contiene altas cantidades de aminoácidos como arginina, ácido glutámico, glutamina, ácido aspártico y asparagina (Kriz 1989; Mouzo y col 2018). La composición de aminoácidos de las globulinas se considera de gran importancia, ya que son proteínas de almacenamiento que suministran nitrógeno para la germinación, pero contienen una baja cantidad de aminoácidos azufrados, lo que puede ser un factor limitante en su valor nutricional (Youle y Anthony 1981; Mouzo y col 2018).

Cuadro 4. Composición de aminoácidos de las fracciones de albúminas, globulinas, prolaminas y glutelinas en el endospermo de maíz.

Aminoácidos ¹		Albúminas	Globulinas	Prolaminas	Glutelinas
Ác. Aspártico	Asp	8.2	8.6	3.6	7.3
Ác. Glutámico	Glu	12.3	11.6	19.2	14.1
Alanina	Ala	11.0	10.4	12.1	8.6
Arginina	Arg	5.3	5.5	1.6	4.2
Cisteína	Cys	0.2	1.2	1.7	1.4
Fenilalanina	Phe	3.3	3.6	3.5	3.3
Glicina	Gly	10.1	11.3	5.2	8.5
Histidina	His	1.9	2.0	1.6	3.5
Isoleucina	Ile	4.4	4.1	2.7	4.2
Leucina	Leu	9.3	8.1	14.6	9.1
Lisina	Lys	5.4	5.0	0.1	4.7
Metionina	Met	1.3	1.2	5.6	1.7
Prolina	Pro	6.9	7.4	12.6	9.6
Serina	Ser	5.6	5.6	5.0	5.2
Tirosina	Tyr	2.5	2.6	4.2	2.8
Treonina	Thr	5.0	4.9	2.9	4.3
Valina	Val	7.1	7.0	3.8	7.4

¹Valores expresados en g/ 100 g de proteína.

Sodek y Wilson (1971)

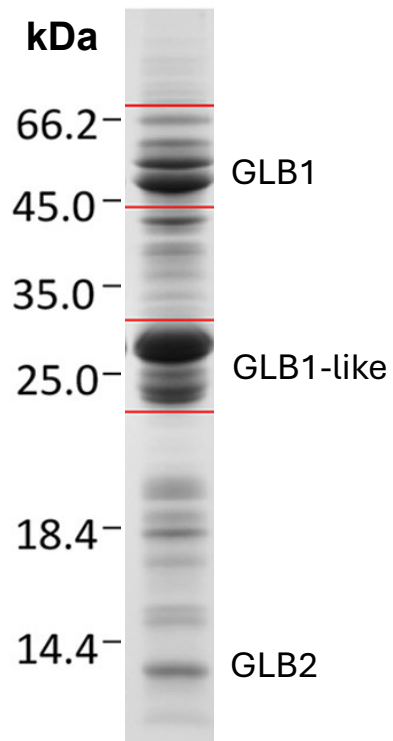


Figura 3. Perfil electroforético (SDS-PAGE) de globulinas del embrión de maíz. Los pesos moleculares de marcadores preteñidos se muestran a la izquierda. La identidad de las principales proteínas se indica a la derecha.

Tomada de Ning y col (2017).

C. CALIDAD PROTEÍNICA

La calidad de la proteína depende de la proporción de aminoácidos indispensables que contiene en relación a los requerimientos de las personas, así como de la biodisponibilidad de los mismos, término que se refiere a la capacidad para incorporar los aminoácidos de la dieta a las estructuras corporales y que puede verse afectado tanto por una mala digestión como por una absorción incompleta (Badui Dergal 2006). Entre los factores que determinan la calidad de la proteína se encuentran la digestibilidad, la disponibilidad y el patrón de aminoácidos (Stipanuk y Caudill 2019).

El factor de mayor importancia es el patrón de aminoácidos, ya que usualmente la calidad de la proteína es mayor mientras más cerca esté la proteína de cubrir los requerimientos diarios de aminoácidos. Con el patrón de aminoácidos se puede determinar el valor biológico de una proteína, tomando en cuenta el aminoácido esencial que se encuentre en una menor concentración tomando en cuenta los requerimientos diarios, siendo este el aminoácido limitante (Stipanuk y Caudill 2018). Asimismo, la determinación de la calificación química es posible a través del patrón de aminoácidos. La calificación química es igualmente una manera de determinar la calidad de una proteína (Reyes-Moreno y col 2014).

Otro factor que influye en la determinación de la calidad proteínica es la relación de eficiencia de proteína calculada (c-PER), la cual es una técnica *in vitro* que relaciona la concentración de aminoácidos esenciales de la proteína problema con los aminoácidos esenciales de la caseína, la cual es utilizada como una proteína de referencia (Ayala-Rodríguez y col 2009).

Sin embargo, la calidad de las proteínas del maíz es inferior ya que los aminoácidos esenciales contenidos en éstas no son suficientes para los requerimientos diarios.

Dentro de los aminoácidos esenciales en el maíz, el aminoácido limitante de mayor importancia nutricional es lisina, seguido de triptófano (Prasanna y col 2001). Debido a la deficiencia en estos dos aminoácidos esenciales de gran importancia nutricional, las personas que llevan una dieta rica en maíz pueden presentar una condición que se conoce como desnutrición húmeda. Esta condición se produce debido al consumo de proteínas con baja calidad, que aunque se cumpla con el requerimiento calórico diario, no se cumple con el requerimiento de aminoácidos (Reddy y col 2012).

Con el fin de conocer la calidad de las proteínas del maíz se ha determinado el patrón de aminoácidos esenciales, encontrando que las prolaminas (zeínas) son deficientes en lisina y triptófano. Otro aspecto importante de la calidad de la proteína del maíz es su alto contenido de leucina y bajo contenido de isoleucina, desbalance que provoca que el valor biológico de la proteína disminuya (Paredes López y col 2009).

La deficiencia de lisina y triptófano en la proteína del maíz se evidenció desde hace varias décadas. El descubrimiento del gen *opaco-2* y su asociación con un mayor contenido de lisina y triptófano en el maíz ha permitido el desarrollo de materiales como el maíz de calidad proteínica (QPM, por sus siglas en inglés, Quality Protein Maize), el cual presenta el doble de contenido de lisina y triptófano comparado con el maíz normal. Este maíz fue creado por la introgresión de múltiples modificadores *o2* (*mo2*), disminuyendo las características negativas del grano *opaco2* y manteniendo la calidad proteínica (Vasal 2000; Prasanna y col 2001). El valor biológico de las proteínas de los maíces QPM y *opaco2* es del 90% comparado con un 40% en el maíz normal. Esto es posible debido a la reducción de los niveles de prolaminas (zeínas) en QPM, lo que es compensado con el incremento en proteínas de tipo no zeínas las cuales son ricas en

los aminoácidos lisina y triptófano y presentan menores cantidades de leucina comparado con el maíz normal (Cuadro 5).

La utilización biológica de una proteína no solo depende de su composición de aminoácidos sino también de su digestibilidad. Su estructura puede influir en la disponibilidad de los aminoácidos que ésta contiene. Las zeínas, son proteínas hidrofóbicas, agregadas en cuerpos proteínicos insolubles en agua y se ha demostrado que son proteínas de baja digestibilidad por proteasas como pepsina y tripsina/quimotripsina en harinas de maíz cocinado y sin cocinar. Es por ello que maíces con bajos contenidos de esta fracción de proteínas y un aumento en proteínas de tipo no zeínas presentan mejor digestibilidad, como es el caso de la mutante *opaco-2* y maíz QPM (Kriz y Larkins 2009).

D. MAÍZ CON ALTO CONTENIDO DE ACEITE

1. Desarrollo

El maíz es una fuente importante de energía en la nutrición humana y animal por su alto contenido de carbohidratos. Un maíz normal contiene además aproximadamente un 10% de proteínas y un 4.5% de aceite, acumulándose este último principalmente en el germen (Pajic 2007).

La necesidad de maíces especializados para aplicaciones industriales dio lugar a proyectos dirigidos al aumento del contenido de aceite en el grano (Pajic 2007). El experimento de selección a largo plazo de aceite y proteína en maíz fue iniciado en la Universidad de Illinois en 1896 por C. G. Hopkins. El objetivo inicial de dicho trabajo fue determinar si la composición química del grano de maíz podía cambiarse mediante selección y ha continuado por más de 100 años (Dudley y Lambert 2004).

Cuadro 5. Contenido de proteína y aminoácidos en maíz normal, *opaco2* y maíz de calidad proteínica (QPM).

	Tipo de Maíz		
	Normal	Opaco-2	QPM
Contenido total de proteína (%)	9.1	8.9	9.8
Fracciones (%)			
Albumina + Globulina	6.2	20.6	15.5
Prolaminas	39.2	8.1	10.4
Glutelinas	22.7	42.2	36.6
Aminoácidos (g/100 g proteína)			
Arginina	5.6	6.62	6.73
Histidina	3.07	3.48	3.77
Isoleucina	3.76	3.37	3.26
Leucina	12.52	8.98	9.28
Lisina	3.40	4.49	4.08
Metionina	1.73	1.57	1.73
Fenilalanina	5.16	4.38	4.18
Treonina	3.84	3.59	3.67
Triptófano	0.59	0.73	0.75
Valina	5.05	5.39	5.30

Adaptada de Serna-Saldívar y Rooney (1994)

A través de los programas de mejoramiento genético de maíz realizados por la Universidad de Illinois se logró incrementar el contenido de aceite en el grano en niveles que van desde 6 hasta 8%. Este incremento se debió al aumento logrado en la proporción del germen en el grano por lo que también se obtuvo un incremento de 0.38% de proteína cruda por cada unidad de incremento en aceite (Elliott y col 1993).

El programa de mejoramiento de maíz con alto contenido de aceite, iniciado a finales de la década de 1940, desarrolló varias líneas endogámicas con alto contenido de aceite, las cuales no fueron liberadas debido a la falta de un mercado para el producto (Lambert 2001). En otro estudio, la concentración de aceite del maíz Illinois High Oil (IHO) alcanzó el 20.37% después de 100 generaciones de selección (Dudley y Lambert 2004). En otro experimento de selección de Illinois el porcentaje de aceite en la variedad de polinización abierta Burr's White aumentó en un 22% después de 90 generaciones de selección. En Alexho Synthetic, el porcentaje de aceite llegó a 22% en solo 25 generaciones (Paliwal y col 2001).

En cuanto a la calidad nutricional del maíz en México, el gobierno mostró iniciativa y compromiso en la promoción y difusión de variedades e híbridos de maíz QPM, resultando en un acuerdo de cooperación con el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) (Lambert 2001).

Sin embargo, la falta de una política pública no ha permitido el uso de este tipo de maíces. A su vez, el Programa de Mejoramiento Genético de Maíz del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) ha trabajado durante varias décadas en el desarrollo de híbridos de maíz ACA, QPM y hasta pigmentados, con el objetivo de satisfacer la demanda industrial y ofrecer alternativas para el desarrollo de productos alimenticios con alto valor agregado (Vázquez-Carrillo

y col 2018). Se han realizado diversos trabajos en los híbridos de maíz ACA de INIFAP (Vázquez-Carrillo y col 2014) (Preciado-Ortiz y col 2013) con el objetivo de evaluar las propiedades físicas del grano, el contenido de aceite, el perfil de ácidos grasos, capacidad antioxidante y otras propiedades. Dentro de los resultados obtenidos, el contenido de aceite en los granos aumentó y mostraron una correlación con el tamaño del germen.

2. Importancia y usos

El consumo directo de variedades ACA podría ejercer efectos nutricionales positivos en humanos (Zhang y col 2015). El aumento del contenido de aceite del grano mejora aún más su valor nutricional, debido en gran parte al aumento de la energía metabolizable. Además, el maíz con alto contenido de aceite generalmente tiene más proteínas, lisina y carotenoides que el maíz convencional (Val y col 2009).

Un componente importante de los híbridos de maíz con alto contenido de aceite son los niveles de vitamina E o tocoferol, lo que ayuda a proteger los enlaces químicos dobles de la oxidación en el aceite de maíz. Dado que la vitamina E es soluble en aceite y previene la autooxidación, un aumento en el contenido de vitamina E podría aumentar la vida útil del aceite de maíz. Asimismo, la vitamina E es un componente esencial en la dieta animal y está tomando gran relevancia en la dieta humana (Lambert 2001). De igual manera, los híbridos de maíz con alto contenido de aceite suelen tener una mayor proporción de pigmentos amarillos (carotenoides, xantofilas, etc.), que son benéficos en la alimentación de las aves de corral y desempeñan importantes funciones biológicas en la humanidad (Singh y col 2014). Además, estos maíces presentan ciertas ventajas en la nutrición de animales y humanos, así como

en el procesamiento industrial debido a que a partir de ellos se obtienen mayores cantidades de aceite (Pajić 2007).

Los maíces con alto contenido de aceite se utilizan principalmente en la industria aceitera (Nora 1999), aunque también ha aumentado su producción para la alimentación animal, ya que tienen más energía que el maíz tradicional y puede reemplazar algunas fuentes de grasas y proteínas de mayor precio (Sreckov y col 2011).

Debido a que el valor energético del aceite es más alto que el del almidón, este tipo de híbrido representa un uso potencial para la industria de alimentos balanceados para incrementar el aporte calórico de aves, cerdos, vacas lecheras y ovinos, y para obtener muchos otros productos a través de diversos procesos industriales (Lambert 2001).

De igual manera se han realizado estudios para implementar el uso de estos maíces ACA en la elaboración de tortilla, evaluando las propiedades físicas, térmicas y reológicas de grano, masa y tortillas. En este sentido, Vázquez-Carrillo y col (2014) analizaron 3 híbridos ACA, uno QPM, un maíz amarillo y 3 híbridos comerciales encontrando que uno de los maíces ACA fue el que presentó el mayor rendimiento del grano y de manera general todos estos maíces presentaron buenas características para la industria de masa fresca en la elaboración de tortillas, reteniendo un mayor contenido de agua y mostrando la mayor suavidad en las tortillas después de 24 h de almacenamiento. Esto debido al mayor contenido de aceite en estos maíces y la formación del complejo amilosa-lípidos el cual inhibe la retrogradación, lo que da como resultado tortillas menos duras (Vázquez-Carrillo y col 2014).

3. Composición química

El maíz con alto contenido de aceite se diferencia del maíz normal con respecto a la anatomía y composición del grano (Singh y col 2014). Un maíz ACA tiene mayor tamaño de germen, lo cual se refleja en un mayor contenido de aceite, aminoácidos y proteínas (Cuadro 6) (Han y col 1987; Tongming 2001).

El contenido de aceite en maíces oscila normalmente alrededor del 4% para el maíz convencional y entre 6 a 13.0% para el maíz con alto contenido de aceite (Singh y col 2014). Conforme aumenta la concentración de aceite generalmente aumenta el contenido de proteína cruda, aminoácidos y energía bruta de los maíces (Han y col 1987). Los niveles de prolaminas o zeínas son un fuerte indicador de la calidad de las proteínas del maíz en general, ya que proporcionan la mitad del nitrógeno del grano (Nuss y Tanumihardjo 2010). Sin embargo, la concentración de proteínas en los híbridos con alto contenido de aceite es más alta y la calidad de las proteínas mejora debido al mayor tamaño del germen en comparación con el maíz normal. El grano de un maíz ACA tiene aproximadamente 1-2% más proteína total y contiene niveles más altos de aminoácidos esenciales como lisina, treonina, metionina, glicina, arginina, treonina, serina, cisteína y triptófano (Cuadro 7) (Song y col 2003; Thomison y col 2003; Singh y col 2014). Sin embargo, durante el mejoramiento genético con énfasis en la mayor producción de aceite, el contenido de almidón se puede reducir (Vázquez-Carrillo y col 2014), observándose que el aumento de lípidos y proteína tiene un efecto contrario en la cantidad de almidón de los granos de maíz (Chan-Chan y col 2021).

Cuadro 6. Composición química y contenido calórico de maíces con alto contenido de aceite en relación con un maíz convencional

Componente	Maíz convencional	Maíz ACA 1	Maíz ACA 2	Maíz ACA 3	Maíz ACA 4
Proteína cruda (%)	8.6	9.6	8.9	10.3	11.1
Lisina total (%)	0.24	0.26	0.25	0.28	0.30
Lisina (% de proteína)	2.79	2.71	2.81	2.72	2.70
Aceite (%)	4.3	6.0	8.5	11.3	13.0
Energía bruta (kcal/kg)	3,997	4,222	4,324	4,482	4,669

Los valores se presentan con base en el 10% de humedad. Adaptado de Han y col (1987).

Cuadro 7. Contenido de proteína y aminoácidos de un maíz normal y un maíz con alto contenido de aceite (ACA).

Característica	Maíz Normal	Maíz ACA
Contenido de proteína (%)	9.27	11.26
Contenido de aminoácido (%)		
Ácido aspártico	0.63	0.73
Treonina	0.31	0.37
Serina	0.36	0.43
Ácido glutámico	1.72	2.04
Glicina	0.36	0.44
Alanina	0.74	1.00
Valina	0.44	0.82
Isoleucina	0.35	0.38
Leucina	1.21	1.20
Tirosina	0.41	0.29
Fenilalanina	0.51	0.49
Lisina	0.31	0.36
Histidina	0.31	0.41
Arginina	0.45	0.54
Prolina	0.98	1.16
Cisteína	0.26	0.29
Metionina	0.16	0.16
Triptófano	0.069	0.078

Adaptado de Song y col (2003)

E. PROTEÓMICA

Las proteínas realizan una gran cantidad de funciones desde reacciones bioquímicas, señalización, transporte y soporte estructural, entre otras. Al conjunto de proteínas presentes en los fluidos biológicos, célula y tejidos se le conoce como proteoma, el cual refleja el estado funcional de un sistema biológico (Sinha y Mann 2020).

