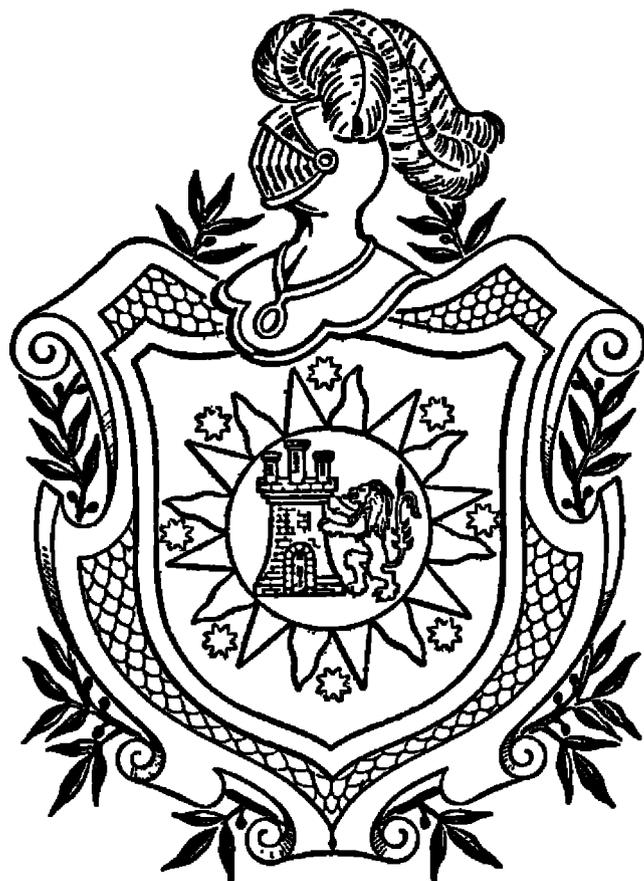


UNIVERSIDAD NACIONAL DE NICARAGUA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS



**Efecto de diversos tratamientos sobre la forma y la disponibilidad  
de la Niacina en el maíz y en sus preparados alimenticios**

*Roberto Gómez Brenes*

**TESIS**

LEON, NICARAGUA, C. A.

1958, AÑO DE LA AUTONOMIA

*Para el Sr. Bihar  
Oficio  
R. Gómez Brenes  
30/10/58*

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE NICARAGUA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS**

**Efecto de diversos tratamientos sobre la forma y la  
disponibilidad de la Niacina en el maíz y en  
sus preparados alimenticios**

**T E S I S**

*PRESENTADA Y SOSTENIDA*

*ANTE LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA*

**Facultad de Ciencias Químicas**

*POR*

**Roberto Gómez Brenes**

*EN EL ACTO DE SU INVESTIDURA DE*

**Doctor en Farmacia y Química**

---

Sólo los candidatos son responsables de las doctrinas  
consignadas en las Tesis. (Art. 105 del Reglamento.)

*León, Nicaragua, C. A.*  
*1958.*

## **UNIVERSIDAD NACIONAL DE NICARAGUA**

### **FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS**

*Rector . . . . . Dr. Mariano Fiallos Gil*  
*Vice Rector . . . . . Dr. José H. Montalván*  
*Secretario General . . . . . Dr. Carlos Tünnermann B.*

### **Junta Directiva de la Facultad de Ciencias Químicas de la**

## **UNIVERSIDAD NACIONAL DE NICARAGUA**

*Decano . . . . . Dr. Ernesto Ruiz Zapata*  
*Vice—Decano . . . . . Dr. Norlando Aguilar B.*  
*Secretario . . . . . Dr. Enrique Alvarado Sarria*  
*1er. Vocal . . . . . Dr. Róger Saborío Espinoza*  
*2do. Vocal . . . . . Dr. Noel Argüello Dubón*  
*3er. Vocal . . . . . Dra. Mercedes Avellán G.*  
*Suplentes: . . . . . Dr. Rafael Sandino Ramírez*  
*Dr. Leonardo Moreno M.*  
*Dr. Emilio Vargas Pérez*

---

### **Tribunal que practicó el Examen General Privado**

*Dr. Ernesto Ruiz Zapata*  
*Dr. Enrique Alvarado Sarria*  
*Dr. Róger Saborío Espinoza*  
*Dr. Norlando Aguilar Balladares*  
*Dr. Leonardo Moreno Mendoza*  
*Dr. Noel Argüello Dubón*  
*Dr. Emilio Vargas Pérez*

# *Dedico esta Tesis*

*A mis Padres:*

*Don Manuel J. Gómez Brenes*

*Dña. Berta B. de Gómez*

*A mis Hermanos:*

*GUILLERMO*

*BERTITA (q. e. p. d.)*

*LILLIAM*

*RICARDO*

*MANUEL*

*CARLOS*

*NOEL*

*A mis Sobrinos:*

*HAZEL*

*ENRIQUE*

*A la Familia Brenes.*

*A mis Profesores.*

*A mis compañeros y Amigos.*

## I N D I C E

	<i>Página</i>
I. INTRODUCCION .....	13
II. REVISION DE LA LITERATURA .....	14
III. MATERIAL Y METODOS .....	17
A. Muestras de Maíz .....	17
B. Preparados de Maíz .....	18
C. Métodos de Hidrólisis .....	19
D. Extracción del Acido Nicotínico por medio de Agua Destilada .....	21
E. Método Microbiológico Empleando <i>Lactobacillus</i> <i>arabinosus</i> 17-5 .....	21
F. Balance de Niacina .....	24
G. Cantidad de Acido Nicotínico en el Contenido Intestinal de Ratas Alimentadas con Maíz, Tortilla y Almidón .....	25
H. Otros Métodos Químico-Analíticos .....	26
IV. RESULTADOS .....	26
A. Comparación entre Agentes Hidrolizantes Usados para Determinar Microbiológicamente la Canti- dad de Acido Nicotínico Liberado del Maíz y de sus Preparados .....	26
B. Distribución del Acido Nicotínico en el Grano de Maíz .....	28

	<i>Página</i>
C. Acido Nicotínico Extraíble con Agua de las Fracciones Anatómicas del Grano de Maíz . . . .	29
D. Cambios en el Contenido de Acido Nicotínico del Maíz durante la Preparación de las Tortillas	30
E. Distribución del Acido Nicotínico en el Grano de Maíz después de la Cocción con Cal . . . . .	31
F. Porcentaje de Acido Nicotínico Extraíble con Agua del Maíz, del Nixtamal y de la Tortilla . . . . .	32
G. Acido Nicotínico Extraíble por medio de Agua, del Maíz Crudo, del Maíz Tostado y del Maíz Tratado en el Autoclave . . . . .	34
H. Hidrólisis Enzimática <i>In Vitro</i> , de la Niacina del Maíz y de sus Preparados . . . . .	35
I. Estudios de Balance en Ratas, del Acido Nicotínico del Maíz y de sus Preparados . . . . .	40
J. El Acido Nicotínico del Contenido Intestinal de Ratas . . . . .	42
V. DISCUSION . . . . .	43
VI. RESUMEN . . . . .	52
VII. RECONOCIMIENTOS . . . . .	56
VIII. BIBLIOGRAFIA PERTINENTE . . . . .	57

*Honorable Tribunal Examinador:*

*Presento a vuestra consideración este trabajo de «Tesis», como último requisito para obtener el Título de Doctor en Farmacia y Química.*

*Este trabajo se realizó en los Laboratorios del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), Ciudad Guatemala, bajo la dirección del Dr. Ricardo Bressani, Jefe de la División de Química Agrícola y Alimentos.*

---

---

# **EFFECTO DE DIVERSOS TRATAMIENTOS SOBRE LA FORMA Y LA DISPONIBILIDAD DE LA NIACINA EN EL MAIZ Y EN SUS PREPARADOS ALIMENTICIOS**

## **I. INTRODUCCION**

Desde hace ya varios años, la relación entre la pelagra y el consumo de maíz ha sido un tema de interés para muchos investigadores y en una evaluación llevada a cabo en 1955 por el Comité de Expertos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y de la Organización Mundial de la Salud (43) sobre el estado de los conocimientos acerca de la pelagra, se llegó a la conclusión de que el problema de la acción pelagrogénica del maíz todavía no había sido elucidado.

Hoy en día la pelagra aún es un problema endémico en Egipto (4), en Yugoslavia (3), y en ciertas regiones del Africa (15,16). En México y en los países de la América Central el consumo del maíz es significativamente alto (1,10,22,46,47) y a pesar de eso la pelagra es muy excepcional en tales lugares. La explicación de este hecho no es clara, aun cuando es posible que el consumo de alimentos ricos en niacina o en triptófano sea suficiente para tener un efecto protector en contra de esa deficiencia de la vitamina. Sin embargo, ciertos investigadores han indicado que el método de preparación del maíz para consumo humano da por resultado un producto, la tortilla, que

ha perdido su efecto pelagrogénico. Debido a la importancia alimenticia del maíz en la forma de tortilla en la América Central, y con el fin de obtener mayores conocimientos de las formas y disponibilidad de la niacina en ese cereal, así como en sus preparados alimenticios, se consideró importante investigar el efecto de varios agentes de hidrólisis en el contenido de ácido nicotínico del maíz, determinado por métodos microbiológicos.

Asimismo, se estimó de interés averiguar cuál era la distribución de la niacina en el grano de maíz, determinar los cambios que ocurren en cuanto a su distribución durante la preparación de las tortillas, y medir las cantidades de esa vitamina extraídas con agua de las fracciones anatómicas del grano así como de los diferentes preparados alimenticios del maíz. Para poder evaluar la disponibilidad de la niacina del maíz y de sus preparados, se realizaron hidrólisis enzimáticas *in vitro*, análisis que se trataron de corroborar con estudios *in vivo* de la disponibilidad de esa vitamina, y los cuales se llevaron a cabo en ratas.

## II. REVISION DE LA LITERATURA

Entre los primeros estudios llevados a cabo para determinar el efecto de la cal en el valor nutritivo del maíz cabe mencionar los de Krehl y colaboradores (35,36,37). Estos investigadores encontraron que el agregado de 40% de maíz molido a una dieta baja en caseína, disminuía el crecimiento de las ratas, efecto que se contrarrestaba mediante la adición de niacina o de triptofano a la misma dieta. En otros experimentos realizados por Krehl y colaboradores (38) estos investigadores no encontraron diferencia entre el crecimiento de ratas alimentadas con maíz crudo y el de aquéllas cuya dieta consistía de maíz tratado con cal. Sin embargo, Laguna y Carpenter (40), Cravioto y colaboradores (18), Squibb y colaboradores (51) y otros (21), han dado cuenta que las ratas alimentadas con maíz

tratado con cal tiene un crecimiento mejor que las que reciben maíz crudo únicamente. Braude y colaboradores (7) manifiestan que han logrado curar cerdos que sufrían de pelagra alimentándolos con maíz parcialmente hidrolizado con hidróxido de sodio. En experimentos realizados con seres humanos, Goldsmith y colaboradores (24,25) no pudieron demostrar efecto beneficioso alguno resultante de la administración de maíz tratado con cal a personas que sufrían de pelagra. En general, de todos los resultados experimentales de que se dispone, existen tres explicaciones del posible efecto beneficioso de la tortilla, o sea del maíz tratado con cal, en cuanto a un mejor crecimiento en animales de experimentación o en lo que respecta a la curación de la deficiencia experimental de la niacina. Según ciertos investigadores (6,55), el tratamiento alcalino tiene como efecto la destrucción de un factor pelagrogénico del maíz. Aunque tal teoría no ha sido sustentada desde el punto de vista experimental, ésta no debe pasar del todo desapercibida. Otros investigadores (20,34,38,39,40,41) han sugerido que la acción pelagrogénica del maíz se debe a un desbalance de aminoácidos, especialmente de triptófano, y según explicaciones al respecto, ese desequilibrio tiene como resultado un aumento de la necesidad de ácido nicotínico del animal (38,39). La acción benéfica del tratamiento alcalino se debe, según Cravioto y colaboradores (19), a una racemización de ciertos aminoácidos, lo que da por resultado un mejor balance entre los aminoácidos esenciales. De acuerdo con Bressani y Scrimshaw (9) el tratamiento alcalino tiene como efecto una mejora del balance de los aminoácidos esenciales debido a que la solubilidad de la zeína del maíz disminuye significativamente en la tortilla, mientras que las otras proteínas del maíz se ven menos afectadas por el tratamiento. Por consiguiente, el organismo así se favorece de la acción de otras proteínas mejores que la zeína desde el punto de vista de la nutrición. Estos investigadores no encontraron diferencias significativas en cuanto al contenido de los aminoácidos esenciales y no esenciales del maíz o de la tortilla.

Ultimamente ha merecido la atención de varios investigadores otra explicación en el sentido de que la niacina en el maíz se encuentra en forma ligada y, por lo tanto, no disponible totalmente al organismo. Esta forma ligada en que se presenta la niacina del maíz no constituye, según parece, una fuente de la vitamina para las ratas que sufren de deficiencia de niacina (11,32) ni para los pollos (17,35), los patos (30), ni los cerdos (5,7,13,14). Varios investigadores han encontrado que la niacina, en su forma ligada, se hace parcialmente disponible para las bacterias **Lactobacillus arabinosus** y **Lactobacillus casei** (35). Asimismo, otros investigadores manifiestan que la actividad completa de la niacina en la forma ligada para la rata puede obtenerse por el tratamiento alcalino (8,21,33,40,51). Kodicek y colaboradores (33) presentaron recientemente evidencia convincente de que la niacina en el maíz se presenta en forma ligada y del efecto beneficioso que los álcalis tienen para el rompimiento de esa posible ligadura, permitiendo así la liberación completa de la vitamina. Aunque la evidencia que esos autores presentan tiene validez, debe tenerse en cuenta que el efecto del tratamiento alcalino no es selectivo para la niacina del maíz, ya que éste es un alimento complejo y aun cuando sí se demostró la liberación de la vitamina, el álcali indudablemente puede alterar beneficiosamente otros compuestos orgánicos del maíz, ya sean éstos factores inhibidores, proteínas o carbohidratos.

Aún más recientemente, Pearson y colaboradores (44) demostraron que el álcali no es un factor esencial para liberar la niacina en su forma ligada, ya que el mismo efecto se obtiene con sólo hervir el grano con agua. Aunque la evidencia es aceptable, esta explicación está sujeta a la misma crítica, es decir, que el tratamiento empleado por Pearson y sus asociados (44) es capaz de alterar otros compuestos del grano de maíz.

No obstante que no se pone en duda la presencia de una forma ligada de la niacina, es difícil aceptar ésta como la ex-

plicación total de la acción pelagrogénica del maíz, no sólo por las razones ya expuestas sino también debido a que otros cereales como el arroz contienen menores cantidades de niacina (29,31,48,49,52), y al igual que sucede en el maíz, ésta también se presenta en forma ligada (17,31,45,48,49). Asimismo, otras vitaminas del complejo B se encuentran en forma ligada en los alimentos (26,48,49), y es necesario hidrolizar el material para su determinación química; sin embargo, la deficiencia de estas vitaminas no ha sido atribuida a la falta de liberación del alimento al organismo, sino más bien a una deficiencia de esta vitamina en la dieta.

Un posible efecto del tratamiento a que es sujeto el maíz, ya sea éste alcalino en naturaleza o simplemente cocido con agua, es el de la producción de cambios no sólo en cuanto a la disponibilidad o al balance de los aminoácidos, sino también en lo que respecta a cambios en los carbohidratos del cereal. Ciertos investigadores (23) ha demostrado que el tipo de carbohidrato de la dieta puede tener como resultado un menor requerimiento de niacina, hecho que puede ser debido a una síntesis intestinal más prolífica. Es posible que el tratamiento recibido por el maíz afecte los carbohidratos contenidos en el grano de tal manera que los requerimientos orgánicos de la niacina disminuyan debido a la mayor síntesis intestinal de esta vitamina.

### **III. MATERIAL Y METODOS**

#### **A. Muestras de maíz**

Para llevar a cabo los estudios sobre el contenido, distribución y formas en que la niacina se presenta, se usaron dos muestras de este cereal. Los maíces empleados pertenecían al tipo que se consume principalmente en la región de donde provenían. Una de las muestras, denominada "Maíz de Montaña", tiene las siguientes características: de color amarillo, el grano es grande, redondo y suave, y se cultiva a una altura

aproximada de 4,500 pies sobre el nivel del mar. La otra muestra, conocida con el nombre de "Maíz de Costa", se obtuvo de plantaciones situadas a una altura de cerca de 650 pies sobre el nivel del mar. Su grano es grande, delgado, duro y ligeramente amarillo. Los maíces fueron almacenados en un cuarto frío a una temperatura de 4° C. durante todo el tiempo en que se trabajó con ellos, y se obtuvieron sub-muestras para la realización de los estudios objeto de este trabajo de tesis.

## **B. Preparados de maíz**

1. **La Tortilla:** El método seguido para la preparación de las las tortillas es esencialmente el descrito por Bressani, Paz y Paz y Scrimshaw (8) y es como sigue: A 100 G. de maíz se le agrega 2 G. de hidróxido del calcio y 200 ml. de agua destilada. La mezcla se cuece a fuego lento por espacio de hora y media, añadiéndole agua destilada conforme sea necesario para mantener cubierto el maíz durante todo el tiempo de cocción. Luego se deja en reposo por espacio de 22 horas al cabo de las cuales se lava 3 o 4 veces con agua destilada, descartándose el agua usada para lavarlo. A continuación el maíz así cocido o "nixtamal" se muele en un molino de carne y después en la "piedra de moler", quedando así ya lista la masa para hacer las tortillas. Estas se ponen a secar durante 18 horas en un horno de vacío y se muelen ya secas, en un molino Wiley a un grueso de 40 mallas. Cabe mencionar que este mismo procedimiento se usó en la preparación de todas las muestras analizadas en el curso de esta investigación.

2. **Maíz Germinado:** Este preparado se obtuvo esterilizando el maíz crudo durante 2 minutos en una solución acuosa al 0.2% de bicloruro de mercurio. El maíz se lavó tres veces con agua esterilizada y se dejó germinar por espacio de 90 horas. Luego se secó al vacío y se molió para realizar los análisis correspondientes.

3. **Maíz Cocido:** El maíz crudo fue puesto a cocer en el autoclave a 15 libras de presión y a 121.5° C. por espacio de 30 minutos, usando la proporción de 80 ml. de agua destilada para 100 G. de maíz crudo.

4. **Maíz Tostado.** El maíz se colocó en una sartén de metal sobre una hornilla caliente. Se agitó durante suficiente tiempo de tal manera que todos los lados del maíz se tostaran y se desprendiera del mismo el olor característico del pinol.

5. **Maíz en seco tratado por vapor:** Este preparado se elaboró sometiendo al autoclave el maíz crudo a 15 libras de presión y a 121.5° C. durante 10 minutos.

6. **Fraccionamiento del grano de maíz en sus partes anatómicas:** Se guardó una cantidad aproximada de 100 g. de maíz en un frasco con agua destilada lo suficiente como para cubrir la muestra por completo. Esta mezcla se dejó reposar durante 24 horas al cabo de las cuales se decantó el agua restante, y valiéndose de un par de pinzas y de una navaja se procedió a fraccionar el grano en cáscara, germen y endosperma. Cada fracción fue secada al vacío y pesada para obtener datos de su peso con respecto al del grano entero. En el caso del fraccionamiento del grano de maíz después de su cocción con cal, el método utilizado para obtener el germen y el endosperma fue igual al descrito anteriormente.

### **C. Métodos de Hidrólisis**

Los hidrolizados del maíz en crudo y los preparados del grano se llevaron a cabo usando un gramo de muestra con 50 ml. del hidrolizante respectivo y sometiendo el material al autoclave por espacio de 30 minutos, a 15 libras de presión y a una temperatura de 121.5°C. El hidrolizado se llevó después a un pH de 12 (53,54) y se mantuvo en este estado durante

15 minutos; luego se llevó a un pH de 6.8, estando así el producto listo para ser analizado microbiológicamente. Los reactivos empleados fueron una solución (1N) uno normal de ácido sulfúrico, la que se consideró como hidrolizante estándar; solución (0.1N) un décimo normal de ácido clorhídrico; suspensión (2N) dos normal del hidróxido del calcio preparado según el método descrito por Friedemann y Frazier (23); solución (0.5N) cinco décimos normal del hidróxido de sodio, y agua destilada. El otro método de hidrólisis utilizado fue el enzimático, usándose la secuencia de pepsina, tripsina y pancreatina de acuerdo con el método que se describe a continuación. Una muestra de maíz y muestras de preparados de maíz de 5 gramos de peso, cada una, fueron puestas en frascos Erlenmeyer de 250 ml. de capacidad, agregándosele 75 ml. de agua destilada y 50 ml. de una solución (1N) uno normal de ácido sulfúrico. A esta mezcla se le añadió 15 mg. de pepsina (1) actividad 1:10,000), se cubrió con una capa de tolueno y se tapó el frasco con algodón. Los frascos y sus contenidos se pusieron en la incubadora a una temperatura de 37° C. y al cabo de 12 horas se sacó el primer grupo de frascos Erlenmeyer. A los frascos restantes se les agregó 3 g. de fosfato diabásico de potasio, ajustando el pH a 8.4 y adicionándoseles 15 mg. de tripsina (2), (actividad 1:300). La incubación se continuó por 48 horas más, sacando el segundo grupo de frascos a las 24 horas y el tercero a las 36 horas de haberse iniciado la incubación para la hidrólisis enzimática. Al grupo de muestras restantes se les ajustó el pH a 7.8 y se les agregó 150 mg. de pancreatina, continuándose la incubación a 37° C. por espacio de 36 horas más. El grupo No. 4 de muestras se sacó a las 48 horas, el No. 5 a las 60 horas, y el grupo No. 6 a las 72 horas de haber principiado la incubación. Después de sacar de la incubadora

---

(1) La pepsina y la pancreatina fueron obtenidas de la Casa Merck Co., Inc., Rahway, N. J., E. U. A.

(2) La tripsina se obtuvo de la General Biochemicals, Inc., Laboratory Park, Chagrin Falls, Ohio, E. U. A.

los distintos grupos de muestras, éstas fueron filtradas y almacenadas en un cuarto refrigerado a la temperatura de 4° C. El residuo de la hidrólisis se trasladó a frascos Erlenmeyer y se hidrolizó con una solución (1N) uno normal de ácido sulfúrico, o sea el hidrolizante estándar. Los hidrolizados enzimáticos o filtrados se sometieron al autoclave a 15 libras de presión y a 121.5° C. durante 15 minutos, ajustándoseles el pH a 6.8 para analizarlos microbiológicamente. En todas las hidrólisis llevadas a cabo se incluyó un grupo de frascos que contenían las enzimas pero no las muestras, a fin de hacer las correcciones respectivas. La hidrólisis enzimática, de 24 horas se llevó a cabo en la forma ya descrita, con la diferencia de que se emplearon 4 horas de hidrólisis con pepsina, 8 horas con tripsina y 12 horas con pancreatina.

#### **D. Extracción del ácido Nicotínico por medio de agua destilada**

El método que se describe a continuación se usó como un índice de la cantidad de niacina ligada contenida en el maíz, en la tortilla y en otros preparados del cereal. A una muestra de un gramo de peso se le agregó 100 ml. de agua destilada, sometiéndose luego a una agitación continua durante 30 minutos, a la temperatura del laboratorio. La muestra se filtró y el filtrado se ajustó a pH 6.8 y a un volumen de 200 ml. El residuo se hidrolizó usando el método estándar descrito previamente.

#### **E. Método microbiológico empleando *Lactobacillus arabinosus* 17-5**

Todos los hidrolizados, tanto ácidos como alcalinos o enzimáticos, fueron ajustados a un pH de 6.8 y a un volumen que varió según la concentración de ácido nicotínico. De acuerdo con esta concentración se tomaron diferentes alícuotas, a fin de obtener concentraciones de alrededor de 0.10 mcg. de áci-

do nicotínico por ml. Una vez hechas las diluciones, cada muestra se distribuyó en dos hileras de tubos de cinco cada una, de la manera siguiente: 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, ~~1.8~~, 2.0 ml., ajustándose con agua destilada a un volumen de 2.00 ml.

Se usó una solución madre que había sido preparada con 25 mg. de ácido nicotínico disueltos en 500 ml. de alcohol etílico al 50%. De esta solución se tomó 1.25 ml. y se diluyó en 500 ml. con agua destilada, lo que dió por resultado una solución estándar que contenía 0.125 mcg. por ml.

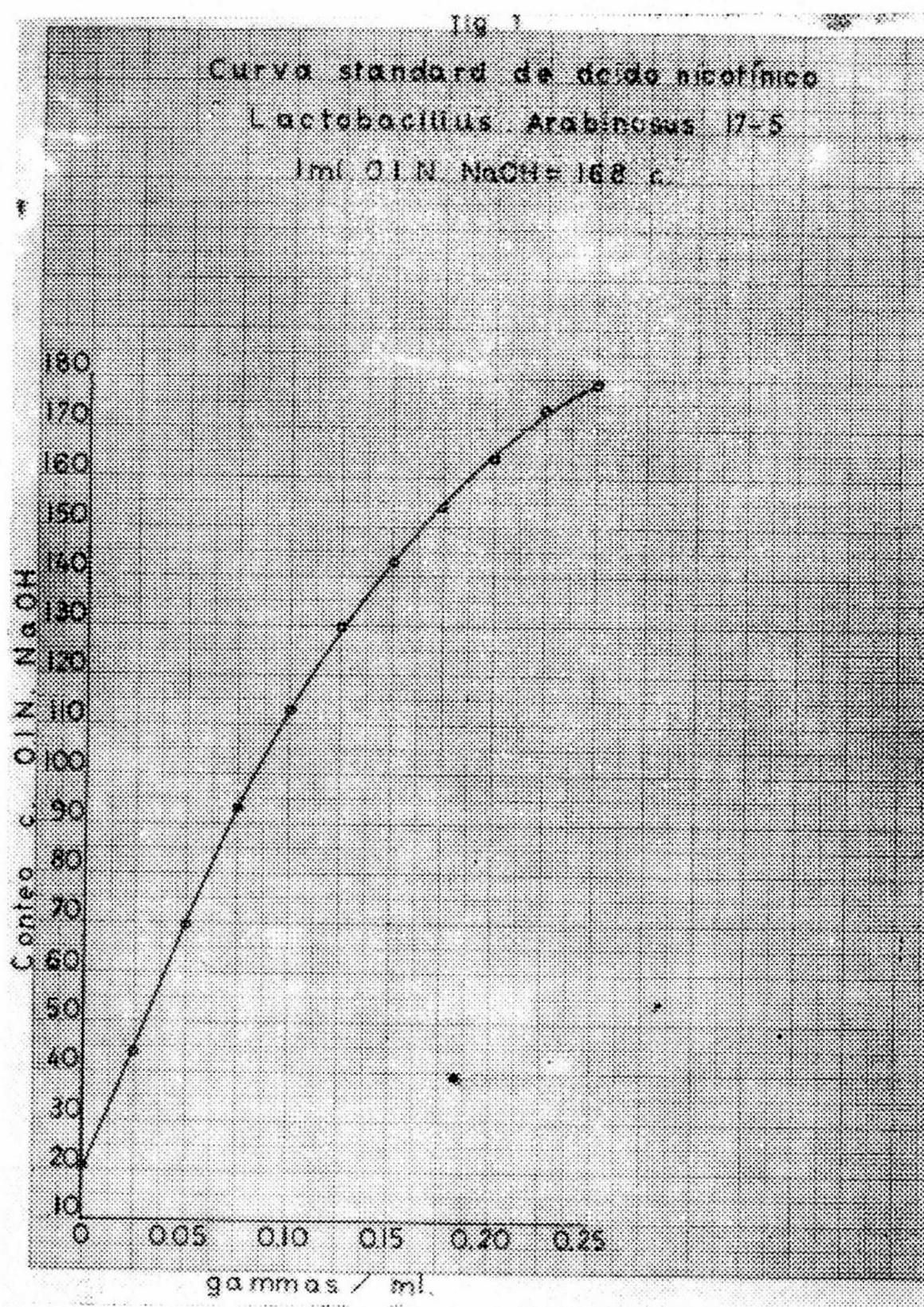
Esta solución se usó para elaborar curvas estándar en las cuales se usaron 2 hileras de tubos, de once cada una, que se distribuyeron en la forma que se detalla a continuación: 0.00, 0.20, 0.40, 0.60, 0.80, 1.00, 1.20, 1.40, 1.60, 1.80 y 2.00 ml., empleando agua destilada en orden inverso, para ajustar a un volumen de 2.00 ml. Como medio de cultivo se usó medio DIFCO (1) para niacina, el que se preparó disolviendo 75 g. en un litro de agua caliente. De este medio se utilizaron 3 ml. para cada tubo. Luego se esterilizaron las muestras y los estándares durante 5 minutos en el autoclave, a 15 libras de presión y a 121.5° C. Para el **inoculum** se emplearon cultivos jóvenes, de 18 horas, de **Lactobacillus arabinosus 17-5** que crecieron en un medio igual al que se le había agregado 20 mcg. de ácido nicotínico por cada 10 ml. Los cultivos fueron centrifugados descartándose el sobrenadante, y al residuo se le agregó suero fisiológico estéril, siendo ésta la solución empleada para inocular las muestras y los estándares.