La proteómica, es el estudio cuantitativo del proteoma; el cual, también se puede definir como la caracterización a gran escala de todas las proteínas de una célula, tejido u organismo, siendo su principal objetivo tener una visión global e integrada de todas ellas, en lugar de su estudio en particular (Graves y Haystead 2002). El estudio del proteoma provee una poderosa herramienta para visualizar y comparar mezclas complejas de proteínas y obtener una gran cantidad de información acerca de su función en alguna respuesta biológica específica.

El desarrollo de tecnología ha sido crítico para el avance de la proteómica: el surgimiento de estrategias para la secuenciación de péptidos mediante espectrometría de masas (MS, del inglés mass spectrometry), incluido el desarrollo de técnicas de ionización suave, como la ionización por electrospray (ESI) y desorción/ionización láser asistida por una matriz (MALDI), así como la automatización de la cromatografía líquida (LC); juntas, estas tecnologías permiten la identificación de péptidos a gran velocidad y con una buena sensibilidad en muestras biológicas complejas (Mallick y Kuster 2010).

La proteómica comparativa ayuda en la identificación de cambios en la abundancia de proteínas durante procesos fisiológicos. Esto permite la identificación de proteínas que son específicamente relevantes para el control de las vías

metabólicas responsables de diferentes atributos como lo son los componentes nutricionales.

1. Proteómica en maíz

En maíz se han realizado diversos estudios proteómicos de diferentes partes de la planta como lo son hojas (Porubleva y col 2001), cloroplastos (Lonosky y col 2004), mitocondria (Hochholdinger y col 2004), raíz (Sauer y col 2006) y endospermo (Méchin y col 2004; Salazar-Salas y col 2014), así como en respuesta a estrés abiótico (Riccardi y col 1998) y biótico (Liu y col 2021).

Méchin y col (2004) reportaron el proteoma del endospermo de maíz mediante el uso de técnicas de separación de proteínas como la electroforesis bidimensional de endospermos de maíz a los 14 DDP (días después de la polinización) y su posterior identificación por cromatografía de líquidos acoplado a espectrometría de masas en tándem (LC/MS-MS). Estos autores realizaron la identificación de 496 proteínas las cuales corresponden a proteínas de diferentes compartimentos celulares como mitocondria, amiloplastos, entre otros; a su vez estas proteínas presentaron diferentes actividades como metabólica, de síntesis, diferenciación o muerte celular, entre otras. Este mapa de endospermo es una herramienta importante para conocer todas las proteínas del endospermo y poder realizar tanto análisis transcriptómicos como metabolómicos.

En cuanto a los maíces ACA, existen pocos estudios proteómicos en estos maíces especializados. Liu y col (2009) realizaron un análisis de expresión diferencial e identificación de proteínas de germen de maíz con alto contenido de aceite en desarrollo en comparación con un maíz normal. Los autores encontraron 83 proteínas

expresadas diferencialmente entre el maíz normal y el ACA, logrando identificar 27 de ellas. Estas proteínas están involucradas en el metabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos, así como en respuesta al estrés y estructurales de citoesqueleto. Dentro de las proteínas del metabolismo de lípidos identificaron a una probable Enoyl-ACP reductasa, una probable estearoyl-ACP desaturasa y probable acetil-CoA C-acyl-transferasa, las cuales presentaron mayor abundancia en los maíces ACA con respecto al maíz normal. Además, realizaron una comparación en el nivel de expresión de genes para proteínas identificadas y que están relacionadas con el metabolismo de ácidos grasos, encontrando resultados similares a nivel transcriptómico, es decir, una mayor expresión de genes relacionados con el metabolismo de lípidos en maíces ACA, lo que pudiera ayudar en el entendimiento de las bases bioquímicas y moleculares del incremento de aceite en los maíces ACA.

A la fecha son pocos los trabajos realizados en estos maíces especializados, la mayoría de ellos relacionados al incremento de aceite en el grano y la caracterización de éstos a nivel agronómico. Sin embargo, es importante caracterizar estos maíces a nivel de perfil de proteínas ya que se ha reportado un incremento en fracciones con mejor calidad nutricional.

IV. JUSTIFICACIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) es de gran importancia en México debido a que es el cereal de mayor consumo en la población; sin embargo, el maíz normal posee un bajo contenido de aceite, así como una baja calidad proteínica debido a que es deficiente en aminoácidos esenciales como lisina y triptófano. Por lo anterior, se han realizado estudios para obtener maíces con un valor especial, biológico o económico, como es el caso del maíz con alto contenido de aceite. Se han logrado obtener granos de maíz con un contenido de aceite de 6 a 22%, incrementando a su vez el contenido de aminoácidos y proteínas. En México, INIFAP ha desarrollado maíces con alto contenido de aceite, pero no han sido caracterizados en cuanto a sus fracciones proteínicas y su composición, por lo que es de gran interés caracterizar los perfiles de las proteínas y evaluar su calidad con el fin de conocer su potencialidad como una buena fuente de aminoácidos, y como factor de selección en el desarrollo de maíces híbridos ACA competitivos que proporcionen mayores beneficios a los consumidores.

V. HIPOTESIS

Las fracciones proteicas de maíces con alto contenido de aceite poseen un mayor contenido de proteínas ricas en aminoácidos esenciales como lisina y triptófano con respecto a un maíz normal.

VI. OBJETIVOS

A. OBJETIVO GENERAL

Determinar el perfil de aminoácidos y de fracciones proteicas de maíces con alto contenido de aceite.

B. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar la composición de aminoácidos de cuatro maíces con alto contenido de aceite (ACA) y uno comercial como referencia.
- Evaluar parámetros de calidad proteínica (digestibilidad in vitro, c-PER, CQ, VB) en maíces ACA y un híbrido comercial.
- Obtener fracciones proteicas (Albúminas, Globulinas, Prolaminas y Glutelinas) de los maíces ACA y comercial.
- Caracterizar el perfil de las fracciones proteicas de los maíces estudiados.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. MATERIALES

Se utilizaron cuatro cruces de maíces con alto contenido de aceite, dos de grano amarillo (PAN157 x PAB218 y CML451/CML486 x PAN133) y dos de grano blanco (PBN85 x PBB183 y PNB1 x PBN84), así como un híbrido comercial blanco (Armadillo Asgrow©) como referencia. Estos materiales fueron cultivados en el campo experimental Valle del Fuerte del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) durante el ciclo otoño-invierno 2019-2020, utilizando las condiciones establecidas en la agenda técnica agrícola de Sinaloa (INIFAP 2017). Se cosecharon granos en estado maduro y humedad promedio del 14%, los cuales fueron proporcionados por el MC. Luis Alberto Peinado Fuentes.

B. MÉTODOS

1. Contenido de humedad

Se determinó de acuerdo al método 925.09B de la AOAC (1999). Se midió la pérdida de humedad de la muestra (2 g) después de someterse a calentamiento durante 12 h a 70 °C y 2 h a 130 °C en estufa con circulación de aire forzado modelo DX402C (Yamato Scientific, Japón).

2. Contenido de proteína total

Se utilizó el método 960.52 de la AOAC (1999) para la determinación de nitrógeno mediante un sistema Kjeltex (modelo 1009 y 1002, Tecator, Suecia). La muestra (0.2 g) se sometió a digestión con 5 mL de ácido sulfúrico y catalizador de selenio a una temperatura de 200 °C. La mezcla se diluyó con 10 mL de agua, se destiló y el destilado

se recibió en disoluciones de NaOH al 40% y ácido bórico al 4 % con indicador rojo de metilo. Las muestras se titularon con una solución valorada de HCl 0.1 N y el contenido de proteína cruda se calculó empleando la siguiente ecuación:

$$\% = \frac{(\text{ml HCl utilizados})(\text{Normalidad HCl})(\text{Factor 6.25})(\text{Meq. N})}{\text{g muestra}} \times 100$$

Todos los análisis se realizaron por triplicado.

3. Contenido de almidón

El contenido de almidón total se determinó con el kit K-TSHK (Megazyme, Irlanda). Se pesaron 100 mg de harina de los maíces ACA y el híbrido comercial, se añadieron 5 ml de etanol (80% v/v) y las mezclas se incubaron por 5 min (80-85°C), se mezclaron y se añadieron otros 5 mL de etanol (80% v/v). Las muestras se centrifugaron a 1,800 g durante 10 min y se descartó el sobrenadante. La pastilla se lavó con 10 mL de etanol al 80% y el sobrenadante se descartó después de centrifugar (1800 g, 10 min). Se añadieron 3 mL de α -amilasa, se incubaron las muestras durante 6 min en agua hirviendo, agitando cada 2 min. Los tubos se dejaron enfriar en baño maría a 50 °C; posteriormente se añadieron 0.1 ml de amiloglucosidasa, mezclando bien la solución y dejando en baño maría a 50 °C durante 30 min. Posteriormente se aforó la solución a 100 mL, se tomaron 10 mL, se centrifugó a 1,620 g durante 10 min, se tomó 1 mL de muestra y se aforó a 10 mL. Se preparó un blanco con 2 mL de agua destilada + 100 uL de amortiguador de KOH 2M + 100 uL de una solución de NADP⁺/ATP. Por otro lado, la misma mezcla se combinó con 50 uL de muestra y se midió la absorbancia de ambas a 340 nm al tiempo cero (A1); posteriormente se agregaron a la muestra 20 μ L de una solución con hexoquinasa (HK) y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH)

y se leyó la absorbancia nuevamente después de 10 min (A2) hasta no observar variación en la misma. Se calculó la diferencia de absorbancia (A2-A1) entre el blanco y la muestra (ΔA_{D-Glu}). El contenido de almidón total se calculó con la siguiente formula:

$$C = \frac{V * PM}{\varepsilon x d x v} * \frac{162}{180} * \Delta AD - Glu \left[\frac{g}{L} \right]$$

En donde:

V = Volumen final [ml]

PM = Peso molecular de D-glucose [g/mol]

ε = Coeficiente de extinción del NADPH a 340 nm = 6300 [l x mol⁻¹ x cm⁻¹]

d = longitud de la celda [cm]

v = volumen de la muestra [mL].

4. Contenido de grasas totales

El contenido de grasa total se determinó por el método 920.39C de la AOAC (1999). Las muestras de harina (1.5 g) se colocaron en papel filtro #40, se introdujeron en dedales de extracción que se colocaron en un equipo Soxhlet (System HT 1043 Extraction Unit, Tecator, Suecia). La extracción se realizó durante 4 h con éter de petróleo que fue recolectado en matraces (previamente puestos a peso constante). El éter de los matraces se evaporó y el contenido de grasa se calculó por diferencia de peso de los matraces con la siguiente formula:

$$\%grasas = \frac{\text{Peso final del matraz} - \text{Peso inicial del matraz}}{\text{Peso de la muestra}} x 100$$

Los resultados se reportaron en % de grasa en base seca, y el análisis se realizó por triplicado.

5. Composición de aminoácidos

El análisis de aminoácidos se realizó mediante un servicio externo proporcionado por los laboratorios químicos de la estación experimental agrícola de la Universidad de Missouri-Columbia (<http://www.aescl.missouri.edu>). Se utilizaron 2 g de harina y la determinación de la composición de aminoácidos se realizó mediante un método oficial 982.30E de la AOAC (2006), el cual utiliza cromatografía de intercambio catiónico acoplado con derivatización y cuantificación con ninhidrina.

6. Caracterización del perfil de proteínas de almacenamiento

a. Extracción de proteínas

Se obtuvieron harinas de los granos maduros de los cinco maíces utilizando un molino de bolas MM40 (Retsch, Haan, Alemania). La harina obtenida se desgrasó con hexano en una proporción 1:10 (p/v). Las fracciones de proteínas fueron extraídas secuencialmente de la harina desgrasada utilizando el protocolo de solubilidad diferencial de Laundry y Moureau (Paulis y col 1975; Malumba y col 2008) con algunas modificaciones. Se añadió agua desionizada a la harina en una proporción 1:10 (p/v), se mezcló durante 2 h en un agitador de plataforma (Varimix, Thermolyne, Dubuque, IA) y posteriormente se centrifugó a 16,000 g a 4 °C durante 30 min. El sobrenadante recuperado correspondió a la fracción de albúminas (Landry y Moureaux 1980; Parris y col 2006; Malumba y col 2008). A la pastilla obtenida se le añadió el amortiguador de extracción I (NaCl 0.5 M pH 7) en una proporción 1:10 (p/v), se mezcló y centrifugó

bajo las mismas condiciones que en la extracción de albúminas. En este caso, el sobrenadante correspondió a la fracción de globulinas. Posteriormente, a la pastilla se le añadió el amortiguador de extracción II (etanol al 70%) en una proporción de 1:10 (p/v), se mezcló durante 1 h en un Varimix (Thermolyne, Dubuque, IA) y se centrifugó a 16,000 g a 4 °C durante 30 min. El sobrenadante recuperado se tomó como la fracción de prolaminas (Paulis y col 1975; Malumba y col 2008). Finalmente, se añadió el amortiguador de extracción III ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 0.1 M pH 10) a la pastilla en una proporción de 1:10 (p/v), se mezcló durante 40 min en un Varimix (Thermolyne) y se centrifugó a 16,000 g durante 30 min a 4 °C. El sobrenadante se etiquetó como la fracción de glutelinas (Malumba y col 2008).

b. Cuantificación de proteínas

La concentración de las diferentes fracciones de proteínas se determinó colorimétricamente utilizando el método de Bradford para albúminas, globulinas y glutelinas (Bradford 1976), mientras que la fracción de prolaminas se cuantificó con el método del ácido bicinconínico (BCA) (Brown y col 1989). En todos los casos se utilizó albúmina de suero bovino (BSA) como estándar en la construcción de la curva de calibración. La cuantificación se realizó por triplicado.

c. Digestibilidad proteínica *in vitro* (DPiV)

Se utilizó el método de caída de pH descrito por Hsu y col (1977) con ligeras modificaciones. Se utilizó una solución de enzimas tripsina y pancreatina para la hidrólisis de proteínas. Se prepararon 50 mL de suspensión de proteínas en agua destilada (6.25 mg de proteína/mL), se ajustó a pH 8 con una solución de NaOH, y se

colocó en agitación en baño maría a 37 °C. Después, se agregó una alícuota de 5 mL de solución enzimática a la suspensión proteica que se mantuvo a 37 °C en baño maría. La disminución del pH fue medida después de la adición de la solución enzimática a los 10 min mediante un potenciómetro digital. El porcentaje de digestibilidad proteínica *in vitro* (% de Dig) se calculó empleando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de Dig} = 93.1359 (1 - e^{-3.4138(8-pH)})$$

d. Calificación química

La calificación química (CQ) se calculó dividiendo el contenido del aminoácido esencial limitante en la muestra por el contenido del mismo aminoácido en la mezcla estándar de referencia de aminoácidos. El valor se calculó utilizando el patrón de puntuación de aminoácidos de la FAO para niños en edad preescolar (FAO/OMS, 1991).

$$CQ = (\text{Contenido del AAE} / \text{RAAER más limitante}) \times 100$$

En donde CQ es la calificación química; AAE es el aminoácido esencial y RAAER es el requerimiento de aminoácido esencial recomendado.

e. Relación de eficiencia proteica calculada (c-PER) y valor biológico (VB)

La relación de eficiencia proteica calculada (c-PER) se evaluó según lo descrito por Satterlee y col (1982) y la AOAC (1999). Este procedimiento se basa en la digestibilidad de la proteína *in vitro* (IVPD) y la composición de aminoácidos esenciales (AAE). A su vez, se realizó el cálculo de c-PER₁₀ como se describe por Chan-Chan y col (2021) utilizando valores de composición de aminoácidos y la ecuación descrita por Lee y col (1978):

$$c\text{-PER}_{10} = 0.06320 [X_{10}] - 0.1539$$

En donde, X_{10} es la suma de los aminoácidos treonina, valina, metionina, isoleucina, leucina, fenilalanina, lisina, histidina, arginina y triptófano (g/100 g de proteína).

El valor biológico fue calculado de acuerdo con Morup y Olesen (1976) mediante la siguiente ecuación:

$$VB = 10^{2.15} \times \text{Lys}^{0.41} \times (\text{Phe} + \text{Tyr})^{0.60} \times (\text{Met} + \text{Cys})^{0.77} \times \text{Thr}^{2.4} \times \text{Trp}^{0.21}$$

En donde cada símbolo de aminoácido representa la relación entre el porcentaje del aminoácido respecto al patrón de referencia de la FAO.

f. Separación de proteínas por electroforesis en geles de poliacrilamida-SDS (SDS-PAGE)

La separación de proteínas se realizó de acuerdo con la metodología descrita por Laemmli (1970) con ligeras modificaciones. Extractos de proteínas de las fracciones de albúminas y globulinas se mezclaron con amortiguador de carga [Tris-HCl 1M pH 6.8, SDS 20% (p/v), glicerol 25% (v/v), 2-mercaptoetanol 0.15% (v/v), azul de bromofenol 0.5%] y la separación se realizó en geles de poliacrilamida al 12.5% (p/v) utilizando una unidad electroforética vertical SG-170 (C.B.S. Scientific, San Diego, CA, EUA) y una fuente de poder EC600 (Thermo EC, Maltham, MA, EUA). Por otro lado, las fracciones de prolaminas y glutelinas se separaron en geles de poliacrilamida al 15% (p/v) utilizando una unidad electroforética vertical MP3 (Bio Red, Hercules, CA, EUA) y la misma fuente de poder. En el caso de albúminas y globulinas, la separación se llevó a cabo durante 40 min a 70 volts, seguido de 8 h a 100 V, mientras que la separación de prolaminas y glutelinas se llevó a cabo por 2 h a 100 V. La separación electroforética de las cuatro fracciones se llevó a cabo por triplicado.

Las proteínas se visualizaron por tinción con una solución de azul de Coomassie [Azul brillante de Coomassie R-250 0.5% (p/v), metanol 40% (v/v), ácido acético 10% (v/v)] y las imágenes de los geles fueron adquiridas con un sistema de fotodocumentación XRS (Bio-Rad, Hércules, CA, EUA). El contenido de cada una de las proteínas en las diferentes subfracciones se estimó densitométricamente por medio del programa Image Lab (BioRad), para lo cual se seleccionó la misma área/volumen en cada una de las bandas, tomando como referencia la de mayor intensidad y volumen.

g. Identificación de proteínas por espectrometría de masas

La identificación de las proteínas se realizó por cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) como se describe por Salazar-Salas y col (2017). Primeramente, las bandas de proteínas expresadas diferencialmente se recuperaron del gel utilizando un bisturí. Las muestras fueron lavadas con acetonitrilo, se secaron al vacío y se incubaron con ditioneitol (DTT) 10 mM en bicarbonato de amonio 0.1 M (NH_4HCO_3) durante 30 min a 56 °C. Posteriormente se les adicionó iodoacetamida 50 mM en NH_4HCO_3 0.1 M y se incubaron por 30 min a temperatura ambiente. Los geles se lavaron nuevamente con NH_4HCO_3 0.1 M y secaron al vacío; se rehidrataron con una solución de digestión [5 μL de una solución de tripsina (0.1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, Promega, Madison, WI, EUA) más 40 μL de NH_4HCO_3 50 mM] y se incubaron a 37 °C durante 18 h aproximadamente. Los péptidos obtenidos fueron desalados utilizando puntas conteniendo resina tipo C18 en el extremo (Zip-Tip, Millipore, Billerica, MA, EUA). La mezcla de péptidos se analizó con un cromatógrafo de líquidos (ACCELA, Thermo Scientific, San Jose, CA, EUA)

acoplado a un espectrómetro de masas con trampa de iones lineal (LTQ-XL, Thermo Scientific) y una fuente de iones NanoSpray (3.0 kV) operando en modo positivo.

La separación cromatografía se llevó a cabo en una columna capilar de fase reversa usando un gradiente lineal de 5-80% de acetonitrilo durante 120 min. La adquisición de los espectros de masas se realizó con el programa Xcalibur 2.2 (Thermo Scientific) en un rango de masa-carga (m/z) de 300–2000; los iones más intensos se fragmentaron por disociación inducida por colisión (CID). Los datos se analizaron con el programa Proteome Discoverer 1.3 usando el algoritmo SEQuest contra una base de datos referenciada. Los parámetros de búsqueda para modificaciones fueron los siguientes: cisteína carbamidometilada como fija y oxidación de metionina como variable.

h. Detección inmunológica de zeínas (Western Blot)

Posterior a la separación por SDS-PAGE, la fracción de prolaminas se transfirió a una membrana de PVDF (Hybond ECL, Amersham Bioscience, Alemania) mediante electro-transferencia. Previamente, el gel conteniendo las proteínas se equilibró durante 30 min con buffer de transferencia Towbin 1X. La electro-transferencia se llevó a cabo durante 14 h con buffer de transferencia Towbin 1X a 50 V. Después de la transferencia, la membrana se bloqueó durante una hora con PBST conteniendo 5% de leche en polvo (Svelty®). Se añadió el anticuerpo primario (α -zeínas) diluido 1:1000 en solución de bloqueo y se dejó incubar durante 1 h. Posteriormente se removió el anticuerpo primario, la membrana se lavó dos veces (10 min) con PBST y luego se incubó con el anticuerpo secundario durante 1 h. Después de eliminar el anticuerpo secundario, la membrana se lavó de nuevo dos veces con PBST por 10 min. La

visualización se logró a través de una solución cromogénica (DAB, metanol, PBS y SDS).

7. Análisis estadístico

Se utilizó un análisis de varianza unifactorial, donde el factor fueron los maíces estudiados. La comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 5%. Todos los análisis se realizaron con el programa Statgraphics Plus 5.1 (StatPoint Technologies, Inc., Warrenton VA, EUA).

VIII. RESULTADOS Y DISCUSION

A. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE MAICES ACA

El contenido de proteína total, grasas y almidón de los cuatro maíces con alto contenido de aceite (ACA) y el híbrido comercial Armadillo se presenta en el Cuadro 8. De estos resultados se pudo observar que los maíces ACA presentaron un mayor contenido de proteína total, así como un mayor porcentaje de grasa con respecto al híbrido comercial. Los contenidos de proteína total y grasa variaron de 10.60 a 13.62% y de 4.36 a 8.5%, respectivamente. La cruce de maíz ACA PAN157 x PAB218 resultó ser la más sobresaliente en ambas características (Cuadro 8).

Respecto al contenido de almidón, este presentó una correlación inversa altamente significativa ($r = -0.901$, $p < 0.001$) con el contenido total de proteína, lo cual corresponde con el mayor contenido de almidón observado en el maíz Armadillo, mientras que PAN157 x PAB218 presentó el menor contenido de este polisacárido (Cuadro 8).

Se ha reportado que el grano de maíces ACA contiene aproximadamente el doble de aceite con respecto a un maíz normal y un incremento de aproximadamente 1 a 2% de proteína. Esto se debe a que, morfológicamente, el maíz ACA contiene un germen más grande, que además es el principal componente de la semilla que contiene aceite (Dado 1999). Lee y col (2001) analizaron el contenido de aceite y proteína cruda de dos maíces normales y un maíz ACA, encontrando un aumento de cerca del doble de grasa y un aumento en la proteína cruda en maíces ACA con respecto a los maíces normales.

Cuadro 8. Contenido de proteína total, almidón y grasas en maíces ACA y un maíz híbrido comercial.

Genotipo	Proteína Total	Grasas	Almidón
Armadillo	10.60 ± 0.04 ^e	4.36 ± 0.45 ^d	67.47 ± 0.81 ^a
PBN85 x PBB183	11.00 ± 0.02 ^d	7.11 ± 0.64 ^{bc}	67.36 ± 0.44 ^a
PBN11 x PBN84	13.38 ± 0.05 ^b	8.13 ± 0.10 ^{ab}	63.95 ± 0.24 ^b
CML451/CML486 x PAN133	12.01 ± 0.01 ^c	6.53 ± 0.20 ^c	63.48 ± 0.98 ^b
PAN157 x PAB218	13.62 ± 0.05 ^a	8.50 ± 0.69 ^a	61.43 ± 1.61 ^b

Los contenidos están expresados en g/100 g de harina en base seca. Se presentan promedios ± desviación estándar. Para cada característica, letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las medias de acuerdo con la prueba de Tukey.

De la misma manera, Song y col (2004) estudiaron un maíz normal y dos variedades chinas de maíces ACA reportando un incremento en el contenido de aceite de 3.7% a 7.5% y un contenido de proteína cruda de 8.6% para maíz normal y hasta 12.2% (base seca) para los maíces especializados, valores similares a los encontrados en este estudio. En éste mismo sentido, Ortíz-Islas y col (2018) reportaron una correlación positiva ($r = 0.55$; $p < 0.001$) entre el contenido de aceite y el tamaño del germen en híbridos doble haploide de maíz con alto contenido de aceite y a su vez, una correlación negativa con el endospermo ($r = -0.484$; $p < 0.001$). Una mayor proporción de germen provoca una menor proporción de endospermo, lo que coincide con la menor cantidad de almidón (principal componente del endospermo) en los maíces ACA estudiados.

B. COMPOSICIÓN DE AMINOÁCIDOS Y CALIDAD PROTEÍICA

1. Perfil de aminoácidos

En el Cuadro 9 se presenta el perfil de aminoácidos de los maíces estudiados, expresados en g/100 g de harina. Se pueden observar valores significativamente mayores en casi todos los aminoácidos, tanto esenciales como no esenciales, en maíces ACA con respecto al híbrido comercial Armadillo.

Dentro de los aminoácidos que destacan se encuentran lisina y triptófano, los dos aminoácidos limitantes en maíz. Los materiales que presentaron un mayor contenido de lisina fueron PAN157 x PAB218 (0.37 g/100 g de harina) y PBN11 x PBN84 (0.38 g/100 g de harina), valores significativamente mayores que el observado en el híbrido comercial (0.30 g/100 g de harina), con aumentos hasta del 27%.

Cuadro 9. Contenido de aminoácidos en harina de maíces ACA y un maíz híbrido comercial.

Aminoácido	Armadillo	PBN85 x PBB183	PBN11 x PBN84	CML451/ CML486 x PAN133	PAN157 x PAB218
Ácido Aspártico	0.66± 0.01 ^c	0.67± 0.02 ^c	0.81± 0.01 ^a	0.75± 0.01 ^b	0.81± 0.01 ^a
Treonina	0.34± 0.01 ^e	0.36± 0.01 ^d	0.44± 0.01 ^a	0.39± 0.01 ^c	0.43± 0.01 ^b
Serina	0.46± 0.02 ^c	0.46± 0.02 ^c	0.59± 0.01 ^a	0.53± 0.01 ^b	0.58± 0.02 ^a
Ácido Glutámico	2.01± 0.01 ^d	2.01± 0.01 ^d	2.58± 0.02 ^b	2.29± 0.01 ^c	2.65± 0.03 ^a
Prolina	0.97± 0.02 ^c	0.99± 0.01 ^c	1.20± 0.02 ^a	1.12± 0.02 ^b	1.19± 0.01 ^a
Glicina	0.38± 0.02 ^d	0.41± 0.01 ^c	0.46± 0.02 ^b	0.44± 0.01 ^b	0.49± 0.01 ^a
Alanina	0.81± 0.01 ^c	0.81± 0.02 ^c	1.03± 0.02 ^a	0.91± 0.01 ^b	1.04± 0.01 ^a
Cisteína	0.24± 0.01 ^c	0.27± 0.01 ^b	0.33± 0.02 ^a	0.28± 0.02 ^b	0.33± 0.02 ^a
Valina	0.52± 0.02 ^c	0.56± 0.02 ^b	0.66± 0.03 ^a	0.57± 0.01 ^b	0.62± 0.02 ^a
Metionina	0.20± 0.02 ^c	0.24± 0.01 ^b	0.32± 0.01 ^a	0.25± 0.01 ^b	0.31± 0.01 ^a

Valores expresados como mg/100 mg harina base seca (bs). Se presentan promedios ± desviación estándar. Letras diferentes en una misma fila indican diferencias significativas entre las medias de los diferentes maíces de acuerdo con la prueba de Tukey (P<0.05).

Cuadro 9. Continuación

Aminoácido	Armadillo	PBN85 x PBB183	PBN11 x PBN84	CML451/ CML486 x PAN133	PAN157 x PAB218
Isoleucina	0.45± 0.03 ^c	0.43± 0.01 ^c	0.52± 0.01 ^a	0.47± 0.02 ^b	0.53± 0.02 ^a
Leucina	1.38± 0.01 ^d	1.38± 0.08 ^e	1.73± 0.02 ^b	1.53± 0.01 ^c	1.77± 0.02 ^a
Tirosina	0.28± 0.01 ^d	0.33± 0.02 ^c	0.45± 0.02 ^a	0.36± 0.02 ^{bc}	0.39± 0.03 ^b
Fenilalanina	0.57± 0.01 ^d	0.56± 0.01 ^d	0.71± 0.02 ^b	0.62± 0.01 ^c	0.72± 0.01 ^a
Lisina	0.31± 0.02 ^e	0.35± 0.01 ^d	0.39± 0.01 ^a	0.36± 0.01 ^c	0.38± 0.01 ^b
Histidina	0.31± 0.01 ^c	0.35± 0.01 ^b	0.39± 0.01 ^a	0.34± 0.01 ^b	0.38± 0.01 ^a
Arginina	0.44± 0.01 ^e	0.52± 0.02 ^d	0.58± 0.01 ^b	0.54± 0.01 ^c	0.62± 0.01 ^a
Triptófano	0.068± 0.01 ^c	0.073± 0.01 ^{bc}	0.084± 0.01 ^{ab}	0.084± 0.01 ^{ab}	0.088± 0.01 ^a

Valores expresados como mg/100 mg harina base seca (bs). Se presentan promedios ± desviación estándar. Letras diferentes en una misma fila indican diferencias significativas entre las medias de los diferentes maíces de acuerdo con la prueba de Tukey (P<0.05).

Esta misma tendencia se observó en el contenido de triptófano, siendo la cruza de maíz ACA PAN157 x PAB218 la que presentó el mayor contenido de este aminoácido (0.088 g/100 g de harina) con respecto al híbrido comercial (0.066 g/100 g de harina), representando un incremento de triptófano del 33% en el maíz ACA. Esto coincide con el mayor contenido de proteína total observado en la cruza PAN157 x PAB218 (Cuadro 8), maíz que a su vez presentó uno de los valores más altos en el contenido de lisina.

Por otro lado, en los maíces ACA se observó un incremento considerable de aproximadamente un 20% en otros aminoácidos como ácido aspártico, ácido glutámico, glicina, treonina y arginina, mientras que en el caso de los aminoácidos azufrados (cisteína y metionina) este incremento varió de un 30% hasta un 60%, siendo las cruzas PAN157 x PAB218 y PBN11 x PBN84 las que presentaron los mayores valores con respecto al maíz Armadillo utilizado como referencia (Cuadro 9). Esto podría explicarse debido a que estos maíces presentaron altos contenidos de proteína (Cuadro 8).

Song y col (2003) evaluaron el contenido de aminoácidos en un maíz ACA de China y un maíz convencional. De manera general, observaron un aumento en la mayoría de los aminoácidos en el maíz ACA comparado con el maíz normal, destacando a los aminoácidos lisina y triptófano con un 16 y 13%, respectivamente, comportamiento similar al obtenido en el presente estudio.

Por otro lado, cuando el contenido de aminoácidos se expresó con relación al contenido de proteína (g/100 g de proteína) (Cuadro 10), las diferencias observadas fueron considerablemente menores. Los incrementos más significativos observados en los maíces ACA con respecto al maíz comercial fueron para los aminoácidos

Cuadro 10. Composición de aminoácidos de las proteínas de maíces ACA y un maíz comercial.

Aminoácidos	Armadillo	PBN85 x PBB183	PBN11 x PBN84	CML451/ CML486 x PAN133	PAN157 x PAB218
Ácido Aspártico	6.24± 0.05 ^a	6.02± 0.14 ^b	6.04± 0.03 ^b	6.22± 0.09 ^a	5.95± 0.08 ^b
Treonina	3.24± 0.12 ^{ab}	3.30± 0.06 ^a	3.29± 0.05 ^{ab}	3.23± 0.08 ^{ab}	3.14± 0.07 ^b
Serina	4.31± 0.14 ^{ab}	4.17± 0.15 ^b	4.38± 0.04 ^{ab}	4.42± 0.06 ^a	4.24± 0.13 ^{ab}
Ácido Glutámico	18.9± 0.01 ^c	18.3± 0.11 ^d	19.27± 0.04 ^{ab}	19.09± 0.06 ^{bc}	19.41± 0.16 ^a
Prolina	9.12± 0.11 ^b	9.01± 0.05 ^b	8.96± 0.14 ^b	9.33± 0.13 ^a	8.76± 0.03 ^c
Glicina	3.56± 0.13 ^{ab}	3.71± 0.08 ^a	3.42± 0.12 ^b	3.63± 0.11 ^a	3.61± 0.03 ^{ab}
Alanina	7.60± 0.05 ^a	7.33± 0.15 ^b	7.71± 0.13 ^a	7.61± 0.06 ^a	7.62± 0.03 ^a
Cisteína	2.25± 0.01 ^a	2.43± 0.12 ^a	2.46± 0.18 ^a	2.33± 0.01 ^a	2.44± 0.10 ^a
Valina	4.93± 0.13 ^{ab}	5.11± 0.18 ^a	4.90± 0.22 ^{ab}	4.75± 0.02 ^{bc}	4.56± 0.09 ^c

Valores expresados en g/100 g proteína base seca (bs). Se presentan promedios ± desviación estándar. Letras diferentes en una misma fila indican diferencias significativas entre las medias de los maíces de acuerdo con la prueba de Tukey (P<0.05).