Los tubos fueron incubados a 37° C. durante 72 horas y luego el ácido láctico, producido por el crecimiento bacteriano, se midió titulando con una solución (1N) uno normal de hidróxido de sodio y usando como indicador el azul de Bromotimol.

---

(1) Difco Laboratories, Detroit 1, Michigan, E.U.A.

El crecimiento obtenido en las muestras se comparó con el obtenido de la curva estándar (Figura 1) y sobre ésta se calculó la niacina contenida en las mismas.



## F. Balance de niacina

Para los estudios de balance de niacina se empleó la siguiente dieta basal: Caseína (1) 9.00%; zeína 5.00%; almidón de maíz 70.80%; minerales (2) 5.00%; aceite de algodón 5.00%; aceite de hígado de bacalao 2.15%; cistina 0.30%; inositol 0.10%; colina 0.15%; fosfato monobásico de calcio 0.50%; fibra cruda 2.00%; y 20 ml. de una solución de vitaminas por kilogramo de ración. Esta solución contenía en 1.000 ml. las siguientes cantidades de vitaminas: 100 mg. de vitamina K, 10 g. de ácido para-amino-benzoico, 2 g. de riboflavina, 2 g. de clorhidrato de piridoxina, 2 g. de clorhidrato de tiamina, 6 g. de pantotenato de calcio, 40 mg. de biotina, 200 mg. de ácido fólico y 3 mg. de vitamina B<sub>12</sub>. El análisis microbiológico de la dieta basal no demostró que ésta contuviera ácido nicotínico. Para llevar a cabo el estudio de balance se usaron 8 ratas adultas, albinas, 6 hembras y 2 machos, de la colonia de experimentación del INCAP. Las ratas fueron divididas en 4 pares identificados con las letras A, B, C, y D. Los animales fueron alimentados con la dieta basal durante un período de 8 días, de los cuales 4 fueron de adaptación, dedicándose los 4 restantes a la recolección de heces. Después de estar sujetas a la dieta basal, a cada uno de los 4 pares de ratas se les administró, durante 8 días, las dietas experimentales, que eran idénticas a la dieta basal, excepto que en cada dieta experimental la zeína y el almidón se sustituyeron en parte por 30% de maíz crudo, 30% de tortilla, 30% de maíz hervido y 30% de maíz germinado. Estos ingredientes fueron la única fuente de niacina. Como en el caso anterior, de los 8 días en que se les administró cada dieta, 4 fueron de adaptación y 4 de recolección de heces. Los pares de ratas fueron nuevamente alimentados con la dieta basal

---

(1) Vitamin-free casein, Nutritional Biochemicals Corporation, Cleveland, Ohio, E.U.A.

(2) Salmina, Compañía Riverside, Guatemala, C. A.

por espacio de 8 días, repitiéndose el proceso cuatro veces, de tal manera que los 4 pares de ratas recibieron las 4 dietas experimentales en períodos diferentes. Las heces fueron pesadas y almacenadas bajo refrigeración hasta efectuarse los análisis respectivos. La alimentación se les administró **ad libitum** y se midió en cada período experimental la cantidad de alimento ingerido y la cantidad de heces producidas. Estos análisis se realizaron en cada par de ratas.

#### **G. Cantidad de ácido nicotínico en el contenido intestinal de ratas alimentadas con maíz, tortilla y almidón**

Para la práctica de este estudio se usaron ratas adultas que pesaban alrededor de 156 a 247 gramos cada una. Los animales permanecieron en ayunas durante 48 horas a fin de que evacuaran en lo posible el aparato digestivo. Al cabo de este período de ayuno, a cada uno de cuatro grupos compuestos de diez animales experimentales se les ofreció 4 gramos de maíz, de tortilla, o de almidón con 102.8 mcg. de niacina (Dieta control N° 1) o bien de almidón sólo (Dieta control N° 2), quitándoseles el alimento sobrante después de un término de 3 horas. La cantidad de niacina agregada al almidón (Dieta control N° 1) fue un poco en exceso comparada con la niacina que aportan 4 gramos de maíz o de tortilla. Los dos grupos de animales que recibieron almidón con o sin el agregado de niacina se usaron como "testigo", uno para que sirviera como factor de corrección de la niacina endógena o sintetizada, y el otro, para usarlo como estándar de la absorción de niacina libre del aparato digestivo. También se pesó el alimento sobrante para conocer la ingesta exacta del alimento ofrecido a los animales. Dos de ellos fueron sacrificados al término del período de ayuno con el propósito de obtener la niacina contenida en el aparato digestivo al iniciarse el estudio. Cabe mencionar que a estos animales no se les había dado alimento alguno. A dos ratas de cada grupo se les dió muerte por golpe en la cabeza, a las 3, 6, 9, 12 y 15 horas

después de completar el período de ayuno, y luego fueron disectadas para extraerles el aparato digestivo completo, desde el esófago hasta el ano. El material contenido en el aparato digestivo se lavó con agua destilada y se guardó en frascos volumétricos de 250 ml. de capacidad. Estos permanecieron en un cuarto refrigerado hasta el momento que se iniciaron los análisis de niacina. Se hidrolizaron las muestras usando una solución (1N) uno normal de ácido sulfúrico, llevándolas a un volumen de 500 ml., y se procedió luego en la forma descrita anteriormente. En el hidrolizado del contenido intestinal se determinó la cantidad de ácido nicotínico y de nitrógeno total, empleando las técnicas antes descritas.

#### **H. Otros métodos químico-analíticos**

Para las determinaciones de humedad y para la digestión de las muestras e hidrolizado, en la determinación de nitrógeno, se emplearon los métodos de la A.O.A.C. (2). La destilación en la determinación de nitrógeno se llevó a cabo según el método descrito por Hamilton y Simpson (27).

### **IV. RESULTADOS**

#### **A. Comparación entre agentes hidrolizantes usados para determinar microbiológicamente la cantidad de ácido nicotínico liberado del maíz y de sus preparados**

Los resultados obtenidos en esta parte del estudio se presentan en las Tablas 1 y 2 en lo que respecta al "Maíz de Montaña" y al "Maíz de Costa", respectivamente. En general, los valores de ácido nicotínico más altos fueron obtenidos por medio de hidrólisis ácidas, utilizando ácido sulfúrico o clorhídrico, seguidos por las hidrólisis alcalinas, en las que se empleó hidróxido de sodio o de calcio y, por último, mediante hidrólisis enzimática o sólo con agua destilada. En los preparados que recibieron un tratamiento previo a la hidrólisis química —tratamiento que tuvo como resultado una hidróli-

sis parcial del material como fue el caso en la tortilla, en el maíz hervido o en el maíz germinado— tanto la hidrólisis enzimática como la realizada con agua sola produjeron resultados similares a los obtenidos con hidrólisis ácidas o alcalinas.

Tabla 1. Contenido de Acido Nicotínico del "Maíz de montaña" y de sus preparados, usando diferentes agentes hidrolizantes.

Muestra	Humedad %	Agente Hidrolizante Usado					
		1N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.1N HCl	0.5N NaOH	2N Ca(OH) <sub>2</sub>	Enzi mático	Agua Destilada
<i>Mg. Acido Nicotínico /100 g.</i>							
Maíz Crudo	15.0	2.09	2.06	1.90	1.96	1.80	1.74
Tortilla	7.7	1.76	1.68	1.46	1.60	1.60	1.56
Maíz Tostado	6.5	1.98	2.16	1.80	1.98	1.74	1.92
Maíz en seco tratado en el autoclave	15.0	2.05	2.15	1.80	1.94	1.75	1.94
Maíz Hervido	11.3	2.44	2.26	2.29	2.21	2.10	2.24
Maíz Germinado	8.5	2.14	2.52	2.10	2.26	2.32	2.30

Tabla 2. Contenido de Acido Nicotínico del "Maíz de Costa" y de sus preparados, usando diferentes agentes hidrolizantes.

MUESTRA	Humedad %	Agente Hidrolizante Usado					
		1N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.1N HCl	0.5 N NaOH	2N Ca(OH) <sub>2</sub>	Enzi- mático	Agua Destilada
<i>Mg. Acido Nicotínico /100. g.</i>							
Maíz Crudo	12.8	2.07	2.39	2.04	2.44	1.77	1.92
Tortilla	6.4	1.71	1.64	1.56	1.66	1.55	1.68
Maíz Tostado	4.5	1.91	2.11	1.76	1.88	1.98	1.72
Maíz en seco tratado en el autoclave	12.4	1.88	1.90	1.68	1.88	2.08	1.76
Maíz Hervido	9.7	2.37	2.31	2.28	2.15	—	2.23
Maíz Germinado	6.5	1.94	1.92	1.94	2.24	—	1.94

## B. Distribución del ácido nicotínico en el grano de maíz

En la Tabla 3 se presentan los resultados de la distribución del ácido nicotínico en las partes anatómicas del grano de maíz, es decir, en el endosperma, el germen y la cáscara de las muestras estudiadas. Se puede observar que el endosperma y el germen de ambas muestras contienen porcentajes similares de ácido nicotínico; en cambio la cáscara contiene cantidades un poco más elevadas que las otras dos fracciones anatómicas del grano de maíz. Sin embargo, la contribución más significativa de la niacina total del grano entero la proporciona el endosperma, ya que esta fracción constituye cerca del 83.0% del peso del grano entero. Las otras dos fracciones anatómicas, o sea el germen y la cáscara, aportan cantidades similares al contenido total de ácido nicotínico del grano de maíz. Las recuperaciones de ácido nicotínico, obtenidas mediante la comparación del contenido de niacina del grano entero y de la suma de la niacina de cada fracción, fue de 103.8% y de 96.7% para el "Maíz de Montaña" y para el "Maíz de Costa", respectivamente.

**TABLA 3. Distribución del Acido Nicotínico en el grano de Maíz**

Fracción Anatómica del grano	Peso del grano %	Humedad %	Niacina MG./100 G	Niacina Total MG.	Niacina del grano %
<b>"MAIZ DE MONTAÑA"</b>					
<i>Endosperma</i>	84.00	7.64	2.04	1.71	78.8
<i>Gérmén</i>	11.0	4.08	2.14	0.24	11.1
<i>Cáscara</i>	5.0	7.66	4.32	0.22	10.1
<b>"MAIZ DE COSTA"</b>					
<i>Endosperma</i>	82.00	7.96	1.97	1.62	81.0
<i>Gérmén</i>	11.0	4.36	2.04	0.22	11.0
<i>Cáscara</i>	7.0	6.40	2.30	0.16	8.0

**C. Acido nicotínico extraíble con agua de las fracciones anatómicas del grano de maíz**

Los resultados de esta fase del estudio figuran en la Tabla 4. La cantidad de niacina extraíble con agua, del endosperma del "Maíz de Montaña" y del "Maíz de Costa" fué de 51.5% y de 51.4% en cada caso. Del germen de los dos maíces se extrajo con agua, 72.8% y 74.1% de la niacina total, respectivamente. De la cáscara del "Maíz de Montaña" se logró extraer, con agua, 38.8% de la niacina total, y 44.3% de la del "Maíz de Costa". Además, durante la separación de las tres fracciones se encontró que el agua empleada para suavizar el grano y permitir la separación entre la cáscara y el germen y entre estos dos y el endosperma, contenía 34 mcg.% de niacina, en el caso del "Maíz de Montaña" y 27 mcg. de niacina por 100 g. de maíz, en el caso del "Maíz de Costa".

**Tabla 4. Porcentaje de Acido Nicotínico Extraíble con Agua de las Fracciones Anatómicas de dos Variedades de Maíz**

<i>Acido Nicotínico</i>	<i>Grano Entero</i>	<i>Fracción Anatómica del Grano</i>		
		<i>Endosperma</i>	<i>Germen</i>	<i>Cáscara</i>
		<i>"Maíz de Montaña"</i>		
<i>Extracto, mg./100 ml.</i>	1.45	1.04	1.60	1.66
<i>Residuo, mg./100 g.</i>	0.51	0.98	0.60	2.61
<i>Total, mg./100 g.</i>	1.96	2.02	2.20	4.27
<i>% Niacina Extraída con Agua</i>	74.0	51.5	72.8	38.8
		<i>"Maíz de Costa"</i>		
<i>Extracto, mg./100 ml.</i>	1.41	1.09	1.46	1.08
<i>Residuo, mg./100 g.</i>	0.61	0.81	0.51	1.36
<i>Total, mg./100 g.</i>	2.02	1.90	1.97	2.44
<i>% Niacina Extraída con Agua</i>	69.8	57.4	74.1	44.3

#### D. Cambios en el contenido de ácido nicotínico del Maíz durante la preparación de las tortillas

Los resultados de los cambios que ocurren en el ácido nicotínico del maíz durante la preparación de la tortilla se presentan en la Tabla 5. Como se puede observar, el cambio más significativo en este respecto es el que tiene lugar cuando el maíz crudo pasa a ser nixtamal, ya que en el paso del nixtamal a la tortilla no hay diferencia en el contenido de esa vitamina. En los dos maíces estudiados se encontró que el agua de cocción contenía 0.35 y 0.37 mcg. de niacina/100 g., respectivamente, cifras que equivalen a 16.9 y 17.7% de pérdida de esa vitamina del maíz. La recuperación del ácido nicotínico tomando el contenido en la tortilla más la cantidad presente en el agua de cocción fué de 93.2 y 94.7% del valor del grano entero, en el "Maíz de Montaña" y en el "Maíz de Costa", respectivamente.