Cuadro 10. Continuación

Aminoácidos	Armadillo	PBN85 x PBB183	PBN11 x PBN84	CML451/ CML486 x PAN133	PAN157 x PAB218
Metionina	1.89± 0.16 ^c	2.19± 0.07 ^b	2.38± 0.07 ^a	2.10± 0.07 ^b	2.24± 0.05 ^{ab}
Isoleucina	4.28± 0.29 ^a	3.93± 0.09 ^b	3.87± 0.04 ^b	3.94± 0.16 ^b	3.91± 0.10 ^b
Leucina	13.05± 0.01 ^a	12.53± 0.75 ^a	12.93± 0.06 ^a	12.74± 0.06 ^a	13.00± 0.12 ^a
Tirosina	2.67± 0.08 ^c	2.95± 0.15 ^{bc}	3.33± 0.13 ^a	2.98± 0.13 ^b	2.85± 0.24 ^{bc}
Fenilalanina	5.33± 0.14 ^a	5.06± 0.11 ^b	5.34± 0.14 ^a	5.19± 0.05 ^{ab}	5.26± 0.04 ^{ab}
Lisina	2.93± 0.16 ^b	3.14± 0.11 ^a	2.89± 0.06 ^b	2.95± 0.09 ^{ab}	2.79± 0.04 ^b
Histidina	2.91± 0.02 ^b	3.20± 0.65 ^a	2.90± 0.01 ^{bc}	2.84± 0.07 ^{bc}	2.81± 0.05 ^c
Arginina	4.15± 0.10 ^c	4.71± 0.18 ^a	4.36± 0.06 ^b	4.51± 0.04 ^{ab}	4.52± 0.07 ^{ab}
Triptófano	0.63± 0.02 ^a	0.66± 0.07 ^a	0.62± 0.05 ^a	0.70± 0.06 ^a	0.65± 0.01 ^a

Valores expresados en g/100 g proteína base seca (bs). Se presentan promedios ± desviación estándar. Letras diferentes en una misma fila indican diferencias significativas entre las medias de los maíces de acuerdo con la prueba de Tukey (P<0.05).

azufrados cisteína y metionina. Por ejemplo, el contenido de metionina en el maíz ACA PBN11 x PBN84 presentó un incremento de hasta un 30% con respecto al híbrido comercial Armadillo (Cuadro 10).

En el caso de lisina, el maíz ACA PBN85 x PBB183 presentó el valor más alto (3.05 g/100 g de proteína) y fue significativamente mayor que el valor obtenido en el híbrido comercial (2.83 g/100 g de proteína). Esto coincide con lo reportado por otros autores como Thomison y col (2003) quienes evaluaron el contenido de lisina en maíces ACA y convencionales, obteniendo valores promedio de 3.31 y 2.95 g/100 g proteína, respectivamente.

Con respecto al contenido de triptófano, la cruce triple de maíz ACA CML451/CML486 x PAN133 presentó el valor más alto (0.70 g/100 g de proteína), aunque no fue significativamente mayor que el observado en el maíz comercial Armadillo (0.62 g/100g de proteína) y otras cruces de maíz ACA. Espinosa y col (2021) observaron un comportamiento similar al evaluar el contenido de triptófano en maíz convencional y en maíz ACA, obteniendo valores de 0.69 y 0.83 g/100 g proteína, respectivamente, los cuales son cercanos a los obtenidos en el presente estudio.

En relación con el resto de los aminoácidos, de manera general no se observan diferencias significativas en su contenido entre los maíces ACA y el maíz híbrido comercial (Cuadro 10).

Las proteínas de la fracción albúminas tienen un buen balance de los aminoácidos esenciales lisina y triptófano, pero también presentan altos contenidos de aminoácidos como ácido aspártico, treonina, glicina y alanina; sin embargo, presentan un bajo contenido de aminoácidos como cisteína, prolina, ácido glutámico y fenilalanina en

comparación con las otras fracciones. Por otro lado, las fracciones como prolaminas y glutelinas presentan altos contenidos de aminoácidos azufrados cisteína y metionina, así como prolina y leucina (Sodek y Wilson 1971).

Reportes previos indican que las concentraciones de lisina y otros aminoácidos esenciales en el maíz con alto contenido de aceite son ligeramente más altas en comparación con el maíz normal, lo cual se asocia con un mayor contenido de proteína en el germen del grano (Dado 1999). En este sentido, Thomison y col (2003) compararon el perfil de aminoácidos de maíces ACA respecto a su contraparte normal encontrando que los contenidos de aminoácidos como lisina, metionina, glicina y arginina eran superiores en los maíces ACA, demostrando el incremento de su valor (12-20%) en la alimentación para ganado.

2. Calidad Proteínica

Se evaluaron los parámetros de calidad proteínica digestibilidad *in vitro* (DPIV), calificación química (CQ), relación de eficiencia proteica calculada (c-PER) y valor biológico (VB) en los cinco materiales de maíz (Cuadro 11). El maíz ACA PBN11 x PBN84 mostró la mayor digestibilidad (80%), mientras que CML451/CML486 x PAN133 presentó el menor valor (61.9%). Sin embargo, el maíz ACA con mayor digestibilidad no mostró diferencias significativas con respecto al híbrido comercial.

La calificación química (CQ) presentó una relación inversa con la digestibilidad, es decir, los maíces con menor DPIV mostraron los mayores valores de CQ, siendo la cruce PBN157 x PAB218 la que presentó la menor calificación.

Cuadro 11. Parámetros de calidad proteínica en maíces ACA y un maíz híbrido comercial.

Genotipo	Digestibilidad	CQ	c-PER	c-PER₁₀	VB
Armadillo	78.75 ^a	58.99 ^c	1.39 ^a	2.54 ^b	72.63 ^c
PBN85 x PBB183	63.95 ^c	63.67 ^a	1.07 ^c	2.55 ^b	91.31 ^a
PBN11 x PBN84	80.05 ^a	59.10 ^c	1.42 ^a	2.58 ^a	96.97 ^a
CML451/CML486 x PAN133	61.89 ^c	60.30 ^b	1.01 ^c	2.55 ^b	84.29 ^b
PAN157 x PAB218	75.04 ^b	57.77 ^d	1.23 ^b	2.56 ^b	83.09 ^b

Los valores corresponden al promedio \pm desviación estándar. Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas entre los maíces con alto contenido en aceite y el híbrido comercial de acuerdo con la prueba de Tukey ($P < 0.05$).

En cuanto al parámetro de c-PER de los maíces evaluados, la cruza PBN11 x PBN84 fue la que presentó el valor más alto, pero sin mostrar diferencias significativas con respecto al híbrido comercial.

Además, se determinó el c-PER₁₀, el cuál podría ser más apropiado porque involucra un mayor número de aminoácidos en su cálculo, incluyendo lisina y triptófano, aminoácidos limitantes en maíz. Los resultados de c-PER₁₀ mostraron que la cruza PBN11 x PBN84, al igual que en los parámetros de digestibilidad y c-PER, fue la que presentó el valor más alto (2.58) (Cuadro 11). De manera similar, la cruza PAN157 x PAB218 mostró valores altos de c-PER y c-PER₁₀, siendo estos dos materiales los que presentaron los mayores contenidos de proteína (Cuadro 8) y de los aminoácidos lisina y triptófano (Cuadro 9), lo que puede estar contribuyendo a los valores más altos de los parámetros en estos materiales y a su vez, contribuir con una mejor calidad de sus proteínas. Chan-Chan y col (2021) determinaron parámetros de calidad proteínica en 4 maíces, dos maíces QPM y sus predecesores nativos. Además, estos maíces QPM fueron considerados como maíces ACA dado que presentaron un contenido de aceite del 7%. Los materiales QPM presentaron valores de c-PER₁₀ de 2.6 y 3.29, mostrando una mejor calidad proteínica que su contraparte normal, lo cual atribuyeron al aumento en la concentración de los aminoácidos arginina, histidina y triptófano en esos maíces. Algo similar se encontró en los materiales ACA del presente estudio, los cuales presentaron un aumento aproximado del 20% en arginina y hasta un 33% de triptófano con respecto al híbrido comercial (Cuadro 9).

En cuanto al valor biológico (VB) de las proteínas de los maíces estudiados, los maíces ACA presentaron valores significativamente más altos que el del híbrido

comercial, siendo la cruza PBN11 x PBN84 la que presentó el mayor valor de VB (96.97%). Esto es consistente con otros resultados obtenidos en este estudio, en donde fue este material ACA el que presentó el mejor contenido de lisina y triptófano (Cuadro 8), así como en todos los parámetros de calidad evaluados (Cuadro 11).

C. CARACTERIZACIÓN DEL PERFIL DE PROTEÍNAS DE ALMACENAMIENTO

1. Cuantificación de proteínas por fracciones

El contenido en el grano de las fracciones albúminas, globulinas, prolaminas (zeínas) y glutelinas (mg/100 mg harina bs) se muestra en la Figura 4. En concordancia con el contenido de proteína total, los maíces ACA presentaron un mayor contenido de las diferentes fracciones de proteína en comparación con el maíz híbrido comercial Armadillo, siendo la cruza PAN157 x PAB218 la que presentó los valores más altos en todas las fracciones (Figura 4). Este maíz a su vez presentó el mayor contenido de los aminoácidos limitantes lisina y triptófano en g/100 g de harina, mientras que el híbrido comercial Armadillo presentó los contenidos más bajos de todas las fracciones proteicas y de estos aminoácidos (Cuadros 8 y 9).

Diversos autores señalan que altos porcentajes de las fracciones de albúminas y globulinas son indicadores de mejor calidad proteínica, ya que estas dos fracciones son ricas en aminoácidos esenciales como lisina y triptófano (Aguirre-Mancilla y col 2020). Estos resultados coinciden con la correlación positiva encontrada en este estudio entre el contenido de albúminas y el de los aminoácidos lisina ($r=0.92$, $p<0.05$) y triptófano ($r=0.672$, $p<0.05$).

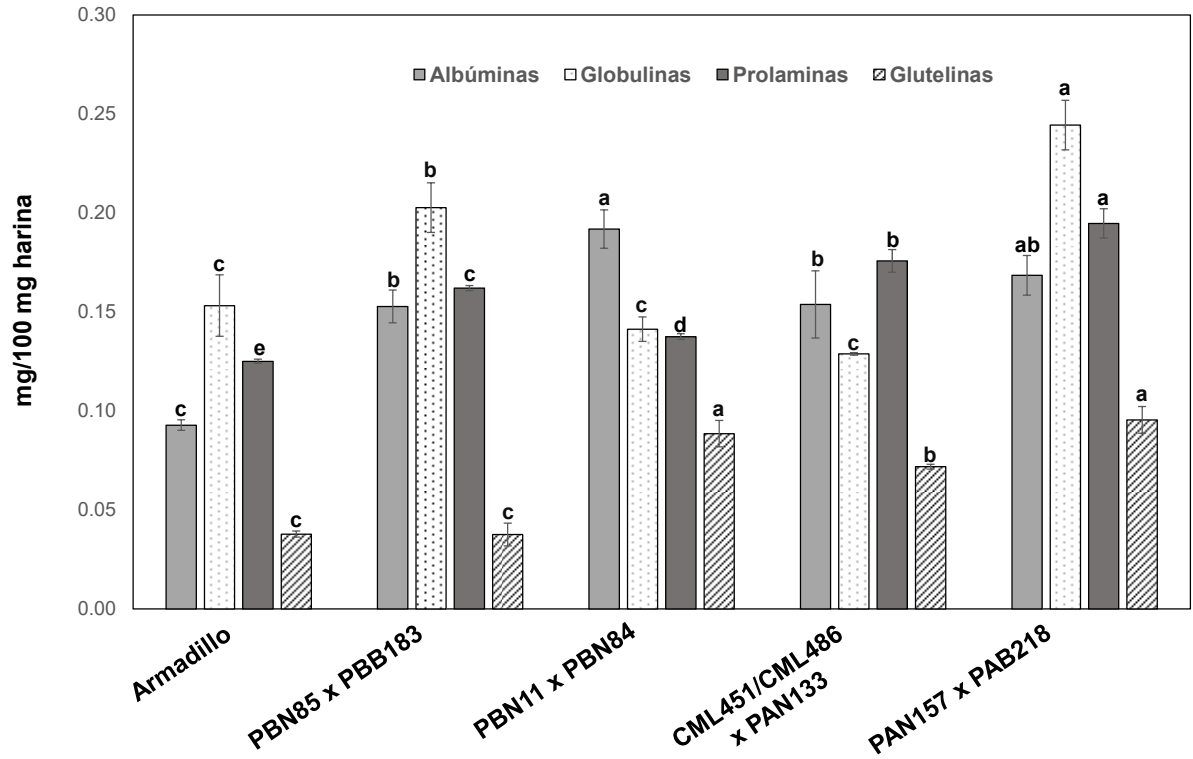


Figura 4. Contenido de albúminas, globulinas, prolaminas y glutelinas (mg/100 mg harina bs) en maíces ACA y un maíz híbrido comercial. Las barras corresponden a la desviación estándar de la media de tres réplicas. Letras diferentes indican diferencias significativas para una misma fracción de proteína entre los maíces (Tukey, $\alpha = 0.05$).

Además, estudios previos han demostrado que la fracción de glutelinas también aporta altas cantidades de lisina en maíz (Lin y col 1997). Esto coincide con los resultados obtenidos en este estudio, donde los maíces ACA PAN157 x PAB218 y PBN11 x PBN84 presentaron la mayor acumulación de glutelinas (Figura 4) y lisina (Cuadro 9). Por lo tanto, la mayor acumulación de las fracciones de albúminas, globulinas y glutelinas en los maíces ACA (Figura 4) parece ser la responsable del mayor contenido de lisina en estos materiales (Cuadro 9).

En cuanto al contenido de prolaminas, los maíces ACA presentaron la mayor acumulación de esta fracción de proteínas (Figura 4), lo que podría explicar los bajos valores de digestibilidad de algunos genotipos ACA con respecto al híbrido comercial Armadillo (Cuadro 11). Al respecto, se ha reportado que niveles elevados de zeínas (prolaminas) conducen a una menor digestibilidad, ya que estas proteínas presentan contenidos elevados de aminoácidos hidrofóbicos, lo que hace que esta fracción de proteína sea menos digerible por sistemas enzimáticos digestivos, mientras que un incremento en el resto de las fracciones (albúminas, globulinas y glutelinas) resulta en una mayor digestibilidad (Kriz y Larkins 2009). Esto coincide, de manera general, con los resultados obtenidos en el presente estudio, ya que el maíz PBN11 x PBN84 presentó el valor más alto de digestibilidad y el mayor contenido de las fracciones de albúminas y glutelinas, así como valores más bajos de zeínas en comparación con los otros maíces ACA (Figura 4, Cuadro 11).

El contenido de las cuatro fracciones proteicas expresadas como mg/100 mg de proteína se muestra en la Figura 5. Se puede observar que el maíz comercial mostró el menor contenido de albúminas, mientras que en los genotipos ACA el contenido de esta fracción mostró un incremento de alrededor de 50%, pero no hubo diferencias

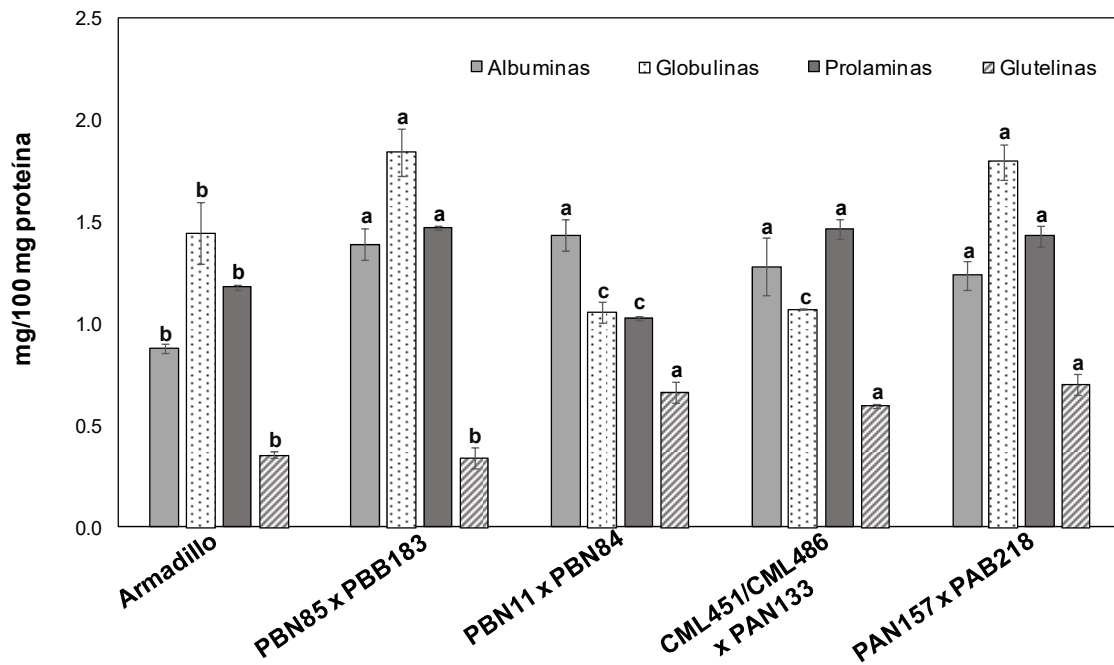


Figura 5. Contenido de albúminas, globulinas, prolaminas y glutelinas (mg/100 mg proteína bs) en maíces ACA y un maíz híbrido comercial. Las barras corresponden a la desviación estándar de la media de tres réplicas. Letras diferentes indican diferencias significativas para una misma fracción de proteína entre los maíces (Tukey, $\alpha = 0.05$).

significativas entre ellos, lo cual pudiera explicar porque no se presentaron diferencias significativas en el contenido de triptófano entre los maíces ACA (Cuadro 10).

3. Separación de fracciones e identificación de proteínas en maíces con alto contenido de aceite

a. Albúminas

En la Figura 6 se muestra la separación por electroforesis (SDS-PAGE) de la fracción de albúminas correspondiente a la misma cantidad de harina de cada uno de los cinco genotipos de maíz evaluados. Los pesos moleculares de las proteínas separadas variaron de 10 a 75 kDa aproximadamente. Este perfil de albúminas es similar a los reportados previamente en maíz por diversos autores (Fonseca y col 2014; Ortiz-Martinez y col 2017).

El análisis densitométrico de esta fracción detectó un total de 24 bandas, de las cuales seis presentaron diferencias significativas en su acumulación entre los maíces ACA y el híbrido comercial Armadillo. De las seis bandas diferenciales solo fue posible identificar dos ellas por espectrometría de masas, las cuales corresponden a las proteínas ARNr N-glicosilasa y lactoilglutación liasa (Figura 6, Cuadro 12).

En la Figura 7 se muestra la identificación por espectrometría de masas en tándem de la proteína ARNr- N-glicosilasa. En la Figura 7A se presenta la huella peptídica de la proteína obtenida en el primer analizador de masas. El ión con una relación masa / carga (m/z) de 622.31 (cuadro rojo) fue uno de los que se seleccionó para inducir su disociación y posterior análisis en el segundo analizador de masas.

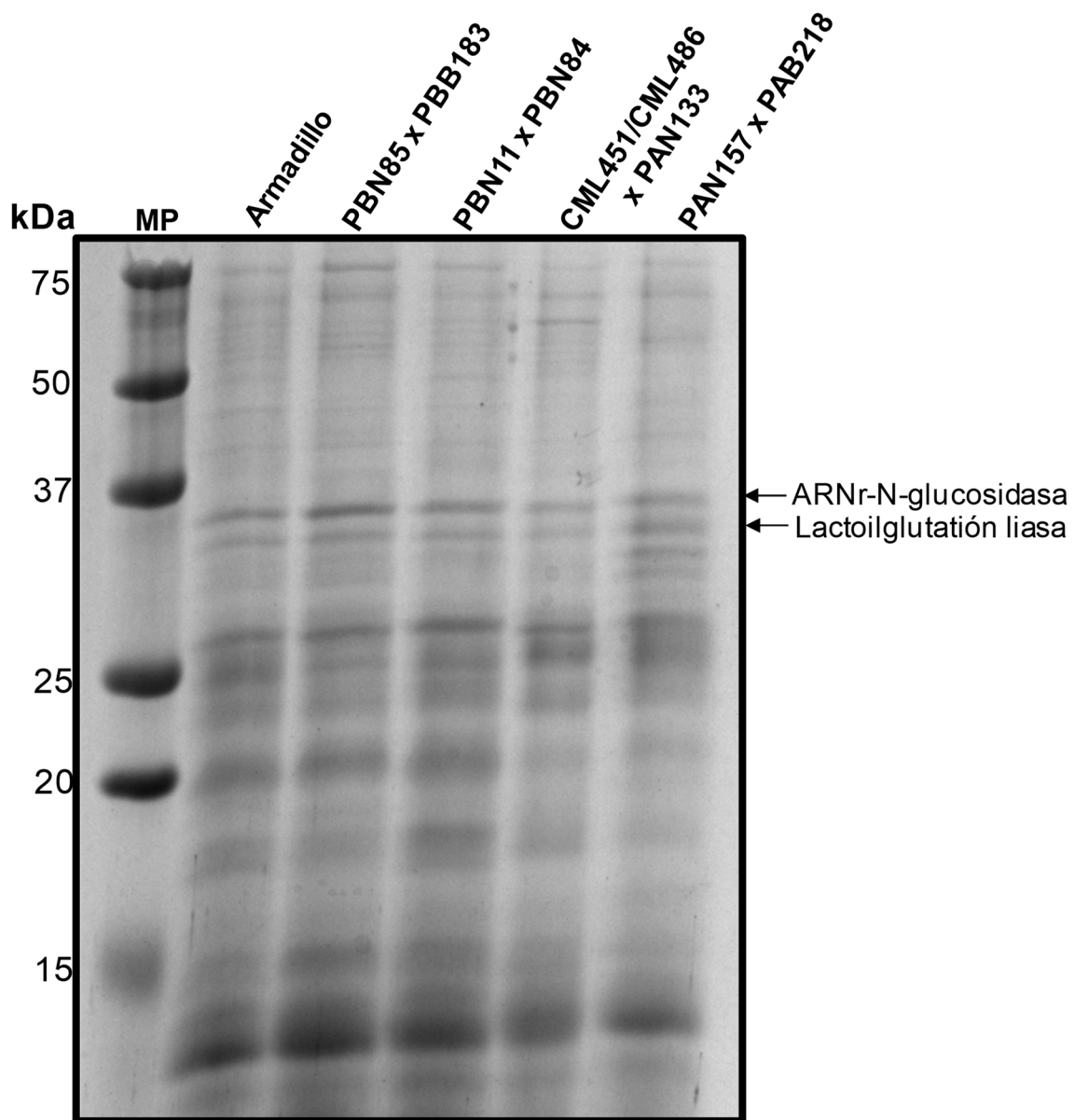


Figura 6. Separación por SDS-PAGE de la fracción albúminas de maíces ACA y un maíz híbrido comercial. Los pesos moleculares de marcadores preteñidos (MP) se muestran a la izquierda y las proteínas identificadas se indican a la derecha.

Cuadro 12. Identidad de proteínas de las fracciones de albúminas y globulinas de maíces con alto contenido de aceite.

No. Prot	ID	Descripción	PM Experimental (kDa)	PM Teórico (kDa)	Cobertura (%)	Peptidos
Albúminas						
1	B8QXH0_ZEAMP	ARNr N-glucosidasa [Zea mays subsp. parviglumis]	35	33.3	17.28	MDNLYLVGFR GLETVTMGR MADTNPXLSDLMAQTNK
2	C0PK05_MAIZE	Lactoioglutation liasa [Zea mays]	33	32.3	21.03	ILRQPGPLPGINTK AAEAIVDWHK VVLVDNTDFLK
Globulinas						
1	B8QUU6_ZEAMP	Quitinasa [Zea mays subsp. Parviglumis]	48	22.2	16.74	VAQDAVIAFK GPLQISWNYNYGPAGR NNAYCDASNR
2	A0A317YIM6_MAIZE	Globulina 1S [Zea mays]	43	69.3	16.26	NPESFLSSFSK AEEVDEVLSR VFLAGADNVLQK
3	B8QV35_ZEAMP	Quitinasa [Zea mays subsp. Parviglumis]	27	28.8	8.24	SAFLSAVK RQCPCAAGQK AGAPR
4	A0A8J8YSI5_MAIZE	Proteína de unión a ARN [Zea mays]	24	26.4	13.08	KPKIPK QKNHVK FPSFNMARVVRDK
5	A0A1D6L7F7_MAIZE	Globulina 2 [Zea mays]	23	12.8	8.11	VAELEAAPR
6	A0A1D6HPV1_MAIZE	Ubiquitina ligasa E3A [Zea mays]	17	15.7	5	AGPLLPK

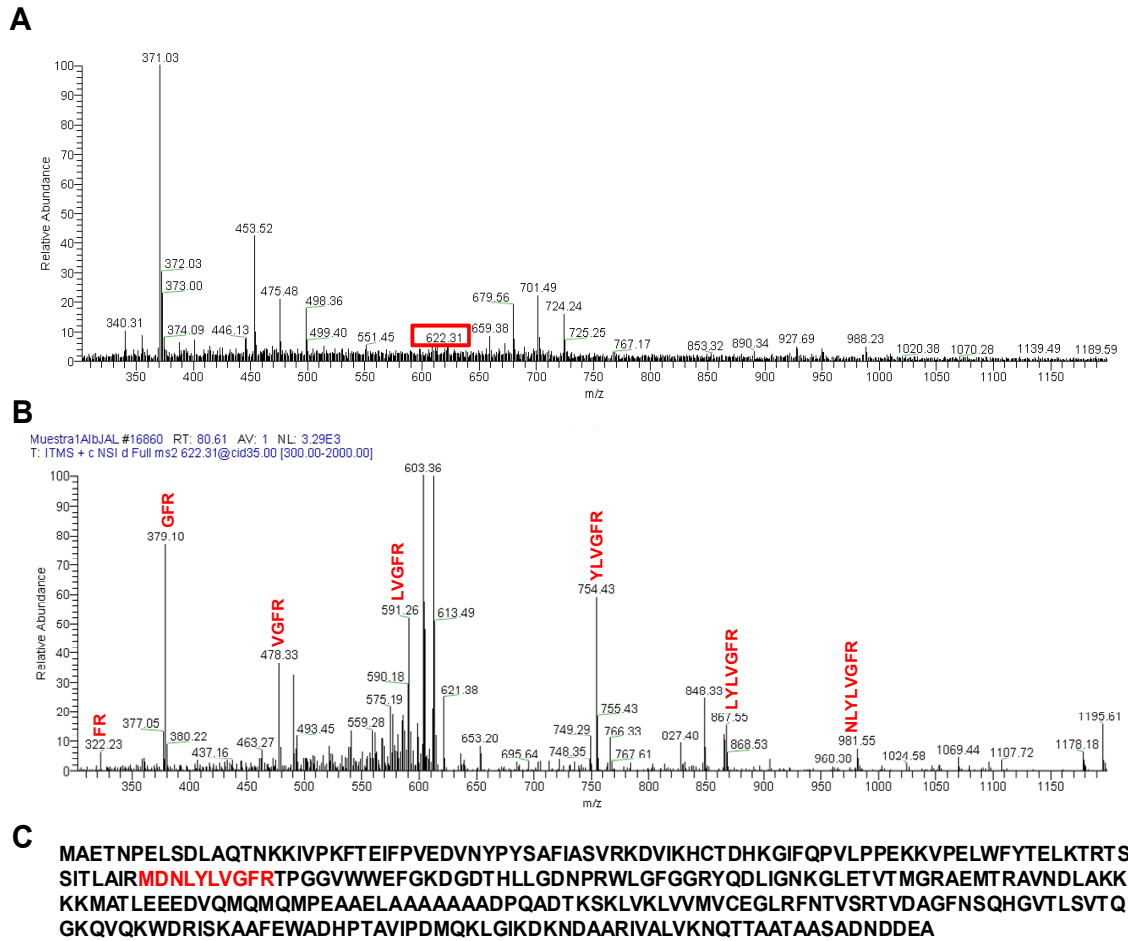


Figura 7. Identificación por espectrometría de masas de la proteína ARNr-N-glicosilasa. A) Huella peptídica de la proteína después de su digestión con tripsina. B) Espectro MS/MS del ión encerrado con un cuadrado en la Figura A. C) Secuencia completa de aminoácidos de la proteína identificada (las letras en rojo indican la secuencia del péptido seleccionado en A).

La Figura 7B muestra el espectro MS/MS de este ión, donde además se indica la secuencia parcial de aminoácidos predicha para algunos de los iones resultantes de la disociación. La búsqueda en las bases de datos determinó que este péptido forma parte de la proteína ARNr N-glicosilasa, cuya secuencia completa se indica en la Figura 7C. La identidad y función de las proteínas que pudieron ser identificadas por espectrometría de masas se muestra en el Cuadro 12.

Las proteínas inactivadoras de ribosomas (RIP) son N-glicosilasas de ARNr, es decir, son hidrolasas que actúan como glicosilasas que hidrolizan compuestos de N-glicosilo. Además, otras actividades enzimáticas, como polinucleótido: adenosina glicosilasa (PNAG) en diferentes sustratos de polinucleótidos, actividad de fosfatasa en lípidos, DNasa, acciones de quitinasa y superóxido dismutasa son atribuibles a las N-glicosilasas de ARNr (Landi y col 2022).

Por otro lado, lactoilglutación liasa (LGL) es una enzima involucrada en la desintoxicación del metilglioxal, un subproducto glucolítico electrofílico altamente tóxico que reacciona e inactiva macromoléculas intracelulares, incluidas las proteínas y los ácidos nucleicos (Ackerman y col 1974; Dhar y col 2012).

La Figura 8 muestra la cuantificación densitométrica de las albúminas identificadas, ARNr N-glicosilasa y Lactoilglutación liasa. La acumulación de estas proteínas fue mayor en algunos de los maíces ACA con respecto a Armadillo, particularmente en la cruce PBN11 x PBN84 que fue la que presentó la mayor acumulación de ambas. Esto coincide con el mayor contenido de albúminas encontrado en PBN11 x PBN84 (Figura 5). Además, las albúminas son ricas en aminoácidos esenciales como lisina y triptófano; ARNr N-glicosilasa contiene un 8.3%

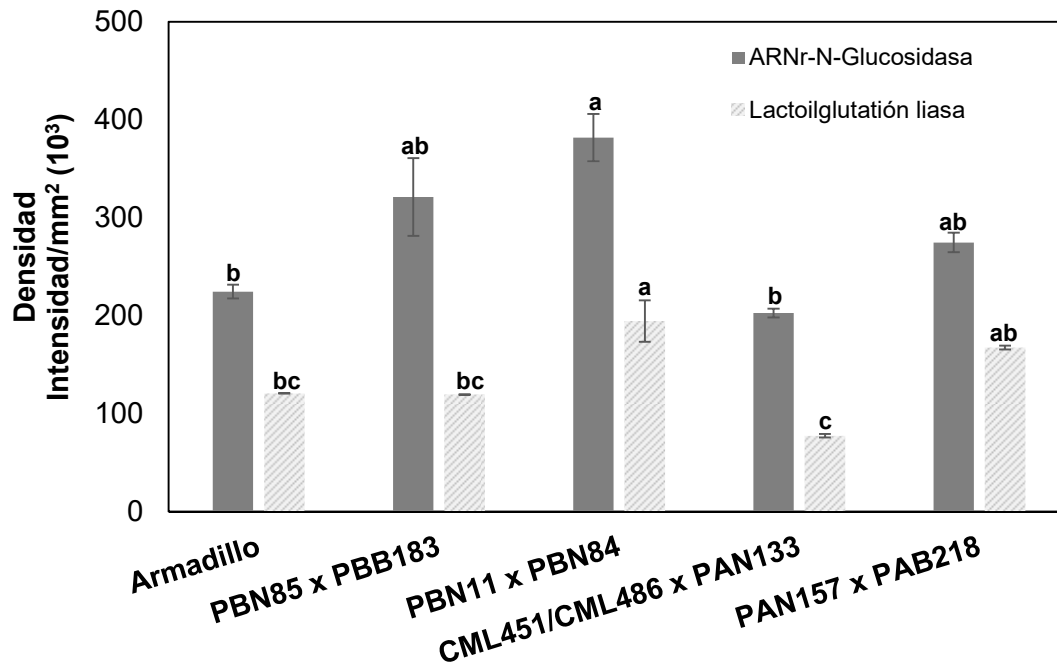


Figura 8. Cuantificación densitométrica de proteínas identificadas de la fracción de albúminas en maíces ACA y un híbrido comercial. Las barras corresponden a la desviación estándar de la media de tres replicas; letras diferentes indican diferencias significativas para una misma proteína entre los maíces (Tukey, $\alpha = 0.05$).

y 2%, respectivamente, mientras que Lactoilglutación liasa contiene cerca del 10% de lisina y 1% de triptófano en su secuencia (UniprotKB 2023).

La mayor acumulación de albúminas en maíces ACA puede explicar el mayor contenido de lisina y triptófano como porcentaje de harina, siendo ARNr N-glicosilasa y Lactoilglutación liasa algunas de las proteínas que podrían estar contribuyendo a este incremento (Cuadro 10).

b. Globulinas

La separación de la fracción de globulinas por SDS-PAGE (Figura 9) permitió observar alrededor de 18 bandas en un rango de peso molecular de 10 a 75 kDa. Patrones similares fueron observados por otros autores (Kriz 1989; Ortiz-Martinez y col 2017). Se lograron identificar seis bandas por espectrometría de masas (Cuadro 12), dos correspondientes a globulina 1 y 2S, dos a quitinasa, una proteína de unión a ARN y ubiquitina ligasa E3A.

En el análisis densitométrico se puede observar que las cruces de maíz ACA PBN11 x PBN84 y PAN157 x PAB218 presentaron la mayor acumulación de proteínas como Globulinas 1 y 2S (Figura 10), así como un mayor contenido de la fracción de globulinas (Figura 4 y 5) y del aminoácido lisina tanto en porcentaje de harina y proteína (Cuadro 9 y 10). Estas proteínas presentan contenidos relativamente altos de los aminoácidos lisina (~4.5%) y triptófano (~1.2%) (UniprotKB 2023).