**TABLA 5.** Distribucion del Acido Nicotínico durante la preparación de la Tortilla de Maíz

Material	"Maíz de Costa"		"Maíz de Montaña"	
	Humedad G. %	Niacina MG. %	Humedad G. %	Niacina MG. %
<i>Maíz Crudo</i>	13.5	2.07	15.7	2.09
<i>Nixtamal</i>	9.6	1.63	8.4	1.62
<i>Tortilla</i>	6.4	1.71	7.7	1.76
<i>Agua de Cocción</i>	.....	0.35	.....	0.37
<i>% Pérdida de niacina en agua de cocción</i>	.....	16.9	.....	17.7
<i>% Recuperación *</i>	.....	93.2	.....	94.7

\*Cálculos obtenidos ajustando el contenido de ácido nicotínico de la tortilla a la humedad del maíz.  $(\text{Niacina del agua de cocción} + \text{niacina de la tortilla} / \text{niacina del maíz}) \times 100 = \text{Porcentaje de recuperación.}$

## **E. Distribución del ácido nicotínico en el grano de maíz después de su cocción con cal**

Los resultados de esta parte del estudio figuran en la Tabla 6. Al examinar las cifras dadas se observa que, en este caso, en ambas variedades de maíz la cocción con cal redujo significativamente las concentraciones de ácido nicotínico del germen así como del endosperma. En ambos maíces la concentración en el germen disminuyó en cerca del 50% y en el endosperma la concentración del ácido nicotínico expresado en miligramos/100 gramos se redujo de una cifra de 2.00, en el caso del maíz crudo, a 1.38, o sea alrededor del 32% en el maíz ya cocido. En esta Tabla también se presentan los resultados obtenidos por la extracción, con agua, del endosperma y germen cocidos con cal. En los dos maíces, la cantidad de ácido nicotínico extraíble con agua del endosperma aumentó de un promedio de 54.0% en el maíz crudo a 74.0% en el endosperma cocido. Sin embargo, no se observó cambio alguno en el porcentaje de extracción, con agua, de la niacina del germen antes y después de la cocción, porcentajes que en los dos maíces y en ambos casos, fue de 72% aproximadamente. Los análisis correspondientes a esta fase del estudio fueron realizados en duplicado, obteniéndose en ambos casos resultados iguales. Sin embargo, las concentraciones de ácido nicotínico determinadas en este estudio no concuerdan con el contenido de la vitamina presentado en otros cuadros, debido a que la disección del maíz hervido se hizo manualmente descartando no sólo el agua de cocción y la cáscara, sino también la parte inferior del grano "tip-cap". Es posible que esta fracción sea rica en niacina y no es descartada en la preparación de la tortilla. Esta constituye la fracción del grano de color negro que se observa en la tortilla en forma de puntos negros distribuidos irregularmente en la superficie de la misma.

**TABLA 6. Distribución y Extracción con Agua del Acido Nicotínico del Germen y del Endosperma del Maíz después de su Cocción con Cal**

<i>Maíz</i>	<i>Fracción Anatómica</i>	<i>Humedad %</i>	<i>Acido Nicotínico</i>				<i>Porcentaje Ex- tracción con Agua</i>
			<i>Hidrolizado 1NH<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> MG/100g.</i>	<i>Extracción con Agua</i>		<i>TOTAL MG.%</i>	
				<i>Extracto MG%</i>	<i>Residuo MG.%</i>		
	<i>Endosperma</i>	9.14	1.46	1.07	0.34	1.41	73.4
<i>De Montaña</i>	<i>Germen</i>	5.12	0.92	0.67	0.24	0.91	73.6
	<i>Endosperma</i>	9.78	1.28	0.96	0.38	1.34	71.7
<i>De Costa</i>	<i>Germen</i>	5.38	1.14	0.82	0.28	1.10	74.5

**F. Porcentaje de ácido nicotínico extraíble con agua del maíz, del nixtamal y de la tortilla**

En la Tabla 7 figura la cantidad de ácido nicotínico extraíble con agua del maíz crudo, del nixtamal y de la tortilla, preparados de los dos maíces. En el caso del "Maíz de Costa", el agua extrajo 67.7% de la niacina del maíz crudo, 74.3% de la del nixtamal, y 73.0% de la niacina de la tortilla. En el caso del "Maíz de Montaña" y de sus preparados, el porcentaje de extracción por medio de agua fué de 68.7 en el maíz crudo y de 77.8 y 73.5% en los casos del nixtamal y de la tortilla, respectivamente.

Tabla 7. Porcentaje de Acido Nicotínico Extraíble con agua de dos Variedades de Maíz y de sus preparados.

Acido Nicotínico	Preparación de Maíz		
	Crudo	Nixtamal	Tortilla
<i>"MAIZ DE COSTA"</i>			
<i>Extracto, MG./100 ML.</i>	1.42	1.18	1.16
<i>Residuo, MG./100 G.</i>	0.68	0.41	0.43
<i>Total, MG./100 G.</i>	2.10	1.59	1.59
<i>% Niacina Extraída con agua</i>	67.7	74.3	73.0
<i>% Humedad</i>		12.83	31.98
<i>"MAIZ DE MONTAÑA"</i>			
<i>Extracto, MG./100 ML.</i>	1.54	1.22	1.22
<i>Residuo, MG./100 G.</i>	0.70	0.35	0.34
<i>Total, MG./100 G.</i>	2.24	1.57	1.66
<i>% Niacina Extraída con agua</i>	68.7	77.8	73.5
<i>% Humedad</i>		12.70	12.82

Las recuperaciones de ácido nicotínico total del grano fueron de 101.5% en el caso del grano crudo del "Maíz de Costa", y de 107.1% en el del "Maíz de Montaña". En el caso del nixtamal y de la tortilla elaborados con "Maíz de Costa", la suma de la cantidad de ácido nicotínico contenido en el extracto más la del residuo fue de 1.59 y 1.59 mg. por ciento, respectivamente. Al corregir estas cifras para la humedad del nixtamal y de la tortilla, datos que se presentan en la Tabla 5, las cifras resultantes fueron de 1.64 y de 1.73 mg. por ciento, las cuales son equivalentes a recuperaciones de 100% de ácido nicotínico total. La misma situación se encontró en el

caso del nixtamal y de la tortilla preparada del "Maíz de Montaña", en los cuales la suma del ácido nicotínico del extracto acuoso y la del residuo dieron 1.57 y 1.66 mg. de niacina por ciento, valores que expresados sobre la misma base de humedad se convirtieron en 1.65 y 1.76 mg. por ciento, respectivamente. Estas cifras son equivalentes a recuperaciones del 100% de la niacina total.

**G. Acido nicotínico extraíble, por medio de agua, del maíz crudo, del maíz tostado y del maíz tratado en el autoclave**

Los resultados promedio de dos extracciones llevadas a cabo por medio de agua, de los dos maíces y de sus respectivos preparados, se presentan en la Tabla 8. En el caso del "Maíz de Costa" y de sus preparados, el promedio de niacina extraído con agua fue de 69.0, 66.4 y 68.0%, respectivamente. En el caso del "Maíz de Montaña", en crudo, tostado y tratado en el autoclave, el promedio de extracción del ácido nicotínico con agua fue de 73.2, 66.4 y 68.4%

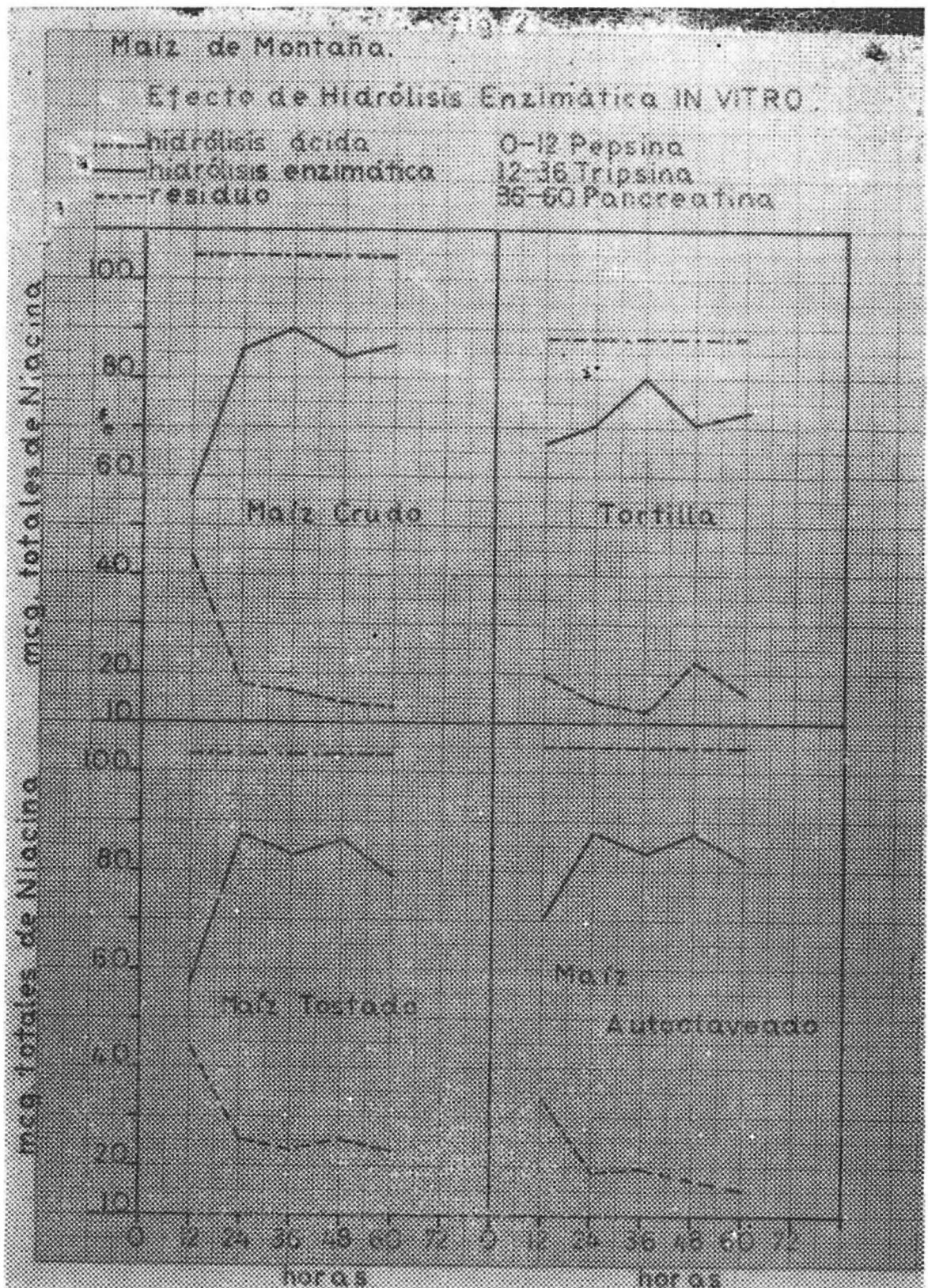
Tabla 8. Porcentaje de Acido Nicotínico Extraíble con agua de dos Variedades de Maíz y de sus Preparados.

Acido Nicotínico	Preparación de Maíz		
	Crudo	Tostado	Tratado en el Autoclave
<b>"MAIZ DE COSTA"</b>			
<i>Extracto, MG./100 ML.</i>	1.46	1.36	1.31
<i>Residuo, MG./100 G.</i>	0.65	0.69	0.62
<i>Total, MG./100 G.</i>	2.11	2.05	1.93
<i>% Niacina extraída con agua</i>	69.2	66.4	68.0
<b>"MAIZ DE MONTAÑA"</b>			
<i>Extracto, MG./100 ML.</i>	1.50	1.42	1.41
<i>Residuo, MG./100 G.</i>	0.55	0.72	0.65
<i>Total, MG./100 G.</i>	2.05	2.14	2.06
<i>% Niacina extraída con agua</i>	73.2	66.4	68.4

## **H. Hidrólisis enzimática in vitro, de la niacina del maíz y de sus preparados**

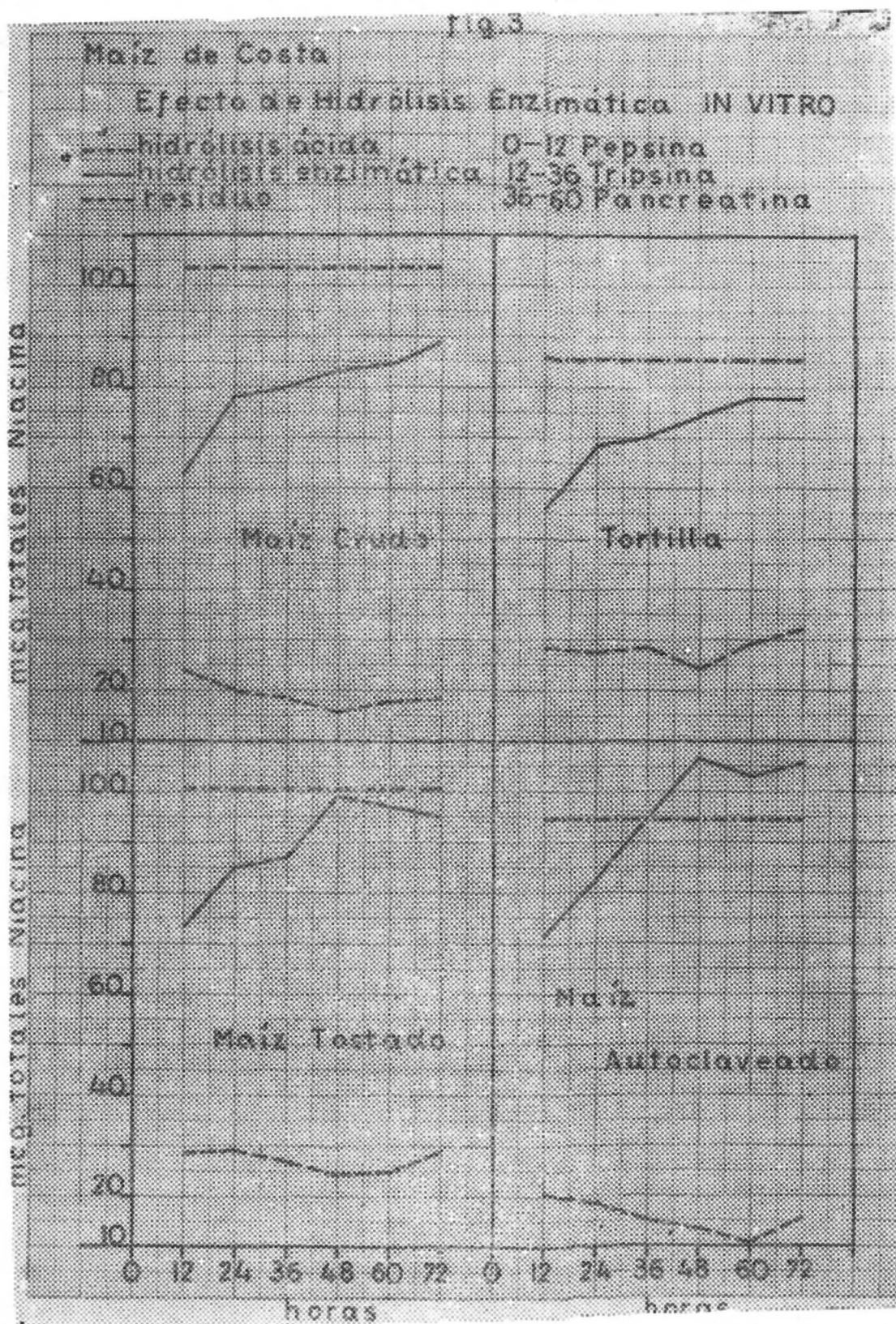
Las cifras resultantes de estos estudios se presentan en la Figura 2 para el "Maíz de Montaña" y de sus preparados, hidrolizados con pepsina, tripsina y pancreatina durante 60 horas. En el caso del "Maíz de Montaña", la hidrólisis con pepsina extrajo 55.0% de la niacina del maíz crudo, lo que equivale a 57.5 mcg., llegando la extracción hasta 86.0% o 90.0 mcg. 36 horas después de haber sido hidrolizado con las 3 enzimas proteolíticas. Las recuperaciones de la vitamina fueron de 94.6 a 101.8%. La hidrólisis con pepsina extrajo 75.5%, cantidad equivalente a 66.5 mcg. de la niacina de la tortilla elaborada con "Maíz de Montaña", alcanzando un porcentaje de extracción de 90.8% o sea 80.0 mcg., a las 36 horas de hidrólisis con pepsina, tripsina y pancreatina. Del maíz tostado, la hidrólisis con pepsina extrajo 55.0%, es decir, 57.0 mcg de la niacina, llegando hasta un 83.0% o sea 86.0 mcg., a las 48 horas. En el caso del maíz tratado en el autoclave, la pepsina extrajo 66.6%, cifra equivalente a 66.6 mcg., obteniéndose un máximo de extracción de 83.4%, con pancreatina, a las 48 horas de hidrólisis.