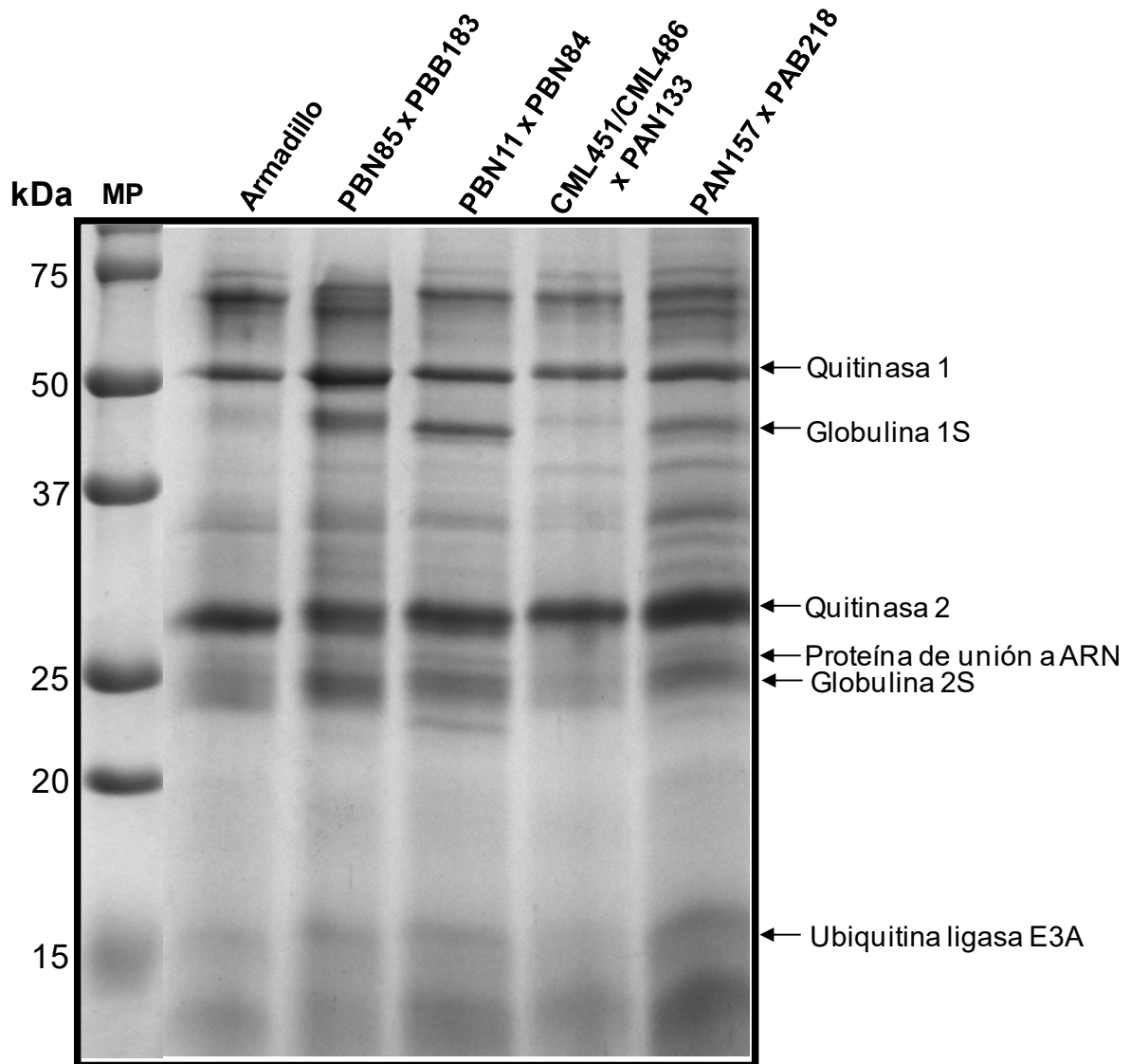


Figura 9. Separación por SDS-PAGE de globulinas de maíces ACA y un maíz híbrido comercial. Los pesos moleculares de marcadores preteñidos se muestran a la izquierda mientras que las proteínas identificadas se indican a la derecha.

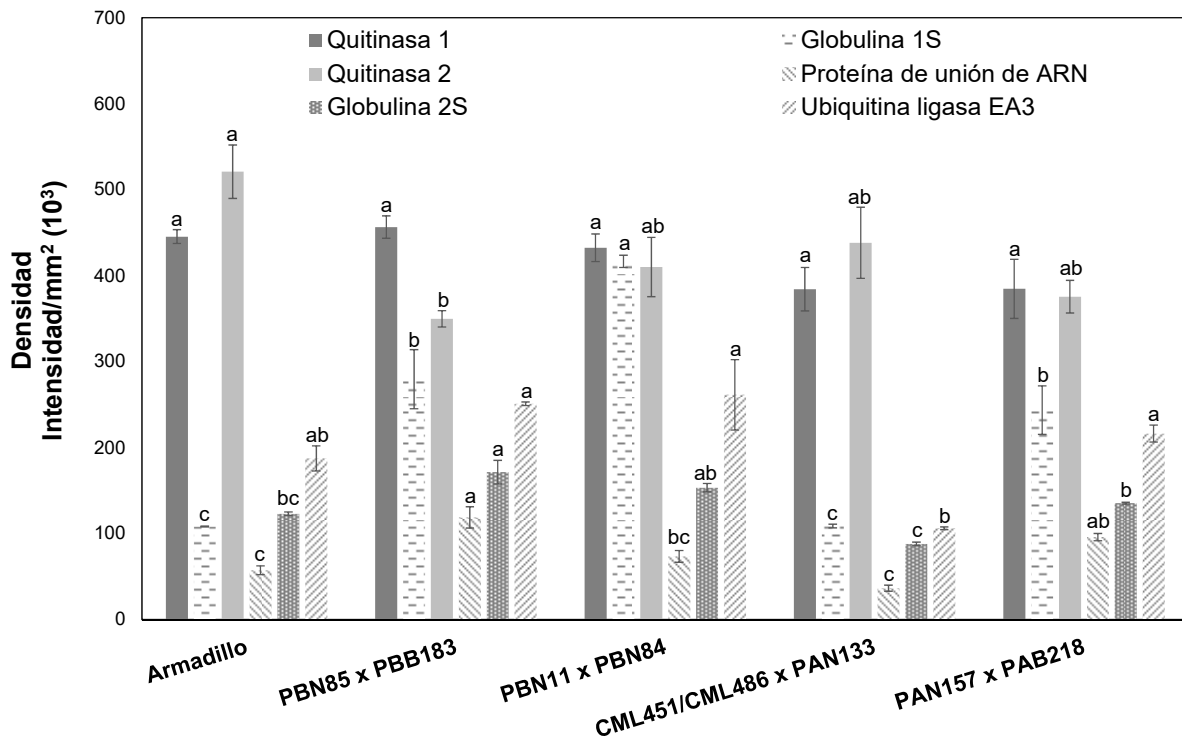


Figura 10. Cuantificación densitométrica de proteínas tipo globulinas identificadas por espectrometría de masas en maíces ACA y un híbrido comercial. Las barras corresponden a la desviación estándar de la media de tres réplicas. Letras diferentes indican diferencias significativas para una misma proteína entre los maíces (Tukey, $\alpha = 0.05$).

Además de lisina, las globulinas 1 y 2S son ricas en aminoácidos como ácido glutámico (10-14%) y arginina (10-12%). Comparando el contenido de estos aminoácidos en los maíces ACA respecto al híbrido comercial, se observa un incremento de ácido glutámico hasta de un 30% y un 40% en arginina (Cuadro 9), lo cual podría asociarse a la mayor acumulación globulinas 1 y 2S en los maíces ACA. Se estima que en conjunto las globulinas 1 y 2S representan del 10 al 20% de la proteína total del germen (Kriz 1989).

En cuanto a otras proteínas identificadas, las proteínas de unión a ARN son aquellas que pueden unirse a ARN específicos y su interacción con el ARN es un punto de control importante para regular la expresión génica a nivel de ARN (Yao y col 2022). Estas proteínas tienen diversas funciones en la regulación co-transcripcional y postranscripcional del metabolismo del ARN (Li y col 2014). Se observó una mayor acumulación de la proteína de unión al ARN en las cruces PBN85 x PBB183 y PAN157 x PAB218 comparado con el híbrido comercial Armadillo (Figura 10). Esta proteína presenta cerca del 8% de lisina en su composición, lo cual es consistente con el mayor contenido de este aminoácido en estos maíces (Cuadro 9 y 10).

Otras proteínas que fueron identificadas por espectrometría de masas, pero que no presentaron de manera general diferencias significativas en su acumulación entre maíces ACA y el comercial incluyen quitinasas y ubiquina ligasa EA3 (Cuadro 12). Las quitinasas son glicosil hidrolasas caracterizadas por romper el enlace β -1,4 de la N-acetil glucosamina presente en las cadenas de quitina (Rathore y Gupta 2015). Los tamaños moleculares en geles de poliacrilamida reportados para Quitinasa 1 (ChitA) son de 70 y 50 kDa (Danişmazoğlu y col 2015), mientras que para Quitinasa 2 (ChitB) se reporta un peso de 28 kDa (Naumann y Wicklow 2010), los cuales coinciden con

los observados en la separación por SDS-PAGE en el presente estudio (Figura 9). Ubiquitina ligasa EA3 tiene varias funciones celulares, incluida la degradación y transporte de proteínas, la endocitosis y las interacciones proteína-proteína (Llewellyn y col 2015).

De manera particular, la cruce triple CML451/CML486 x PAN133 presentó los niveles más bajos de globulinas 1S y 2S, proteína de unión a ARN y ubiquitina ligasa EA3. Este maíz a su vez presentó el mayor contenido de triptófano en g/100 g proteína, lo que corresponde con lo reportado por Zilic y col (2011) quienes mostraron una correlación negativa entre el contenido de este aminoácido y los niveles de globulinas ($r=-0.38$, $p<0.05$).

c. Prolaminas

La separación electroforética (SDS-PAGE) de la fracción de prolaminas o zeínas de los cinco maíces evaluados se muestra en la Figura 11A. El perfil de zeínas muestra las principales subfracciones que corresponden a dos bandas de α -zeínas con pesos moleculares de 19 y 22 kDa, así como dos bandas correspondientes a la subfracción de γ -zeínas de 27 y 50 kDa. La identidad de las α -zeínas fue corroborada mediante un análisis de Western Blot (Figura 11B) utilizando anticuerpos policlonales, razón por la cual también se logra ver señal en las γ -zeínas.

El perfil de las zeínas mayoritarias coincide con otros reportados previamente en maíz (Holding y Larkins 2006; Salazar-Salas y col 2014). Sin embargo, se observó una menor acumulación de γ -zeína de 27 kDa, lo cual puede atribuirse al método de extracción secuencial utilizado con base en la solubilidad de las fracciones, mientras que los autores citados utilizaron buffer de boratos para extraer inicialmente la proteína

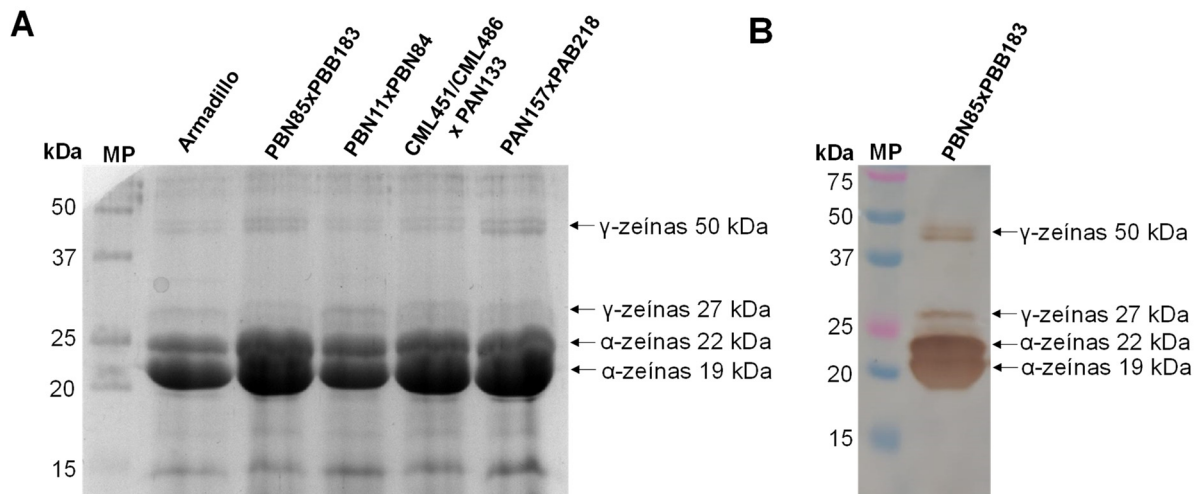


Figura 11. Perfil de zeínas de maíces ACA y el híbrido comercial Armadillo. A) Separación por SDS-PAGE de la fracción de prolaminas o zeínas. B) Inmunodetección por Western blot de α -zeínas. Los pesos moleculares de marcadores preteñidos se muestran a la izquierda mientras que las proteínas identificadas se indican a la derecha.

total y posteriormente solo realizaron una partición con etanol al 70% para separar las zeínas del resto de las fracciones que en conjunto se denominan no-zeínas.

Se realizó un análisis densitométrico de las zeínas (Figura 12), a excepción de la subfracción de γ -zeínas de 50 kDa que presentó una acumulación muy baja. En el caso de las subfracciones α -zeínas de 22 y 19 kDa, la cruza PBN11 x PBN84 fue la que presentó la menor acumulación, lo cual corresponde con el hecho de que este maíz presentó la mayor cantidad de lisina/ 100 g de harina. Debido a que las α -zeínas son las más abundantes en la fracción prolaminas (deficientes en lisina) en el endospermo de un maíz normal, es de esperarse que su disminución permita una mayor acumulación de otras proteínas que si contienen lisina. En este sentido, estudios previos han demostrado que la inhibición de la expresión de α -zeínas en el endospermo de maíz incrementa el contenido de lisina en el grano, efecto asociado a un aumento en la acumulación de no-zeínas (Huang y col 2006).

d. Glutelinas

Se realizó la separación electroforética (SDS-PAGE) de la fracción de glutelinas de los maíces evaluados (Figura 13), pero desafortunadamente ninguna pudo ser identificada debido a la concentración tan baja que presentaron. Se observaron bandas de aproximadamente 20, 27, 35, 43 y 52 kDa. Este patrón de separación coincide con lo reportado por Yau y col (1999), quienes reportaron 7 bandas en la fracción de glutelinas que van de 35 a 100 kDa, dentro de las cuales se incluyen las de 35, 43 y 52 kDa de este estudio. Además, estos autores reportaron una correlación positiva entre la fracción de glutelinas y el contenido de lisina en los maíces evaluados; lo cual

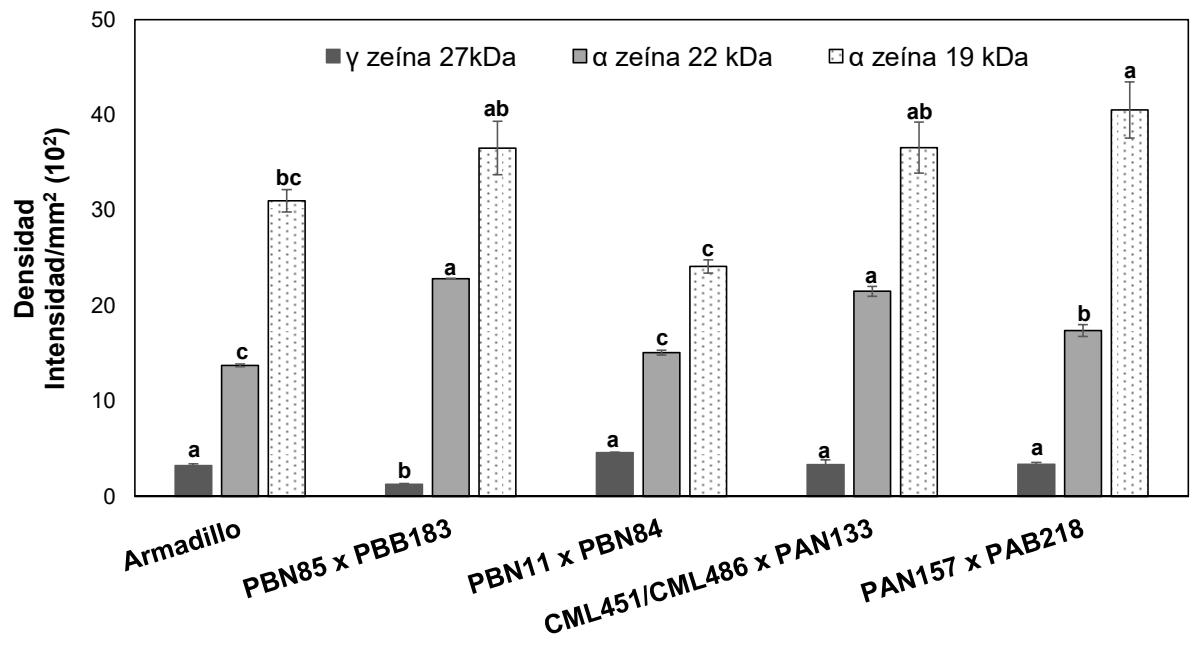


Figura 12. Cuantificación densitométrica de las principales prolaminas o zeínas en maíces ACA y un híbrido comercial. Las barras corresponden a la desviación estándar de la media de tres replicas; letras diferentes indican diferencias significativas para una misma fracción de proteína entre los maíces (Tukey, $\alpha = 0.05$).