En la Figura 3 se presentan los resultados de la hidrólisis enzimática a que se sometiera el "Maíz de Costa" y sus preparados durante 72 horas. En el maíz crudo, la hidrólisis con pepsina, o sea la que duró 12 horas, dió como resultado una liberación de niacina del 60.0%, equivalente a 62.0 mcg., alcanzando un valor máximo de 88.5 mcg. a las 72 horas de hidrólisis, tanto con pepsina como con tripsina y pancreatina. Esta cifra es equivalente a 85.5% de la niacina total del grano. El análisis del residuo para determinar su contenido de ácido nicotínico demostró, en términos generales, que éste contenía menores cantidades de la vitamina a medida que el tiempo de hidrólisis aumentaba. En el caso de la tortilla y al cabo de 12 horas de hidrólisis con pepsina, se logró liberar con



esta enzima 56.0 mcg., es decir, 65.5% de la niacina. Se obtuvieron valores máximos de 77.5 mcg., o sea, 90.8% al cabo de 60 horas de hidrólisis, tanto con pepsina, como al usar trip-

sina y pancreatina. La hidrólisis con pepsina extrajo, al cabo de 12 horas, 73.0 mcg. o 72.5% de la niacina en el maíz tostado, alcanzando un máximo de 99.0 mcg o 98.5% al cabo



de 48 horas. Se observó que los valores no sufrieron cambios significativos cuando la hidrólisis duraba un tiempo más largo. En el caso del maíz tratado en el autoclave, se obtuvieron recuperaciones mayores de 100% después de 36 horas de hidrólisis; sin embargo, la cantidad extraída por la pepsina al cabo de 12 horas fué similar a la obtenida con los otros preparados de maíz.

En la Tabla 9 se presentan los resultados obtenidos en el "Maíz de Montaña" al llevar a cabo la hidrólisis enzimática del grano hervido y del maíz tratado en el autoclave. En el caso del maíz hervido, la hidrólisis con pepsina extrajo 68.5% de la niacina, cifra que aumentó hasta 77.0% con la hidrólisis de tripsina después de haber sido hidrolizado el material con pepsina. Este porcentaje aumentó hasta 86.0% a las 72 horas de efectuarse la hidrólisis con pepsina, tripsina y pancreatina. En el caso del maíz germinado, la hidrólisis con pepsina, al término de 12 horas, extrajo 71.9% de la niacina, alcanzando un valor de 92.5% a las 36 horas, y de 109.2% a las 72 horas. Las recuperaciones de la niacina, usando los valores del hidrolizado y del residuo en comparación con la niacina del material, variaron de 88.9% a 101.3% en el maíz hervido, y de 92.6 a 122.4% en el caso del maíz germinado.

Ya que el alimento ingerido no tarda 72 horas en el aparato digestivo, se llevó a cabo un estudio con las tres enzimas proteolíticas, siendo de 24 horas el tiempo total de hidrólisis. Los resultados de este experimento se presentan en la Tabla 10 en lo que respecta al grano crudo del "Maíz de Montaña" y a la tortilla preparada con dicho maíz. Al cabo de 4 horas de hidrólisis con pepsina, se recuperó 76.5% y 88.5% de la niacina del maíz y de la tortilla, respectivamente, porcentajes que equivalen a 80 y a 78 mcg. de niacina del maíz y de la tortilla. Al término de 12 horas, después de efectuada la hidrólisis con pepsina y con tripsina, se recuperó 76.5 y 95.5% de la niacina, cifras que equivalen a 80.0 y 84.0

Tabla 9. Efecto de la hidrólisis enzimática In Vitro durante 72 horas sobre la disponibilidad del ácido nicotínico del "Maíz de Montaña"

Tiempo hrs.	Enzima usada	Material puesto a prueba	Hidrolizado mcg.	Porcentaje del total de la muestra	Residuo mcg.	Hidrolizado + Residuo mcg.	Recuperación %
<i>"MAIZ"</i>							
0	—	<i>Hervido</i>	122.0	100.0	—	122.0	100.0
		<i>Germinado</i>	107.0	100.0	—	107.0	100.0
12	<i>Pepsina</i>	<i>Hervido</i>	83.5	68.5	25.0	108.5	88.9
		<i>Germinado</i>	77.0	71.9	28.0	105.0	98.1
24	<i>Tripsina</i>	<i>Hervido</i>	90.5	74.2	21.0	111.5	91.4
		<i>Germinado</i>	83.5	78.1	19.5	103.0	96.2
36	<i>Tripsina</i>	<i>Hervido</i>	94.0	77.0	20.0	114.0	93.4
		<i>Germinado</i>	99.0	92.5	19.0	118.0	110.3
48	<i>Pancreatina</i>	<i>Hervido</i>	102.5	84.0	19.0	121.5	99.5
		<i>Germinado</i>	97.5	91.2	16.0	113.5	106.1
60	<i>Pancreatina</i>	<i>Hervido</i>	98.5	80.7	19.0	117.5	96.4
		<i>Germinado</i>	108.5	101.5	16.0	124.5	116.3
72	<i>Pancreatina</i>	<i>Hervido</i>	105.0	86.0	18.5	123.5	101.3
		<i>Germinado</i>	116.0	109.2	15.0	131.0	122.4

mcg. de la niacina del maíz y de la tortilla, respectivamente. En las muestras hidrolizadas con pepsina, tripsina y pancreatina durante un término de 24 horas, se obtuvo, por hidrólisis enzimática, 78.8% de la niacina del maíz, cantidad equivalente a 82.5 mcg., y 95.0% de la vitamina contenida en la tortilla, lo que equivale a 83.5 mcg. de niacina. Las recuperaciones de niacina calculadas empleando los valores encontra-

dos en el hidrolizado más los del residuo, variaron entre 95.6 y 110.1% del valor del contenido de ácido nicotínico del material usado para las pruebas.

**Tabla 10 Efecto de la hidrólisis enzimática in vitro durante 24 horas sobre la disponibilidad del ácido nicotínico del Maíz y de la Tortilla.**

Tiempo hrs.	Enzima usada	Material puesto a prueba	A C I D O N I C O T I N I C O				Recuperación %
			Hidro- lizado mcg.	Porcen- taje del total de la muestra	Resi- duo mcg.	Hidro- lizado + resi- duo mcg.	
0	.....	Maíz	104.5*	100.0	0	104.5	100.0
		Tortilla	88.0**	100.0	0	88.0	100.0
4	Pepsina	Maíz	80.0	76.5	22.5	102.5	98.2
		Tortilla	78.0	88.5	16.0	94.0	106.8
12	Tripsina	Maíz	80.0	76.5	23.0	103.0	98.5
		Tortilla	84.0	95.5	13.0	97.0	110.1
24	Pancreatina	Maíz	82.5	78.8	17.5	100.0	95.6
		Tortilla	83.5	95.0	13.0	96.5	109.5

\* "Maíz de Montaña" y tortilla elaborada con éste

\*\* Valores obtenidos por hidrólisis con 1N H<sub>2</sub> SO<sub>4</sub>.

### I. Estudio de balance en ratas, del ácido nicotínico del maíz y de sus preparados

Los resultados de los estudios de balance de niacina llevados a cabo con 4 pares de ratas adultas, se presentan en la Tabla 11. Se puede observar que los animales alimentados con la dieta libre de niacina presentaron, en las heces recolectadas, un promedio de 240 mcg. de ácido nicotínico. Como era de esperar, las heces de los animales alimentados con la dieta basal suplementada con 30% de maíz crudo, tortilla, maíz hervido y maíz germinado, contenían cantidades más

altas de niacina que las heces de los animales testigo y que la ingesta de vitamina por medio del alimento. Asumiendo que la síntesis intestinal en todos los casos es parecida a la que se encontró en las heces de los animales testigo, la cantidad de niacina absorbida se calculó restando de la niacina fecal de los animales sujetos a las dietas de maíz y/o de sus preparados, la niacina fecal que acusaron los animales testigo, o sea aquellos alimentados con la dieta libre de niacina, restando el valor obtenido de la niacina ingerida. Los valores obtenidos, que representan la cantidad de niacina absorbida, son similares en el caso del maíz crudo (157 mcg.), de la tortilla (167 mcg.), y del maíz hervido (173) mcg.), y más bajos en el caso del maíz germinado (92.0 mcg.). En este último caso, las heces producidas en cuatro días contenían 488 mcg. de niacina total, en comparación con 458 mcg. determinados en las heces de los animales que recibían la dieta de maíz crudo, 363 mcg. en las heces de aquellos sujetos a la dieta de tortilla, y 465 mcg. en el caso de los animales a los que se les administrara la dieta del maíz hervido.

**Tabla 11. Balance de Acido Nicotínico en ratas adultas alimentadas con Maíz Crudo, Tortilla, Maíz Hervido y Maíz Germinado**

<i>Dieta</i>	<i>Alimento ingerido</i> g.	<i>Heces Recolectadas</i> g.	<i>Niacina ingerida</i> mcg.	<i>Niacina en Heces</i> mcg.	<i>Niacina absorbida</i> mcg.
<i>Basal</i> °	38	7.8	0	240	----
<i>Basal + 30% Maíz</i>	60	12.6	375	458	157
<i>Basal + 30% Tortilla</i>	55	13.6	290	363	167
<i>Basal + 30% Maíz Hervido</i>	54	13.6	398	465	173
<i>Basal + 30% Maíz Germinado</i>	53	15.0	340	488	92

° Basal. Ver página 234

## **J. El ácido nicotínico del contenido intestinal de ratas**

Los estudios descritos en esta Sección del trabajo de tesis que nos ocupa se llevaron a cabo con el objeto de evaluar la disponibilidad de la niacina del maíz y de la tortilla **in vivo**, y cuyos resultados se presentan en la Tabla 12. Con el propósito de lograr una mejor comprensión de los resultados, se preparó la Figura 4 que representa el ácido nicotínico, mientras que la Figura 5 representa el nitrógeno encontrado en el contenido intestinal de los animales. En lo que respecta al ácido nicotínico, puede observarse que en todos los grupos se encontró, en cualquier momento en que se sacrificaran los animales, más ácido nicotínico del ingerido mediante el maíz de la tortilla, del almidón + niacina y del mismo almidón sin niacina. La cantidad encontrada llegó a su punto máximo al cabo de 9 horas a partir del momento en que el alimento se retiró de los animales, tanto en el caso del maíz, como de la tortilla. El punto máximo del almidón con el agregado de niacina (Dieta Control N° 1) ocurrió a las 6 horas y en el caso del almidón sin niacina (Dieta Control N° 2) tuvo lugar a las 12 horas. En la parte inferior de la Figura 4 se presentan los resultados expresados en base de mcg. de niacina por hora. Como se puede observar, la cantidad de niacina disminuyó en todos los casos, principiando a las 3 horas al mismo nivel, excepto en el caso de los animales alimentados con tortilla, los que contenían cantidades más bajas de esta vitamina, mientras que los alimentados con almidón + niacina presentaron cantidades un poco más altas que las del maíz. Estos valores iniciales reflejan las cantidades de la vitamina ingerida por medio del alimento, siendo éstas de 82.8 mcg. en el caso del maíz, de 70.4 mcg. en el de la tortilla y de 102.4 mcg. con la dieta de almidón + niacina. Los valores obtenidos 15 horas después de administrada la alimentación resultaron ser muy similares entre sí. Del examen de la Tabla 12 se puede observar, asimismo, que las ratas machos tienen más niacina que

TABLA 12.

## NITROGENO Y ACIDO NICOTINICO DEL CONTENIDO INTESTINAL DE RATAS.

ALIMENTO	SEXO	PESO G.	HORAS	NITROGENO			ACIDO NICOTINICO				
				ALIMENTO	TOTAL EN	PROMEDIO	MG/HORA	TOTAL	PRO-	MCG/HORA	
				INGERIDO	500 ML.			MCG.	MEDIO		
				G.	G.	G.		MCG.			
MAIZ CRUDO	HEMBRA	213	3	4.00	0.119			238			
	HEMBRA	165		4.00	0.109	0.114	38.0	242	240	80.0	
	HEMBRA	191	6	4.00	0.129			258			
	HEMBRA	161		4.00	0.151	0.140	23.3	388	323	53.8	
	HEMBRA	163	9	4.00	0.118			367			
	MACHO	238		3.97	0.147	0.133	14.8	446	406	45.1	
	HEMBRA	191	12	4.00	0.104			250			
	MACHO	202		4.00	0.133	0.119	9.9	575	312	26.0	
	HEMBRA	181	15	4.00	0.088			224			
	MACHO	208		4.00	0.147	0.118	7.9	347	285	19.0	
TORTILLA	HEMBRA	211	3	4.00	0.126			220			
	HEMBRA	167		4.00	0.112	0.119	39.7	180	200	66.7	
	HEMBRA	189	6	3.12	0.140			288			
	HEMBRA	156		4.00	0.143	0.142	23.7	323	305	50.8	
	HEMBRA	162	9	4.00	0.151			404			
	MACHO	247		4.00	0.190	0.171	19.0	442	423	47.0	
	HEMBRA	197	12	4.00	0.107			272			
	MACHO	197		4.00	0.184	0.146	12.2	450	361	30.1	
	HEMBRA	180	15	2.69	0.071			260			
	MACHO	208		4.00	0.118	0.095	6.3	400	330	22.0	
DIETA CONTROL No. 1	HEMBRA	204	3	2.56	0.098			208			
	HEMBRA	175		3.90	0.102	0.100	33.3	270	239	79.7	
	HEMBRA	188	6	3.94	0.136			350			
	HEMBRA	156		3.42	0.144	0.140	23.3	343	346	57.7	
	HEMBRA	164	9	3.98	0.118			306			
	MACHO	235		3.94	0.139	0.128	14.2	347	326	36.2	
	HEMBRA	194	12	3.96	0.128			248			
	MACHO	200		3.91	0.155	0.142	11.8	343	295	24.6	
	HEMBRA	180	15	3.15	0.096			238			
	MACHO	214		3.98	0.169	0.133	8.9	420	329	21.9	
DIETA CONTROL No. 2	HEMBRA	208	3	3.96	0.105			222			
	HEMBRA	175		3.96	0.130	0.118	39.3	292	257	85.7	
	HEMBRA	182	6	3.76	0.092			228			
	MACHO	156		0.14	0.147	0.120	20.0	281	254	42.3	
	HEMBRA	164	9	3.97	0.133			317			
	MACHO	234		3.96	0.129	0.131	14.6	281	299	33.2	
	HEMBRA	202	12	3.05	0.122			300			
	MACHO	186		3.97	0.147	0.134	11.2	400	350	29.2	
	HEMBRA	180	15	3.94	0.111			281			
	MACHO	226		3.89	0.133	0.122	8.1	363	322	21.5	
CONTROL No. 3 *	MACHO	159	0		0.053			102			
	MACHO	156	0		0.053			102			
	MACHO	125	0					129			
	HEMBRA	147	0			0.053		120	113		

\* VALORES DEL CONTENIDO INTESTINAL DE RATAS QUE NO RECIBIERON ALIMENTO ALGUNO.

las hembras; sin embargo, las tendencias son iguales en ambos sexos. Según parece, al menos en este estudio, el peso no tiene ningún efecto en la cantidad de niacina presente en el aparato digestivo de las ratas.