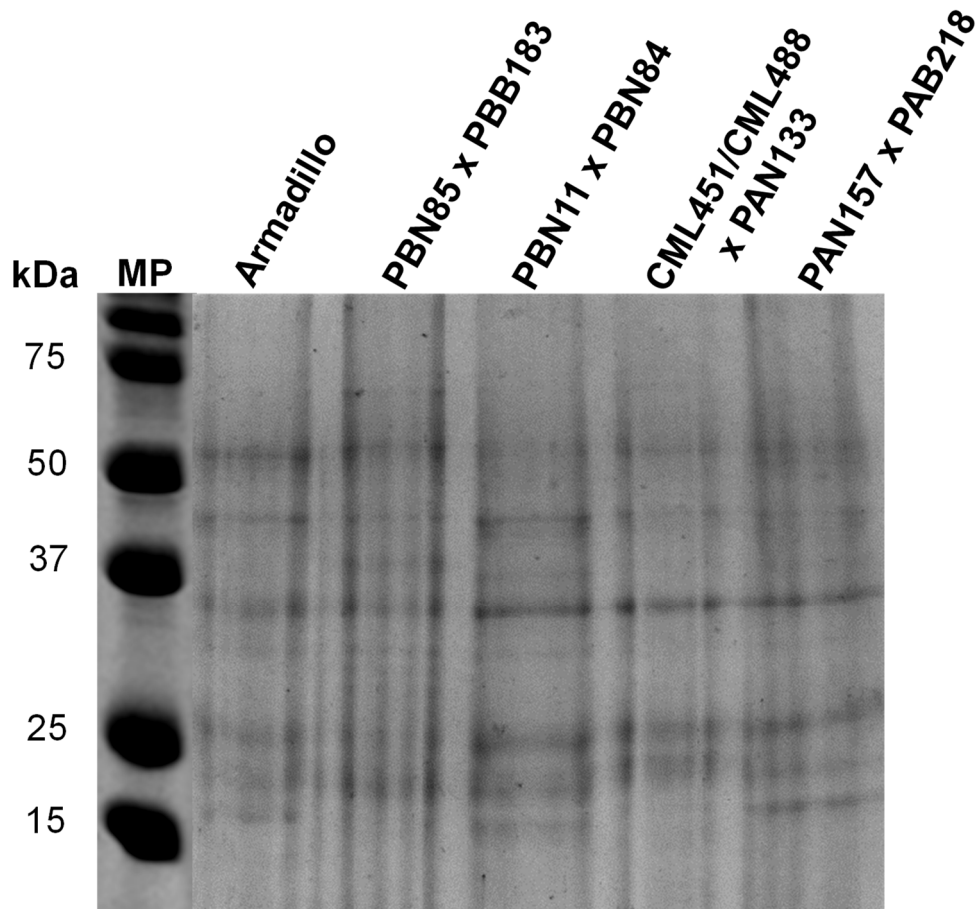


Figura 13. Separación por SDS-PAGE de la fracción de glutelinas de maíces ACA y un maíz híbrido comercial. Los pesos moleculares de marcadores preteñidos se muestran a la izquierda.

coincide con la correlación encontrada en este estudio ($r=0.894$, $p<0.05$) entre el contenido de glutelinas y el aminoácido lisina.

IX. CONCLUSIONES

1. Los maíces ACA presentaron un mayor contenido de proteína total y grasa, así como un menor contenido de almidón con relación al maíz comercial, atribuido a un incremento en el tamaño del germen en estos maíces y posiblemente una menor proporción de endospermo.
2. Los maíces ACA presentaron un mayor contenido de aminoácidos en el grano con respecto a un maíz comercial, incluyendo los aminoácidos limitantes lisina y triptófano, lo que se relacionó con un mayor contenido de proteína.
3. La cruce de maíz ACA PBN11 x PBN84 presentó lo mejores valores de digestibilidad y c-PER comparado con el híbrido comercial, lo que sugiere una mejor calidad proteínica de este maíz.
4. Dentro de las proteínas expresadas diferencialmente entre los maíces ACA y el híbrido comercial se identificaron a la proteína ARNr N-glicosilasa, Lactoilglutación liasa y una proteína de unión a ARN, las cuales poseen contenidos altos de lisina y triptófano, lo que pudiera estar contribuyendo a la mayor acumulación de estos aminoácidos en los maíces ACA.
5. Los resultados indican que algunos maíces ACA tienen buenas características nutricionales y sugieren que su introducción como alimento podría proporcionar mejores beneficios a la salud que los maíces comerciales.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Ackerman RS, Cozzarelli NR, Epstein W. 1974. Accumulation of toxic concentrations of methylglyoxal by wild-type *Escherichia coli* K-12. *Journal of Bacteriology* 119(2):357-362. <https://doi.org/10.1128/jb.119.2.357-362.1974>
- Aguirre-Mancilla CL, Godínez-Galán RY, Raya-Pérez JC, Gutiérrez-Benicio GM, Ramírez-Pimentel JG, Covarrubias-Prieto J, García-Rodríguez JG. 2020. Protein content and quality of seeds in central Mexican maize (*Zea mays*) accessions. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias* 52(1):14-25.
- Ai Y, Jane JL. 2016. Macronutrients in corn and human nutrition. *Comprehensive Reviews in Food Science* 15(3):581-598. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12192>
- AOAC. 1999. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 16th ed. Gaithersburg, MD.: AOAC International.
- AOAC. 2006. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 18th ed. Gaithersburg, MD: AOAC International.
- Ayala-Rodríguez AE, Gutiérrez-Dorado R, Milán-Carrillo J, Mora-Rochín S, López-Valenzuela JA, Valdez-Ortiz A, Paredes-López O, Reyes-Moreno C. 2009. Nixtamalised flour and tortillas from transgenic maize (*Zea mays* L.) expressing amarantin: Technological and nutritional properties. *Food Chemistry* 114(1):50-56. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.017>
- Badui Dergal S. 2006. *Química de los alimentos*. 4a ed. Naucalpan de Juárez, Edo. de México: Pearson Educación de México, S.A. de C.V. 736 p.
- Barboza Y, Arévalo E, Márquez E, Piñero MP, Parra K, Anderson H. 2005. Efecto de la incorporación de proteína plasmática sobre la composición química y calidad proteica de un producto formulado con maíz tierno. *Revista Científica* 15(6):536-542.
- Benítez-Cardoza CG. 2006. El maíz: origen, composición química y morfología. *Materiales Avanzados* 7:15-20.
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72(1-2):248-254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>

- Brown RE, Jarvis KL, Hyland KJ. 1989. Protein measurement using bicinchoninic acid: elimination of interfering substances. *Analytical Biochemistry* 180(1):136-139. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(89\)90101-2](https://doi.org/10.1016/0003-2697(89)90101-2)
- Carvalho IR, Szareski VJ, Mambrin RB, Ferrari M, Pelegrin AJ, Da Rosa TC, Peter M, Silveira DC, Conte GG, Barbosa MH, De Souza VQ. 2018. Biometric models and maize genetic breeding: a review. *Australian Journal of Crop Science* 12(11):1796-1805. <https://doi.org/10.21475/ajcs.18.12.11.p792>
- Chan-Chan M, Moguel-Ordóñez Y, Gallegos-Tintoré S, Chel-Guerrero L, Betancur-Ancona D. 2021. Caracterización química y nutrimental de variedades de maíz (*Zea mays* L.) de alta calidad de proteína (QPM) desarrolladas en Yucatán, México. *Biotecnia* 23(2):11-21. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v23i2.1334>
- Coleman CE, Larkins BA. 1999. The prolamins of maize. En: Shewry PR, Casey R, editores. *Seed proteins*. Arizon: Springer, Dordrecht. p. 109-139.
- Coutiño-Estrada B, Ortega-Corona A, Vidal-Martínez VA, Sánchez-Grajales G, García-Acuña SI. 2008. Selección recurrente para incrementar el contenido de aceite en maíz comiteco. *Revista Fitotecnia Mexicana* 31(3):5-8.
- Dado RG. 1999. Nutritional benefits of speciality corn grain hybrids in dairy diets. *Journal of Animal Science* 77(2):197-207. https://doi.org/10.2527/1999.77suppl_2197x
- Danişmazoğlu M, Demir I, Sezen K, Muratoğlu H, Nalçacioğlu R. 2015. Cloning and expression of chitinase A, B, and C (chiA, chiB, chiC) genes from *Serratia marcescens* originating from *Helicoverpa armigera* and determining their activities. *Turkish Journal of Biology* 39(1):78-87. <https://doi.org/10.3906/biy-1404-31>
- Dhar D, Tanuj S, Kumar MS, Kumar PA. 2012. Insights to sequence information of lactoylglutathione lyase enzyme from different source organisms. *International Research Journal of Biological Sciences* 1(6):38-42.
- Díaz-Gómez JL, Castorena-Torres F, Preciado-Ortiz RE, García-Lara S. 2017. Anti-cancer activity of maize bioactive peptides. *Frontiers in Chemistry* 5:44-51. <https://doi.org/10.3389/fchem.2017.00044>
- Dudley J, Lambert R. 2004. 100 generations of selection for oil and protein in corn. *Plant Breeding Reviews* 24(1):79-110. <https://doi.org/10.1002/9780470650240>

- Elliott J, Drackley J, Schauff D, Jaster E. 1993. Diets containing high oil corn and tallow for dairy cows during early lactation. *Journal of Dairy Science* 76(3):775-789. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77401-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77401-9)
- Espinosa CD, Oliveira MSF, Htoo JK, Stein HH. 2021. Concentrations of digestible amino acids in co-products from threonine and tryptophan fermentation are greater than in soybean meal. *Animal Feed Science and Technology* 277:114948. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.114948>
- Estrada BC, Corona AO, Martínez VAV, Grajalez GS, Acuña SIG. 2008. Selección recurrente para incrementar el contenido de aceite en maíz comiteco. *Revista Fitotecnia Mexicana* 31(3):5-8. https://doi.org/10.35196/rfm.2008.Especial_3.5
- FAO. 1993. Estructura del grano de maíz: el maíz en la nutrición humana. Roma, Italia: Food and Agriculture Organization. Disponible en <https://www.fao.org/3/t0395s/T0395S02.htm#Estructura%20del%20grano%20de%20maiz>. Consultado el 14 de noviembre de 2023.
- FAOSTAT. 2024. Food and Agriculture Organization Statistical Database. Disponible en <http://faostat.fao.org>. Consultado el 15 de mayo de 2024.
- Fonseca C, Planchon S, Pinheiro C, Renaut J, Ricardo CP, Oliveira MM, Batista R. 2014. Maize IgE binding proteins: each plant a different profile? *Proteome Science* 12(1):1-11. <https://doi.org/10.1186/1477-5956-12-17>
- Fries AM, Tapia ME. 2007. Guía de campo de los cultivos andinos. 1ª ed. Perú: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), Asociación Nacional de Productores Ecológicos del Perú (ANDE). 209 p.
- Genov N, Goshev I, Nikolova D, Georgieva DN, Filippi B, Svendsen I. 1997. A novel thermostable inhibitor of trypsin and subtilisin from the seeds of *Brassica nigra*: amino acid sequence, inhibitory and spectroscopic properties and thermostability. *Biochimica et Biophysica Acta -Protein Structure Molecular Enzymology* 1341(2):157-164. [https://doi.org/10.1016/S0167-4838\(97\)00049-6](https://doi.org/10.1016/S0167-4838(97)00049-6)
- Graves PR, Haystead TA. 2002. Molecular biologist's guide to proteomics. *Microbiology Molecular Biology Reviews* 66(1):39-63. <https://doi.org/10.1128/mnbr.66.1.39-63.2002>

- Han Y, Parsons C, Alexander D. 1987. Nutritive value of high oil corn for poultry. Poultry Science 66(1):103-111. <https://doi.org/10.3382/ps.0660103>
- Hasanudin K, Hashim P, Mustafa S. 2012. Corn silk (*stigma maydis*) in sealthcare: a phytochemical and pharmacological review. Molecules 17(8):9697-9715. <https://doi.org/10.3390/molecules17089697>
- Hernández-Espinosa N, Reyes-Reyes M, González-Jiménez FE, Núñez-Bretón LC, Cooper-Bribiesca BL. 2015. Importancia de las proteínas de almacenamiento en cereales (prolaminas). Vertientes Revista Especializada en Ciencias de la Salud 18(1):3-7.
- Hochholdinger F, Guo L, Schnable PS. 2004. Lateral roots affect the proteome of the primary root of maize (*Zea mays* L.). Plant Molecular Biology 56(3):397-412. <https://doi.org/10.1007/s11103-004-3476-9>
- Holding D, Larkins B. 2006. The development and importance of zein protein bodies in maize endosperm. Maydica 51(2):243.
- Hsu H, Vavak D, Satterlee L, Miller G. 1977. A multienzyme technique for estimating protein digestibility. Journal of Food Science 42(5):1269-1273. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1977.tb14476.x>
- 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. Plant Molecular Biology 61:525-535. <https://doi.org/10.1007/s11103-006-0027-6>
- INIFAP. 2017. Agenda técnica agrícola. Sinaloa. Ciudad de México: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.
- Kaul J, Jain K, Olakh D. 2019. An overview on role of yellow maize in food, feed and nutrition security. International Journal of Current Microbiology Applied Sciences 8(02):3037-3048. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.802.356>
- Kriz AL. 1989. Characterization of embryo globulins encoded by the maize Glb genes. Biochemical Genetics 27:239-251. <https://doi.org/10.1007/PL00020158>
- Kriz AL, Larkins BA. 2009. Molecular genetic approaches to maize improvement. Biotechnology in Agriculture and Forestry. Berlin: Springer

- Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head 366 of the bacteriophage T4. *Nature* 227:280-285. <https://doi.org/10.1038/227680a0>
- Lambert RJ. 2001. High-oil corn hybrids. En: Hallauer AR, editor. *Specialty corns*. New York: CRC Press. p. 131-154.
- Landi N, Hussain HZ, Pedone PV, Ragucci S, Di Maro A. 2022. Ribotoxic proteins, known as inhibitors of protein synthesis, from mushrooms and other fungi according to Endo's fragment detection. *Toxins* 14(6):403. <https://doi.org/10.3390/toxins14060403>
- Landry J, Moureaux T. 1980. Distribution and amino acid composition of protein groups located in different histological parts of maize grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 28(6):1186-1191. <https://doi.org/10.1021/jf60232a042>
- Larkins BA, Wu YongRui WY, Song RenTao SR, Messing J. 2017. Maize seed storage proteins. *CABI* 1:175–189. <https://doi.org/10.1079/9781786391216.0175>
- Lee B, Kim D, Leet S. 2001. Nutritive and economic values of high oil corn in layer diet. *Poultry Science* 80(11):1527-1534. <https://doi.org/10.1093/ps/80.11.1527>
- Lee YB, Elliott JG, Rickansrud DA, Hagberg EYC. 1978. Predicting protein efficiency ratio by the chemical determination of connective tissue content in meat. *Journal of Food Science* 43(5):1359-1362. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1978.tb02490.x>
- Li X, Kazan H, Lipshitz HD, Morris QD. 2014. Finding the target sites of RNA-binding proteins. *Wiley Interdisciplinary Reviews* 5(1):111-130. <https://doi.org/10.1002/wrna.1201>
- Lin K, Bockholt A, Magill C, Smith J. 1997. Changes in soluble endosperm proteins associated with selection of quality protein maize lines. *Maydica* 42(4):355-362.
- Linares-González JR. 2014. Estudio de la diversidad genética de individuos de poblaciones silvestres de *Caesalpinia spinosa* (molina) Kuntze" Tara" mediante análisis de patrones electroforéticos de proteínas seminales. [Tesis de licenciatura]. Lima, Perú Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 74 p.
- Liu Y, Gong X, Zhou Q, Liu Y, Liu Z, Han J, Dong J, Gu S. 2021. Comparative proteomic analysis reveals insights into the dynamic responses of maize (*Zea mays* L.) to

- Setosphaeria turcica infection. Plant Science 304:110811. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110811>
- Liu Z, Yang X, Fu Y, Zhang Y, Yan J, Song T, Rocheford T, Li J. 2009. Proteomic analysis of early germs with high-oil and normal inbred lines in maize. Molecular Biology Reports 36(4):813-821. <http://dx.doi.org/10.1007/s11033-008-9250-3>
- Llewellyn KJ, Nalbandian A, Gomez A, Wei D, Walker N, Kimonis VE. 2015. Administration of CoQ10 analogue ameliorates dysfunction of the mitochondrial respiratory chain in a mouse model of Angelman syndrome. Neurobiology of Disease 76:77-86. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nbd.2015.01.005>
- Lonosky PM, Zhang X, Honavar VG, Dobbs DL, Fu A, Rodermel SR. 2004. A proteomic analysis of maize chloroplast biogenesis. Plant Physiology 134(2):560-574. <https://doi.org/10.1104/pp.103.032003>
- Mallick P, Kuster B. 2010. Proteomics: a pragmatic perspective. Nature Biotechnology 28(7):695-709. <https://doi.org/10.1038/nbt.1658>
- Malumba P, Vanderghem C, Deroanne C, Béra F. 2008. Influence of drying temperature on the solubility, the purity of isolates and the electrophoretic patterns of corn proteins. Food Chemistry 111(3):564-572. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.04.030>
- Martínez-Romero A, Leyva-Galán A. 2014. La biomasa de los cultivos en el ecosistema. Sus beneficios agroecológicos. Cultivos Tropicales 35(1):11-20.
- Méchin V, Balliau T, Château-Joubert S, Davanture M, Langella O, Négroni L, Prioul J-L, Thévenot C, Zivy M, Damerval C. 2004. A two-dimensional proteome map of maize endosperm. Phytochemistry 65(11):1609-1618. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.04.035>
- Morup IK, Olesen ES. 1976. New method for prediction of protein value from essential amino acid pattern. Nutritional Report International 13:355–365.
- Moughan PJ. 2005. Dietary protein quality in humans an overview. Journal of AOAC International 88(3):874-876. <https://doi.org/10.1093/jaoac/88.3.874>
- Mouzo D, Bernal J, López-Pedrouso M, Franco DA-O, Zapata CA-OX. 2018. Advances in the biology of seed and vegetative storage proteins based on two-dimensional

- electrophoresis coupled to mass spectrometry. *Molecules*:1420-3049. <https://doi.org/10.3390/molecules23102462>
- Naumann TA, Wicklow DT. 2010. Allozyme-specific modification of a maize seed chitinase by a protein secreted by the fungal pathogen *Stenocarpella maydis*. *Phytopathology* 100(7):645-654. <https://doi.org/10.1094/phyto-100-7-0645>
- Ning F, Wu X, Zhang H, Wu Z, Niu L, Yang H, Wang W. 2017. Accumulation Profiles of Embryonic Salt-Soluble Proteins in Maize Hybrids and Parental Lines Indicate Matroclinous Inheritance: A Proteomic Analysis. *Frontiers in Plant Science* 8:1824. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01824>
- Nora J. 1999. Análisis de aflatoxinas en el maíz *Zea Mays* L, en la zona norte de Tamaulipas en el periodo primavera/verano 1995 en el centro de acopio " Los Castrellón". [Tesis de licenciatura]. Zapopan, Jalisco: Universidad de Guadalajara. 49 p.
- Nuss ET, Tanumihardjo SA. 2010. Maize: A paramount staple crop in the context of global nutrition. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 9(4):417-436. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00117.x>
- Ortíz-Islas S, García-Lara S, Preciado-Ortíz RE, Serna-Saldívar SO. 2018. Fatty acid composition and proximate analysis of improved high-oil corn double haploid hybrids adapted to subtropical areas. *Cereal Chemistry* 96(2):182-192. <https://doi.org/10.1002/cche.10109>
- Ortiz-Martinez M, Otero-Pappatheodorou JT, Serna-Saldívar SO, García-Lara S. 2017. Antioxidant activity and characterization of protein fractions and hydrolysates from normal and quality protein maize kernels. *Journal of Cereal Science* 76:85-91. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.05.021>
- Pajić Z. 2007. Breeding of maize types with specific traits at the Maize Research Institute, Zemun polje. *Genetika* 39(2):169-180. <https://doi.org/10.2298/GENSR0702169P>
- Paliwal RL, Granados G, Marathée J, Violic A. 2001. El maíz en los trópicos: mejoramiento y producción. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). 392 p.

- Paredes López O, Guevara Lara F, Bello Pérez LA. 2009. La nixtamalización y el valor nutritivo del maíz. *Ciencias* 92(93):60-70.
- Parris N, Moreau RA, Johnston DB, Singh V, Dickey LC. 2006. Protein distribution in commercial wet-and dry-milled corn germ. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(13):4868-4872. <https://doi.org/10.1021/jf060336d>
- Paulis JW, Bietz JA, Wall JS. 1975. Corn protein subunits. Molecular weights determined by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 23(2):197-201. <https://doi.org/10.1021/jf60198a047>
- Peralta M. 2004. Caracterización bioquímica de las proteínas de la semillas de *Jatropha Curcas* L. [Tesis de Maestría]. Yautepec, Morelos, México: Instituto Politécnico Nacional.
- Porubleva L, Vander Velden K, Kothari S, Oliver DJ, Chitnis PR. 2001. The proteome of maize leaves: use of gene sequences and expressed sequence tag data for identification of proteins with peptide mass fingerprints. *Electrophoresis* 22(9):1724-1738. [http://dx.doi.org/10.1002/1522-2683\(200105\)22:9<1724::Aid-elps1724>3.0.Co;2-2](http://dx.doi.org/10.1002/1522-2683(200105)22:9<1724::Aid-elps1724>3.0.Co;2-2)
- Prasanna B, Vasal S, Kassahun B, Singh N. 2001. Quality protein maize. *Current science* 81:1308-1319.
- Preciado-Ortiz RE, García-Lara S, Ortiz-Islas S, Ortega-Corona A, Serna-Saldivar SO. 2013. Response of recurrent selection on yield, kernel oil content and fatty acid composition of subtropical maize populations. *Field Crops Research* 142:27-35. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2012.11.019>
- Ramírez de León JA. 2016. Análisis, calidad y procesamiento de los alimentos en México. México: Plaza y Valdés México. 452 p.
- Ranum P, Peña-Rosas JP, Garcia-Casal MN. 2014. Global maize production, utilization, and consumption. *Annals of the New York academy of sciences* 1312(1):105-112. <https://doi.org/10.1111/nyas.12396>
- Rathore AS, Gupta RD. 2015. Chitinases from bacteria to human: properties, applications, and future perspectives. *Enzyme Research* 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/791907>

- Reddy VR, Seshu G, Jabeen F, Rao AS. 2012. Speciality corn types with reference to quality protein Maize (*Zea mays* L.) -A review. International Journal of Agriculture, Environment Biotechnology 5(4):393-400.
- Reyes-Moreno C, Milán-Carrillo J, Valdez-Ortiz A, Delgado-Vargas F, Martín L, Sánchez-Magaña JJRM, Gutiérrez-Dorado R. 2014. Bebida con potencial nutracéutico elaborada con maíz QPM extrudido y frijol fermentado. Revista Iberoamericana de Ciencias, 1(3):61-77.
- Riccardi Fdr, Gazeau P, de Vienne D, Zivy M. 1998. Protein Changes in Response to Progressive Water Deficit in Maize1: Quantitative Variation and Polypeptide Identification. Plant Physiology 117(4):1253-1263.
<https://doi.org/10.1104/pp.117.4.1253>
- Salazar-Salas NY, Pineda-Hidalgo KV, Chavez-Ontiveros J, Gutierrez-Dorado R, Reyes-Moreno C, Bello-Pérez LA, Larkins BA, Lopez-Valenzuela JA. 2014. Biochemical characterization of QTLs associated with endosperm modification in quality protein maize. Journal of Cereal Science 60(1):255-263.
<https://doi.org/10.1016/j.jcs.2014.04.004>
- Salazar-Salas NY, Valenzuela-Ponce L, Vega-Garcia MO, Pineda-Hidalgo KV, Vega-Alvarez M, Chavez-Ontiveros J, Delgado-Vargas F, Lopez-Valenzuela JA. 2017. Protein changes associated with chilling tolerance in tomato fruit with hot water pre-treatment. Postharvest Biology Technology 134:22-30.
<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.08.002>
- Sánchez-Ortega I, Pérez-Urria E. 2014. Maíz I (*Zea mays*). Reduca Biologia 7(2):151-171.
- Sanjeev P, Chaudhary DP, Sreevastava P, Saha S, Rajenderan A, Sekhar JC, Chikkappa GK. 2014. Comparison of fatty acid profile of specialty maize to normal maize. Journal of the American Oil Chemists' Society 91(6):1001-1005.
<https://doi.org/10.1007/s11746-014-2429-y>
- Satterlee LD, Kendrick JG, Marshall HF, Jewell DK, Ali RA, Heckman MM, Steinke HF, Larson P, Phillips R D, Sarwar G. 1982. *In vitro* assay for predicting protein efficiency ratio as measured by rat bioassay: collaborative study. Journal of the

- Association of Official Analytical Chemists 65(4):798-809.
<https://doi.org/10.1093/jaoac/65.4.798>
- Sauer M, Jakob A, Nordheim A, Hochholdinger F. 2006. Proteomic analysis of shoot-borne root initiation in maize (*Zea mays* L.). *Proteomics* 6(8):2530-2541.
<https://doi.org/10.1002/pmic.200500564>
- Serna-Saldívar S, Rooney L. 1994. Quality protein maize processing and perspectives for industrial utilization. EMBRAPA/CNPMS, Sete Lagoas, MG, Brazil. 89-120 p.
- SIAP. 2024. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Disponible en <https://www.gob.mx/siap/documentos/siacon-ng-161430>. Consultado el 09 de julio de 2024.
- Singh N, Vasudev S, Yadava DK, Chaudhary DP, Prabhu K. 2014. Oil Improvement in maize: potential and prospects. En: Chaudhary D, Kumar S, Langyan S, editores. *Maize: Nutrition Dynamics and Novel Uses*. New Delhi, India: Springer. p. 77-82.
- Sinha A, Mann M. 2020. A beginner's guide to mass spectrometry-based proteomics. *The Biochemist* 42(5):64–69. <https://doi.org/10.1042/BIO20200057>
- Sodek L, Wilson CM. 1971. Amino acid compositions of proteins isolated from normal, opaque-2, and floury-2 corn endosperms by a modified Osborne procedure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 19(6):1144-1150.
<https://doi.org/10.1021/jf60178a011>
- Song G, Li D, Piao X, Chi F, Chen Y, Moughan P. 2004. True amino acid availability in chinese high-oil corn varieties determined in two types of chickens. *Poultry Science* 83(4):683-688. <https://doi.org/10.1093/ps/83.4.683>
- Song GL, Li DF, Piao XS, Chi F, Wang JT. 2003. Comparisons of amino acid availability by different methods and metabolizable energy determination of a Chinese variety of high oil corn. *Poultry Science* 82(6):1017-1023.
<https://doi.org/10.1093/ps/82.6.1017>
- Sreckov Z, Nastasic A, Bocanski J, Djalovic I, Vukosavljev M, Jockovic B. 2011. Correlation and path analysis of grain yield and morphological traits in test-cross populations of maize. *Pakistan Journal of Botany* 43(3):1729-1731.

- Stipanuk MH, Caudill MA. 2018. Biochemical, physiological, and molecular aspects of human nutrition-e-book. 3^a ed. St. Louis, Missouri: Elsevier, Saunders. 968 p.
- Stipanuk MH, Caudill MA. 2019. Biochemical, physiological, and molecular aspects of human nutrition. 4th ed. St. Louis: Elsevier, Inc. 968 p.
- Svendsen I, Nicolova D, Goshev I, Genov N. 1994. Primary structure, spectroscopic and inhibitory properties of a two-chain trypsin inhibitor from the seeds of charlock (*Sinapis arvensis* L), a member of the napin protein family. International Journal of Peptide Protein Research 43(5):425-430. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3011.1994.tb00540.x>
- Thomison PR, Barker DJ, Geyer AB, Lotz LD, Siegrist HJ, Dobbels TL. 2003. Amino acid composition of topcross high-oil maize grain. Plant Genetic Resources 1(2-3):89-95. <https://doi.org/10.1079/pgr200315>
- Tongming S. 2001. High-oil corn breeding and development prospect in China. Review of China Agricultural Science Technology 3:40-43.
- UniprotKB. 2023. UniProt Knowledgebase. Disponible en <https://www.uniprot.org/uniprotkb>. Consultado el 14 de noviembre de 2023.
- Urango LA. 2018. Componentes del maíz en la nutrición humana. En: Hoyos Gómez GM, editor. Algunos componentes generales, particulares y singulares del maíz en Colombia y México. Colombia: Fondo Editorial Biogénesis. p. 185-209.
- Val LD, Schwartz SH, Kerns MR, Deikman J. 2009. Development of a high oil trait for maize. En: Kriz AL, Larkins BA, editores. Molecular Genetic Approaches to Maize Improvement. Berlin: Springer. p. 303-323.
- Vasal S. 2000. High Quality Protein Corn. En: Hallauer AR, editor. Specialty Corns. CRC Press. p. 85-120.
- Vázquez-Carrillo MG, Preciado-Ortíz RE, Santiago-Ramos D, Terrón-Ibarra A, Hernández-Calette A. 2018. Estabilidad del rendimiento y calidad de grano y tortilla de nuevos híbridos de maíz con valor agregado para el subtrópico de México. Revista Fitotecnia Mexicana 41(4-A):509-518. <https://doi.org/10.35196/rfm.2018.4-a.509-518>
- Vázquez-Carrillo MG, Santiago-Ramos D, Salinas-Moreno Y, López-Cruz J, Ybarra-Moncada MC, Ortega-Corona A. 2014. Genotipos de maíz (*Zea mays* L.) con

- diferente contenido de aceite y su relación con la calidad y textura de la tortilla. *Agrociencia* 48(2):159-172.
- Woo Y-M, Hu DW-N, Larkins BA, Jung R. 2001. Genomics analysis of genes expressed in maize endosperm identifies novel seed proteins and clarifies patterns of zein gene expression. *The Plant Cell* 13(10):2297-2317. <https://doi.org/10.1105/tpc.010240>
- Yao ZT, Yang YM, Sun MM, He Y, Liao L, Chen KS, Li B. 2022. New insights into the interplay between long non-coding RNAs and RNA-binding proteins in cancer. *Cancer Communications* 42(2):117-140. <https://doi.org/10.1002/cac2.12254>
- Yau JC, Bockholt AJ, Smith JD, Rooney LW, Waniska RD. 1999. Maize endosperm proteins that contribute to endosperm lysine content. *Cereal Chemistry* 76(5):668-672. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.1999.76.5.668>
- Youle RJ, Anthony HCH. 1981. Occurrence of low molecular weight and high cysteine containing albumin storage proteins in oilseeds of diverse species. *American Journal of Botany* 68(1):44-48. <https://doi.org/10.2307/2442990>
- Youle RJ, Huang AH. 1981. Occurrence of low molecular weight and high cysteine containing albumin storage proteins in oilseeds of diverse species. *American Journal of Botany* 68(1):44-48. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1981.tb06354.x>
- Zhang Z, Pu H, Liu P, Deng W, Yu S, Chen G, Jiang F. 2015. Advances in doubling methods of haploids by *in vivo* induction in maize. *Agricultural Biotechnology* 4(1):20.
- Zilic S, Milasinovic M, Terzic D, Barac M, Ignjatovic-Micic D. 2011. Grain characteristics and composition of maize specialty hybrids. *Spanish Journal of Agricultural Research* (1):230-241. <https://doi.org/10.5424/sjar/20110901-053-10>

ABREVIATURAS

AAE	Aminoácido esencial
Abs	Absorbancia
ACA	Maíz con alto contenido de aceite
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AGM	Ácido graso monoinsaturado
AGP	Ácido graso poliinsaturado
AGS	Ácido graso saturado
Ala	Alanina
Alb	Albúminas
AOAC	Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (del inglés, Association of Official Analytical Chemists)
Arg	Arginina
ARN	Ácido ribonucleico
ARNr	Ácido ribonucleico ribosómico o ribosomal
Asp	Ácido aspártico
ATP	Adenosín trifosfato
BCA	Ácido bicinconínico
Bs	Base seca
BSA	Albúmina de suero bovino
°C	Grados centígrados
C18	Carbono 18
CA	California
CIMMYT	Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo
CONAHCYT	Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías
c-PER	Relación de eficiencia proteica calculada
CQ	Calificación química
Cys	Cisteína
DAB	Diaminobencidina
DDP	Días después de la polinización
DTT	Ditiotreitol

E3A	Ubiquitina ligasa
ESI	Ionización por electrospray
EtOH	Etanol
EUA	Estados Unidos de América
FAO	Organización para la Agricultura y la Alimentación
FAOSTAT	Base de datos estadísticos de la Organización para la Agricultura y la Alimentación
G	Fuerza centrífuga relativa
g	Gramos
G6PDH	Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa
Glb	Globulinas
Gln	Glutamina
Glu	Ácido glutámico
Gly	Glicina
h	Hora(s)
HCl	Ácido clorhídrico
His	Histidina
HK	Hexoquinasa
Ile	Isoleucina
INIFAP	Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias
DPIV	Digestibilidad proteínica <i>in vitro</i>
kcal	Kilocalorías
kDa	Kilo dáltones
kg	Kilogramo(s)
KOH	Hidróxido de potasio
kV	Kilovoltio
L	Litro(s)
LC	Cromatografía líquida
LGL	Lactoilglutatiión liasa
LTD-XL	Espectrómetro de masas de trampa iónica lineal

Leu	Leucina
Lys	Lisina
M	Concentración molar
MA	Massachusetts
MALDI	Desorción/ionización láser asistida por una matriz
Met	Metionina
Meq	Miliequivalente
mg	Miligramos
min	Minutos
mL	Mililitros
mmol	Milimol
m/z	Relación masa / carga
N	Normalidad
Na ₂ B ₄ O ₇ ·10H ₂ O	Tetraborato de sodio
NaCl	Cloruro de sodio
NADP	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NaOH	Hidróxido de sodio
NH ₄ HCO ₃	Bicarbonato de amonio
nm	Nanómetros
OMS	Organización mundial de la salud
PBST	Buffer fosfato salino
pH	Coeficiente de acidez y alcalinidad
Phe	Fenilalanina
PM	Peso molecular
PNAG	Adenosina glicosilasa
Pro	Prolaminas
p/v	Peso por volumen
PVDF	Fluoruro de polivinilideno
QPM	Maíz de calidad proteínica
R	Coeficiente de correlación
RAAER	Requerimiento de aminoácido esencial recomendado

RIP	Proteínas inactivadoras de ribosomas
rpm	Revoluciones por minuto
SDS-PAGE	Electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico
Ser	Serina
SIACON	Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta
SIAP	Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera
Thr	Treonina
Ton	Toneladas
Trp	Triptófano
Tyr	Tirosina
V	Volts
VA	Virginia
Val	Valina
VB	Valor biológico
v/v	Volumen-volumen
WI	Wisconsin
μmol	Micromol (s)
μL	Micro litro (s)