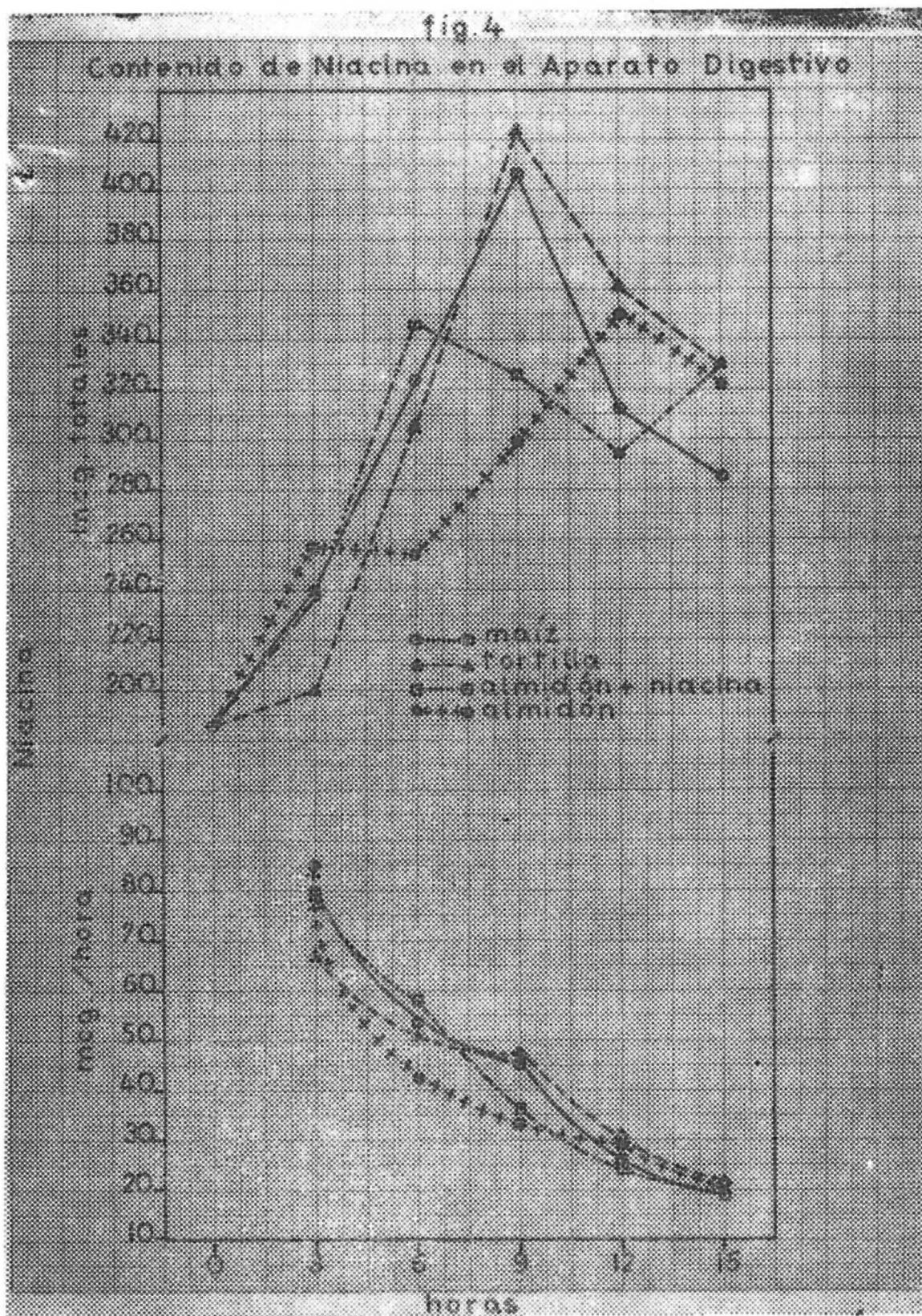
#### TABLA N° 12

Los resultados correspondientes al nitrógeno, que se presentan en la Figura 5 (además de los datos incluidos en la Tabla 12), siguen la misma tendencia que la niacina, y en 3 ó 4 casos el punto máximo obtenido en cuanto al nitrógeno coincide con el correspondiente a la niacina, excepto en lo que atañe al maíz. En la Tabla 12 y en la Figura 5 se presentan los resultados para nitrógeno, en mg./hora. Es interesante observar la constancia del nitrógeno en el contenido intestinal de los diversos grupos de ratas sujetos a dietas diferentes. De valores de cerca de 36 mg./hora, el nitrógeno disminuyó a valores de 8 mg./hora a las 15 horas a partir del momento en que el alimento fue retirado de los animales.

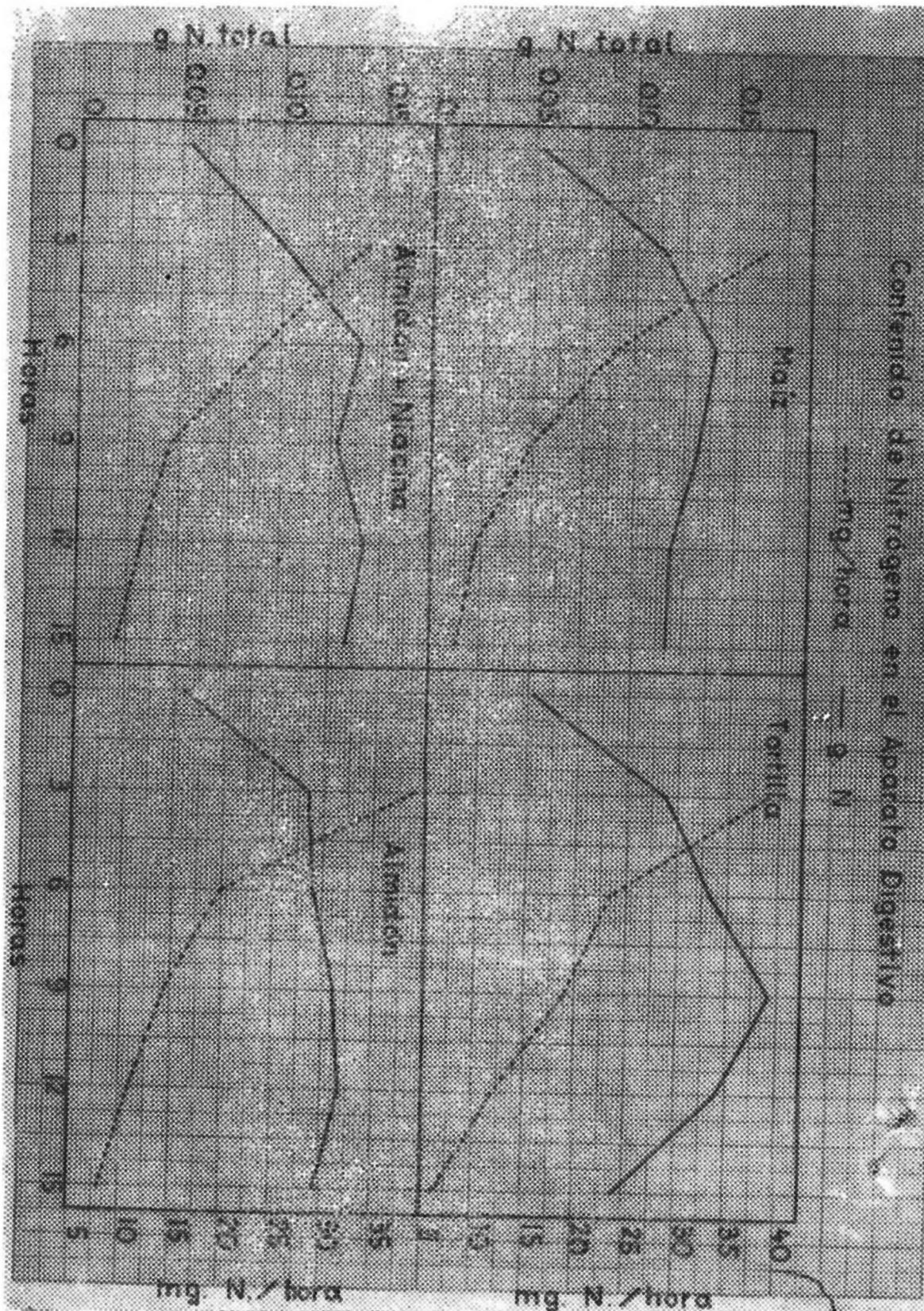
### V. DISCUSION

Los resultados de los diferentes métodos de hidrólisis empleados para evaluar microbiológicamente la cantidad de ácido nicotínico contenida en el maíz y en sus preparados, indican que las hidrólisis ácidas son las más efectivas, hecho que ya lo han señalado algunos investigadores (12,50). En general, el efecto de los álcalis es muy parecido al que tienen los ácidos para lograr que la niacina contenida en el material analizado sea liberada. La hidrólisis enzimática, empleando la secuencia pepsina, tripsina y pancreatina, dió resultados bajos, como también han encontrado otros investigadores (12,50). Sin embargo, cuando el material bajo estudio había recibido un tratamiento previo, la hidrólisis enzimática logró liberar cantidades iguales a las obtenidas por medio de la hidrólisis ácida. Es probable que la razón por la cual la hidrólisis

enzimática no es tan efectiva como las hidrólisis ácidas o alcalinas, se deba a ciertas formas de la vitamina que no se liberan fácilmente. Sweeney y Parrish (53,54) demostraron



que aún en el caso de emplear hidrólisis ácidas, para poder liberar completamente toda la niacina de la cáscara del trigo, del arroz o del maíz, era necesario, después de hidrolizar el



material con una solución (1N) uno normal de ácido sulfúrico, tratar el hidrolizado resultante con hidróxido de sodio, llevándolo después a un pH de 13 durante 15 minutos y a la temperatura ambiente del laboratorio, antes de proceder a efectuar el ensayo microbiológico. La hidrólisis con agua destilada dió valores parecidos a los obtenidos por medio de la hidrólisis enzimática. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, cuando el material había recibido un tratamiento previo, tal como el que se da al maíz para la preparación de las tortillas, o mediante la cocción húmeda del maíz y los cambios que ocurren durante el proceso de germinación, el tratamiento facilita la extracción con un solvente tan suave como es el agua. Estos tratamientos son todos de tipo hidrolítico en mayor o menor grado, lo que hace que la niacina sea liberada o que los agentes hidrolizantes débiles, como las enzimas o el agua, sean más accesibles. Lo que aquí se expresa puede aplicarse a los dos tipos de maíz estudiados, así como a sus preparados.

En el germen y en el endosperma del grano de maíz se encuentran concentraciones similares de niacina, mientras que la cáscara contiene cantidades un poco más altas. Sin embargo, la mayor contribución de niacina la aporta el endosperma, por su tamaño con respecto al resto del grano. Este hecho es de importancia porque en la preparación de las tortillas la cáscara del grano de maíz queda descartada (8).

La niacina contenida en cada una de las tres fracciones anatómicas del grano de maíz no se encuentra toda en forma libre, a juzgar por la cantidad de niacina que puede extraerse solamente con agua. Los resultados demuestran que en el endosperma alrededor del 55% de la niacina se presenta en estado libre, mientras que en el germen la cantidad de niacina en forma extraíble por medio de agua, es de 73%. Por el contrario, la mayor parte de la niacina de la cáscara del grano, que representa cerca del 41%, está en forma libre, es de-

cir, que es fácilmente extraíble con agua. Es interesante destacar que Sweeney y Parrish (53,54) han indicado que la mayor parte de la niacina de la cáscara del maíz se encuentra en la forma ligada. Borrow y colaboradores (6) han manifestado que la cáscara del grano contiene el factor pelagrogénico del maíz, como alimento para las ratas.

Los resultados de la distribución del ácido nicotínico durante la preparación de las tortillas demuestran que solamente alrededor del 17% de la niacina se pierde en el agua de cocción, a raíz de este tratamiento. La mayor parte de esa pérdida ocurre como resultado de la pérdida de la cáscara del maíz, ya que durante la preparación de las tortillas en la América Central (8) la cáscara del grano queda descartada; esa cáscara aporta una contribución de más o menos 9% de la niacina del grano de maíz, o sea, alrededor de 0.19 mcg. por 100 gramos. Ya que la pérdida de niacina fue de 0.36 mg.% aproximadamente, es posible que la diferencia, o sea 0.17 mg.%, la pierda el germen del grano, por contener éste mayor cantidad de niacina libre, según lo demuestran los resultados de los estudios de la extracción por medio de agua llevados a cabo.

La facilidad para extraer con agua la niacina del maíz crudo aumenta ligeramente en el nixtamal o en la tortilla. Sin embargo, los resultados de los análisis de los residuos indican que en estas preparaciones todavía existe niacina no extraíble con agua. Las diferencias en porcentaje de extracción fueron de cerca del 12% en favor del nixtamal o de la tortilla, y no es probable que esta pequeña cantidad pueda explicar los efectos beneficiosos que el maíz tratado con álcali tiene sobre el maíz en crudo.

La extracción con agua de los otros preparados de ambas variedades de maíz indica que los métodos empleados en su preparación no tuvieron ningún efecto hidrolizante, ya que se

encontró que la cantidad de niacina extraída era comparable con la cantidad de esa vitamina extraída del maíz en crudo. La cantidad que se extrajo por medio de agua fue alrededor del 67% de la niacina del grano; por consiguiente, el 33% de la niacina no extraída por el agua se podría considerar como niacina en su forma ligada. La cantidad de niacina en esta forma es ligeramente más alta que las cifras encontradas en el nixtamal y en la tortilla. Los valores de la cantidad de niacina extraíble por agua, obtenidos en este estudio, son más o menos 20% más altos que los obtenidos por Pearson y colaboradores (44).

Los estudios enzimáticos *in vitro* llevados a cabo durante un término de 60 ó 72 horas indican que la niacina se desprende más rápidamente de los preparados de maíz, es decir, de la tortilla, del maíz tostado y del maíz tratado en el autoclave, que del grano en crudo cuando las cantidades se expresan en porcentajes. Sin embargo, dadas en valores absolutos, las cantidades de niacina liberadas de las muestras fueron similares a las obtenidas del maíz en crudo, sobre todo después de someterse a 24 horas de hidrólisis enzimática. El efecto más significativo de la liberación de la niacina del grano o de sus preparados lo causó la pepsina, encontrándose valores ligeramente más elevados al emplear tripsina. En general, la pancreatina no tuvo ningún efecto significativo. Las cantidades extraíbles por medio de la pepsina fueron, en general, similares a las obtenidas mediante las extracciones con agua, y el efecto de la adición de las otras enzimas proteolíticas consistió en liberar la niacina ligada del maíz. En todos los casos estudiados se pudo obtener más del 80% de la niacina del maíz en 24 horas de hidrólisis enzimática, lo que indica que las enzimas proteolíticas liberan casi totalmente la niacina del maíz.

Ya que el proceso digestivo no tarda 72 horas, se estimó de interés reducir el tiempo de hidrólisis enzimática a 24

horas, usando las tres enzimas proteolíticas tanto en el maíz como en la tortilla. Al cabo de 4 horas las cantidades absolutas de niacina del maíz, así como de la tortilla, resultaron ser similares y estos valores no aumentaron significativamente después de este período. Como en los casos anteriores, la tripsina y la pancreatina aumentaron ligeramente la cantidad de niacina debido a su acción hidrolizante en el residuo de la niacina del maíz y de la tortilla.

Si la teoría de Kodicek (33) y de otros investigadores en el sentido de que la niacina del maíz no se libera por los procesos digestivos y, por consiguiente no se encuentra disponible al animal, explicara el efecto deletéreo del maíz, es lógico suponer que la niacina de este cereal se encontraría en las heces del animal que lo consumió en su forma cruda, y que las heces de los animales que consumieron tortilla, maíz hervido o maíz germinado, no acusarían tales cantidades. Con base en estos conceptos, los resultados de los estudios de balance de niacina no sustentan la teoría formulada por Kodicek (33) y por otros autores (44). La diferencia entre la niacina de las heces de los animales que recibían las dietas elaboradas a base de maíz, de tortilla, de maíz hervido o de maíz germinado, las que se corrigieron por la niacina de las heces de los animales sujetos a la dieta basal (libre de niacina), es menor que la niacina ingerida. Esta diferencia es análoga entre los diversos preparados del maíz y el grano en crudo, excepto en el caso de la tortilla, la que presenta valores más bajos debido a que pierde parte de esta vitamina durante el proceso de elaboración.

Los resultados obtenidos en los estudios de balance de niacina del maíz y de sus preparados también pueden aplicarse para demostrar que la síntesis intestinal de la niacina es similar entre el maíz crudo y sus preparados y que, asimismo, los tratamientos aplicados al maíz crudo no alteran en grado biológicamente discernible el tipo de carbohidrato del cereal,

ya que se ha demostrado que se obtiene una mayor síntesis de vitaminas del complejo B utilizando carbohidratos como la dextrina, que con carbohidratos de fórmula molecular más sencilla como es la sucrosa. Si el tratamiento alcalino, el calor húmedo, o el proceso de germinación hubieran afectado significativamente el tipo de carbohidrato del maíz, en forma de tortillas, del grano hervido o del maíz germinado, es probable que se hubiera encontrado una mayor cantidad de niacina en las heces de las ratas que consumieron los preparados de maíz, que en las de las ratas alimentadas con maíz crudo.

Los resultados de los experimentos, diseñados para determinar la disponibilidad de la niacina del maíz y de la tortilla **in vivo** fueron inesperados, ya que lógicamente era de suponer que se encontrarían cantidades cada vez menores de niacina conforme transcurría el tiempo durante el cual el alimento permaneciera en el aparato digestivo de los animales. En todos los casos sujetos a investigación se constató que en lugar de existir menos ácido nicotínico, las cantidades encontradas fueron mayores que las que se esperaban a juzgar por la ingesta del alimento, efecto que se hizo cada vez más marcado al aumentar el período de digestión hasta cierta hora, disminuyendo después a valores un poco más altos que los iniciales. Considerando que después de 48 horas de ayuno los animales todavía contenían pequeñas cantidades de heces y que éstas a su vez contenían cantidades de ácido nicotínico de aproximadamente 113 mcg., es posible explicar parcialmente la magnitud de los valores iniciales, es decir, los que se obtuvieron al término de tres horas, asumiendo que parte de esta niacina provenía del alimento (82.8 mcg. de maíz, 70.4 mcg. de tortilla y 102 mcg. de la Dieta Control N° 1) y parte, de la niacina endógena. La suma de esta última cifra unida a las cantidades de niacina del alimento da por resultado valores que se aproximan a los encontrados al cabo de 3 horas. Sin embargo, esto no explica totalmente los resulta-

dos, por las razones siguientes: En primer término, después de 3 horas era de esperar que se encontrarían valores más bajos que los proporcionados por el alimento; en segundo lugar, las ratas alimentadas sólo con almidón tenían valores iniciales parecidos a los de los otros tres grupos, y por último, en vista de que las cantidades aumentaron a medida que transcurría el tiempo, llegando a un punto máximo y luego decreciendo.

Por el momento no podemos ofrecer una explicación clara de los resultados obtenidos, ya que se requiere llevar a cabo mayor experimentación. Los estudios de que se da cuenta en este trabajo de tesis se deben, pues, considerar como preliminares, a pesar de que éstos se realizaron dos veces utilizando maíz en crudo. Se requiere, asimismo, una mayor estandarización de los animales.

Sin embargo, hay tres explicaciones probables que justifiquen los resultados observados. Primero, es posible que exista un factor relacionado con la digestión, que estimule el crecimiento de la bacteria **Lactobacillus arabinosus** produciendo, por consiguiente, valores más altos de los esperados, sea cual fuese el tipo de dieta a que se somete al animal. Este punto podría verificarse al realizar nuevos estudios en los cuales se emplee, además del método microbiológico usado para el ácido nicotínico, un método químico específico para determinar la vitamina.

La segunda posibilidad es que ocurra una síntesis intestinal de la vitamina, no sólo por la cantidad de bacterias introducidas con el alimento, sino también a causa de las que ya contiene el aparato digestivo, las que usarían los carbohidratos y otros compuestos, sintetizando así la vitamina. Sin embargo, es de dudar que en tan poco tiempo ocurra una síntesis tan aumentada de esta vitamina como la que se encontró. Este punto podría comprobarse usando materiales que destruyan la flora intestinal.

Por último, y ésta es posiblemente la que proporciona una explicación de los fenómenos encontrados, es probable que exista una transformación del triptofano a niacina, hecho ya bien conocido (20). Esta última hipótesis la sustentan varios de los resultados que se presentan en esta tesis. Primero, el comportamiento del nitrógeno del contenido intestinal, nitrógeno que proviene de dos fuentes, o sea del alimento y de las enzimas de los jugos gástricos; segundo, los puntos máximos encontrados en el caso del maíz y de la tortilla, los que fueron mayores que los del almidón solo o almidón con el agregado de niacina; y tercero, que siendo proteínas las enzimas de los jugos gástricos, éstas contienen triptofano. Nasset, Schwartz y Weiss (42) obtuvieron resultados similares a éstos empleando aminoácidos y encontraron que era igual la composición de los aminoácidos del contenido intestinal de ratas alimentadas durante un período corto con una cantidad pequeña de proteínas, ya fuesen o no deficientes en aminoácidos esenciales. Los puntos máximos observados tienden a sustentar más la hipótesis del cambio de triptofano a niacina. En las ratas alimentadas solamente con almidón con o sin niacina, se obtuvo puntos máximos del mismo grado, los que se debieron a la cantidad de triptofano contenida por las enzimas de los jugos gástricos. En las ratas alimentadas con maíz crudo o tortilla también se obtuvieron puntos máximos del mismo grado, aun cuando más altos que los obtenidos con el preparado de almidón. Estos se debieron a la niacina del maíz o de la tortilla, al triptofano del maíz o de la tortilla, y además, al triptofano de las enzimas digestivas. De acuerdo con lo expuesto, es necesario que en los próximos estudios se lleve a cabo un balance completo que incluya el triptofano, para poder así determinar, *in vivo*, la disponibilidad de la niacina del maíz y de la tortilla.

## VI. RESUMEN

Para determinar la concentración de ácido nicotínico en el maíz, en la tortilla y en los preparados del grano, se em-

plearon diferentes agentes de hidrólisis. Se encontró que las hidrólisis con agentes químicos eran las más efectivas para obtener la vitamina del maíz. En aquellos casos en que el material había recibido un tratamiento causante de hidrólisis, todos los agentes hidrolizantes empleados fueron igualmente efectivos. Se halló que de las tres secciones mayores del grano de maíz, la cáscara contenía cantidades un poco más elevadas de ácido nicotínico que el germen o que el endosperma; los dos últimos contenían cantidades similares de la vitamina entre sí. Sin embargo, el endosperma es el que aporta la contribución más significativa de la niacina total del grano entero, por constituir esta fracción cerca del 83% del peso del grano. Se encontró que la niacina del germen era la más fácilmente extraíble por medio del agua, siendo su extracción alrededor del 73% del total contenido en esta fracción, mientras que del endosperma y de la cáscara, sólo se pudo extraer con agua, el 51.5% y el 42% de la niacina de cada fracción.

Los estudios indicaron que la pérdida más significativa del ácido nicotínico durante la elaboración de las tortillas ocurre al preparar el nixtamal, debido a la cocción del maíz en agua. La pérdida equivale a un promedio de 17.3% de la niacina total del grano, debiéndose ésta principalmente a que la cáscara se descarta y también, posiblemente, a la facilidad con que la niacina del germen es extraída con agua. La cocción alcalina que recibe el grano afecta el grado de extracción con agua, de la niacina del endosperma, de un 54% en el endosperma crudo, a 74% en el endosperma cocido, mientras que la cocción, al parecer, no afecta la niacina del germen. Estas observaciones también son aplicables a las extracciones del ácido nicotínico del nixtamal y de la tortilla, respectivamente, en comparación con el maíz crudo, ya que la niacina del nixtamal o de la tortilla fué más fácilmente extraíble con agua que la de maíz crudo. El tratamiento de tostación y el del autoclave en seco no afectaron la facilidad de extracción, por medio de agua, de la niacina contenida en estos preparados,

siendo el porcentaje de extracción de 69.0, 66.4 y 68.0 en el maíz crudo, en el grano tostado y en el maíz tratado en el autoclave, respectivamente.

Los estudios enzimáticos *in vitro* indicaron que las cantidades absolutas de niacina eran iguales después de 12 horas de someterse a la hidrólisis con pepsina, y que aún cuando la tripsina y la pancreatina liberaron un poco más de niacina, el aumento no fué significativo. Aún después de 72 horas de hidrólisis enzimática, el análisis de la vitamina en el residuo demostró que éste todavía contenía cierta cantidad de niacina. Sin embargo, este mismo resultado se observó tanto en el maíz crudo como en la tortilla y en los otros preparados del grano. En los dos maíces estudiados se obtuvieron resultados similares. Ya que el alimento ingerido no tarda 72 horas en el aparato digestivo, se realizó una hidrólisis enzimática *in vitro* de 24 horas, obteniéndose resultados análogos a los logrados en el término de 72 horas. Se llevaron a cabo estudios de balance de ácido nicotínico en ratas alimentadas con dietas elaboradas a base de maíz y de tortilla. Se observó que las heces de los animales contenían niveles mucho más elevados que las cantidades de niacina ingeridas por medio del alimento, lo que se debe a la niacina endógena del contenido intestinal. Sin embargo, cuando la cifra de la niacina endógena se resta de la niacina contenida en las dietas de maíz, de tortilla y de otros preparados, se halla que las cantidades de niacina obtenidas son similares, ya sea que el maíz esté en crudo, hervido o en otra forma, o haya recibido algún otro tratamiento. Estos resultados constituyen una prueba de que aún cuando exista una ligada de niacina, ésta no se encuentra en las heces fecales, como sería de esperar si la niacina ligada no fuese hidrolizada por los jugos gástricos.

Se llevaron a cabo, a diferentes intervalos, estudios sobre la cantidad de ácido nicotínico del aparato digestivo de ratas que habían sido alimentadas con 4 gramos de maíz, 4

gramos de tortilla, 4 de almidón y 4 de almidón con el agregado de niacina, encontrándose que en el contenido intestinal había cantidades progresivamente más altas conforme se prolongaba el período después de la ingesta del alimento, llegando a un punto máximo que, en el caso del maíz y de la tortilla fue de 9 horas, y disminuyendo luego a valores un poco más elevados que los iniciales. Este efecto también se observó en las ratas alimentadas con almidón con o sin el agregado de niacina, aunque el punto máximo difirió del obtenido en los otros dos casos, o sea en el maíz y en la tortilla. Los análisis de nitrógeno del contenido intestinal siguieron tendencias similares a las observadas en el caso de la niacina. La posibilidad de que el efecto observado sea debido a una transformación del triptofano a niacina dentro del intestino del animal, es una hipótesis que la sustentan ampliamente los resultados observados.

Además de los juicios emitidos con base en las observaciones anotadas en la parte titulada "Discusión", los resultados observados en la fase del estudio a que se ha hecho referencia en la última parte de este trabajo de tesis sugieren que bien podría ocurrir una transformación del triptofano a niacina dentro del intestino del animal bajo estudio, teoría que la sustentan los datos resultantes de los experimentos llevados a cabo para determinar la disponibilidad de la niacina del maíz y de la tortilla *in vivo*, según se detalla en la sección correspondiente.

**Roberto GOMEZ BRENES**

## VII. RECONOCIMIENTOS

Deseo dejar testimonio de mi agradecimiento al personal del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (IN-CAP) y, en especial, a su Director, Dr. Nevin S. Scrimshaw, quien me proporcionó la oportunidad de llevar a cabo este Trabajo de Tesis como becario del Instituto.

Asimismo, quiero patentizar mi reconocimiento al Dr. Armando Arce Paiz, Jefe de la Unidad de Campo del Ministerio de Salubridad Pública de Nicaragua, por las gestiones que tuviera a bien hacer para que me fuera otorgada la beca en referencia.

A la Dra. Rosibel Aguilar M., Inspectora General de Farmacias del Ministerio de Salubridad Pública de Nicaragua agradezco, igualmente, el decidido apoyo que siempre supiera prestarme en el desarrollo de mis trabajos.

De una manera especial, hago público mi sincero agradecimiento al Dr. Ricardo Bressani, Jefe de la División de Química Agrícola y de Alimentos del INCAP, por la constante ayuda y buena voluntad que siempre me brindara en la realización de estas investigaciones.

Finalmente, agradezco a todo el personal de la División de Química Agrícola y de Alimentos, así como de la Sección de Nutrición Animal, la valiosa colaboración prestada en relación con los estudios descritos.

## VIII. BIBLIOGRAFIA PERTINENTE

1. Anderson, R.K., J. Calvo, W.D. Robinson, G. Serrano, y G.C. Payne: Nutrition Appraisals in Mexico. *Am. J. Public Health*, 38:1126-1135, 1946.
2. Association of Official Agricultural Chemists: *Official Methods of Analysis, 7a. Ed.*, Washington, D.C. Association of Official Agricultural Chemists, 1950.
3. Aykroyd, W.R., I. Alexa, y J. Nitzulescu: Study of the Alimentation of Peasant in the Pellagra Area of Moldavia (Romania). *Arch. Roumaines de Path. et de Microbiologie*, 8:407-426, 1935.
4. Barakat, M.R.: Some of the Problems of Nutrition in Egypt. *J. Trop. Med. & Hyg.*, 50:95-98, 1947.
5. Birch, T.W., H. Chick, y C.J. Martin: Experiments with Pigs on a Pellagra Producing Diet. *Biochem J.*, 31:2065-2079, 1937.
6. Borrow, A., L. Fowden, M.M. Stedman, J.C. Waterlow, y R.A. Webb: A growth-retarding Factor in Maize Bran. *Lancet*, 254:752-753, 1948.
7. Braude, R., S.K. Kon, y E.G. White: Observations on the Nicotinic Acid Requirements of Pigs. *Biochem. J.*, 40:843-855, 1946.
8. Bressani, R., R. Paz y Paz, y N.S. Scrimshaw: Chemical Changes in Corn during Preparation of Tortillas. *J. Agr. & Food Chem.*, 1958. En prensa.
9. Bressani, R., y N.S. Scrimshaw: Effect of Lime Treatment on *in vitro* Availability of Essential Amino Acids and Solubility of Protein Fractions in Corn. *J. Agr. & Food Chem.*, 1958. En prensa.

10. Castillo, A.S., y M. Flores: Estudios dietéticos en El Salvador. II. Cantón "Platanillos", Municipio de Quezaltepeque, Departamento de La Libertad. *Suplemento N° 2 del Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, "Publicaciones Científicas del INCAP", p, 54-65, 1955.
11. Chaudhuri, D.K., y E. Kodicek: The Biological Activity for the Rat of a Bound Form of Nicotinic Acid Present in Bran. *Biochem. J.*, 47:34, 1950.
12. Cheldelin, V.H., y R.R. Williams: Extraction and Assay of Nicotinic Acid from Animal and Plant Tissues. *Ind. & Eng. Chem. Anal.* .Ed. 14:671-675, 1942.
13. Chick, H., T.F. Macrae, A.J.P. Martin, y C.J. Martin: Curative Action of Nicotinic Acid on Pigs Suffering from the Effects of a Diet Consisting Largely of Maize. *Biochem. J.*, 32:10-12, 1938.
14. Chick, H., T.F. Macrae, A.J.P. Martin, y C.J. Martin: Experiments with Pigs on a pellagra-producing Diet. *Biochem. J.*, 32: 844-854, 1938.
15. Cluver, E.H.: Pellagra among the Maize-eating Natives of the Union of South Africa. *British Med. J.*, 11:751-754, 1929.
16. Cluver, E.H.: The Nutrition Problems in South Africa. *South African Med. J.*, 13:83-86, 1939.
17. Coates, M.E., J.E. Ford, G.F. Harrison, S.K. Kon, E.E. Shephard, y F.W. Wilby: The Use of Chicks for the Biological Assay of Members of the Vitamin B Complex. 2. Test on Natural Materials and Comparison with Microbiological and Other Assays. *British J. Nutrition*, 6:75-89, 1952.
18. Cravioto, R.O., R.K. Anderson, E.E. Lockhart, F. de P. Miranda, y R.S. Harris: Nutritive Value of the Mexican Tortilla. *Science*, 102:91-93, 1945.
19. Cravioto, R.O., G.H. Massieu, O.Y. Cravioto, y F. de M. Figueroa:

- Effect of Untreated Corn and Mexican Tortilla upon the Growth of Rats on a Niacin-tryptophan deficient Diet. *J. Nutrition*, 48:453-460, 1952.
20. Elvehjem, C.A., y W.A. Krehl: Dietary Inter-relationships and Imbalance in Nutrition. *Borden's Rev. Nut. Res.*, 16:69-84, 1955.
  21. Fiorentini, M., A.M. Gaddi, y A. Bonomolo: Esperienze di Alimentazione con Mais Trattato con Alkali. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 32:793-797, 1956.
  22. Flores, M., y E. Reh: Estudios de Hábitos dietéticos en Poblaciones de Guatemala. I. Magdalena Milpas Altas. *Suplemento No. 2 del Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, "Publicaciones Científicas del INCAP", p. 90-128, 1955.
  23. Friedemann, T.E., y E.I. Frazier: The Determination of Nicotinic Acid. *Arch. Biochem.*, 26:361-374, 1950.
  24. Goldsmith, G.A., J. Gibbens, H.L. Rosenthal, W.G. Unglaub, y O.N. Miller: Comparative Effects of Diets containing Lime-treated and Untreated Corn in Production of Human niacin deficiency. *Fed. Proc.*, 13:458-459, 1954.
  25. Goldsmith, G.A., H.L. Rosenthal, J. Gibbens. y W.G. Unglaub: Studies of Niacin Requirement in Man. II. Requirement on Wheat and Corn Diets Low in Tryptophan. *J. Nutrition*, 56:371-386, 1955.
  26. Gyorgy, P.: *Vitamin Methods*. Academic Press Inc. 1950.
  27. Hamilton, L.F., y S.G. Simpson: *Talbot's Quatitative Chemical Analysis*, 9a. ED. McMillan, New York (1946).
  28. Harper, A.E., y C.A. Elvehjem: Dietary Carbohydrates. A Review of the Effects of Different Carbohidrates on Vitamin and Amino Acid Requirements. *J. Agr. & Food Chem.*, 5:754-758, 1957.
  29. Heathcote, J.G., J.J.C. Hinton, y B. Shaw: The Distribution of

Nicotinic Acid in Wheat and Maize. *Proc. Roy. Soc. (B)* 139:276-287, 1952.

30. Henser, G.F., y M.L. Scott: Studies in Duck Nutrition. 5. Bowed Legs in Ducks, a Nutritional Disorder. *Poultry Sci.*, 32: 137-143, 1953.
31. Holman, W.I.M.: The Distribution of Vitamins Within the Tissues of Common Foodstuffs. *Nutrition Abstracts and Reviews*, 26:277-304, 1956.
32. Kodicek, E.: The Biological Activity for the Rat on the Bound Form of Nicotinic Acid Present in Maize. *Biochem. J.*, 48:8, 1951.
33. Kodicek, E., R. Braude, S.K. Kon, y K.G. Mitchell: The Effect of Alkaline Hidrolysis of Maize on the Availability of its Nicotinic Acid to the Pig. *British J. Nutrition*, 10:51-67, 1956.
34. Koeppe, O.J., y L.M. Henderson: Niacin-tryptophan Deficiency Resulting from Imbalances in Amino Acid Diets. *J. Nutrition*, 55:23-33, 1955.
35. Krehl, W.A., C.A. Elvehjem, y F.M. Strong: The Biological Activity of a Precursor of Nicotinic Acid in Cereal Products. *J. Biol. Chem.*, 1956:13-19, 1944.
36. Krehl, W.A., L.J. Teply, P.S. Sarma, y C.A. Elvehjem: Growth-retarding Effect of Corn in Nicotinic Acid Low Ration's and its Counteraction by Tryptophane. *Science*, 101:489-490, 1945.
37. Krehl, W.A., L.J. Teply, y C.A. Elvehjem: Corn as an Etiological Factor in the Production of a Nicotinic Acid Deficiency in the Rat. *Science*, 101:283-285, 1945.
38. Krehl, W.A., P.S. Sarma, y C.A. Elvehjem: The Effect of Protein on the Nicotinic Acid and Tryptophane Requirements of the Growing Rat. *J. Biol. Chem.*, 162:403-411, 1946.

39. Krehl, W.A., L.M. Henderson, J. de la Huerga, y C.A. Elvehjem: Relation of Amino-acid Imbalance to Niacin-tryptophan Deficiency in Growing Rats. *J. Biol. Chem.*, 166:531-540, 1946.
40. Laguna, J., y K.J. Carpenter: Raw vs. Processed Corn in Niacin Deficient Diets. *J. Nutrition*, 45:21-28, 1951.
41. Massieu, H. G., O.Y. Cravioto, R.O. Cravioto, G.J. Guzmán y M. de L. Suárez Soto: Nuevos Datos acerca del Efecto del Maíz y la Tortilla sobre el Crecimiento de Ratas Alimentadas con Dietas Bajas en Triptofano y Niacina. *Ciencia*, 16:24-30, 1956.
42. Nasset, E.S., P. Schwartz, y H.V. Weiss: The Digestion of Proteins in vivo. *J. Nutrition*, 56:83-94, 1955.
43. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura: El maíz en la Alimentación. Estudio sobre su Valor Nutritivo. Roma, Italia, 1954. (*F.A.O. Estudios sobre Nutrición, No. 9*).
44. Pearson, W.N., S.J. Stempfel, J.S. Valenzuela, M.H. Utley, y W.J. Darby: The Influence of Cooked vs. Raw Maize on the Growth of Rats receiving a 9% Casein Ration. *J. Nutrition*, 62:445-463, 1957.
45. Reddi, K.K.: Estimation of the "Bound Form" of Nicotinic Acid. *Nature*, 170:745-746, 1952.
46. Reh, E., y C. Fernández: Condiciones de Vida y de Alimentación en Cuatro Grupos de Población de la Zona Central de Costa Rica. *Suplemento N° 2 del Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, "Publicaciones Científicas del INCAP", p. 66-89, 1955.
47. Sogandares, L., y G. de Barrios: Estudios Dietéticos en Panamá. I. La Mesa, Provincia de Veraguas. *Suplemento N° 2 del Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, "Publicaciones Científicas del INCAP", p. 38-46, 1955.

48. Sebrell, Jr., W.H., y R.S. Harris: The Vitamins. *Chemistry, Physiology, Pathology. III.* Academic Press Inc. New York, 1954.
49. Sebrell, Jr., W.H., y R.S. Harris: The Vitamins. *Chemistry, Physiology, Pathology. II.* Academic Press Inc. New York, 1954.
50. Sohoni, K., y V.C. Misra: A Comparison of Acid and Enzymatic Extraction of Nicotinic Acid from Foodstuffs. *British J. Nutrition*, 4:134-138, 1950
51. Squibb, R.L., J.E. Braham, G. Arroyave, y N.S. Scrimshaw: A Comparison of the Effect of Raw Corn and Tortillas (lime-treated corn) with Niacin, Tryptophan or Beans on the Growth and Muscle Niacin of Rats. *J. Nutrition*, 1958. En prensa.
52. Swaminathan, M.: The Nicotinic Acid Content of the Tissue of Monkeys Fed on Wheat, Maize and Rice Diets. *Indian J. Med. Res.*, 28:91-99, 1940.
53. Sweeney, J.P.: Report on Chemical Method for Nicotinic Acid. *J. Assoc. Official Agric. Chemists*, 34:380-387, 1951.
54. Sweeney, J.P., y W.P. Parrish. Extraction of Nicotinic Acid from Naturally Occurring Materials. *J. Assoc. Official Agric. Chemists*, 37:771-777, 1954.
55. Woolley, D.W.: Occurrence of a Pellagrogenic Agent in Corn. *J. Biol. Chem.*, 163:775, 1946.

## PROPOSICIONES

- |  |  |
|--|--|
| 1.—Química Orgánica                                    | Eteres   |
| 2.—Química Mineral                                     | Azufre   |
| 3.—Química Analítica Cualitativa                       | Primer Grupo   |
| 4.—Química Analítica Cuantitativa                      | Acidimetría  |
| 5.—Química Biológica                                   | Proteínas  |
| 6.—Análisis Aplicado                                   | Materiales Aglomerantes de Construcción                |
| 7.—Física Aplicada                                     | Termómetro   |
| 8.—Farmacia Química                                    | Piramidón  |
| 9.—Principios Fundamentales de Química                 | Soluciones   |
| 10.—Materia Médica                                     | Simpático-Miméticos                                    |
| 11.—Contabilidad Aplicada                              | Inventario   |
| 12.—Microbiología                                      | Inmunidad  |
| 13.—Geología y Mineralogía                             | Agentes Eruptivos                                      |
| 14.—Bromatología                                       | Maíz y Preparados                                      |
| 15.—Botánica Microscópica e Histología Vegetal         | Célula   |
| 16.—Criminalística                                     | Acido Cianhídrico                                      |
| 17.—Zoología Farmacéutica                              | Insectos   |
| 18.—Tecnología Farmacéutica                            | Aire Necesario para la combustión de los hidrocarburos |
| 19.—Anatomía y Fisiología                              | Aparato Digestivo                                      |
| 20.—Legislación, Deontología e Historia de la Farmacia | Servicio de Turno                                      |
| 21.—Farmacia Operativa                                 | Filtración   |
| 22.—Botánica Farmacéutica                              | Solanáceas   |
| 23.—Parasitología                                      | Paludismo  |
| 24.—Hidrología   | Purificación de las Aguas                              |
| 25.—Farmacia Galénica                                  | Pociones   |
| 26.—Higiene y Primeros Auxilios                        | Higiene de los Alimentos                               |



**PARTE DE LA EDICION  
DE ESTA TESIS HA SIDO  
COSTEADA POR LA  
UNIVERSIDAD, EN VISTA  
DE SU MERITO.**

