

**RETENCIÓN DE CAROTENOIDES EN HÍBRIDOS EXPERIMENTALES DE  
MAÍZ BIOFORTIFICADO DURANTE LA ELABORACIÓN DE TORTILLAS  
CHIPS**

**CAMILA ANDREA MÉNDEZ DELGADO**

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**CARRERA DE NUTRICIÓN Y DIETÉTICA**

**Bogotá D.C. (Junio 2020)**

**RETENCIÓN DE CAROTENOIDES EN HÍBRIDOS EXPERIMENTALES DE  
MAÍZ BIOFORTIFICADO DURANTE LA ELABORACIÓN DE TORTILLAS  
CHIPS**

CAMILA ANDREA MÉNDEZ DELGADO

**TRABAJO DE GRADO**

Presentado como requisito parcial para optar al título de

Nutricionista Dietista

DARWIN ORTIZ, PhD

Director

ANDRES GIRALDO TORO, PhD

Codirector

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**CARRERA DE NUTRICIÓN Y DIETÉTICA**

**Bogotá D.C. (Junio 2020)**

## NOTA DE ADVERTENCIA

Artículo 23 de la Resolución N° 13 de Julio de 1946

“La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Solo velará por que no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y por qué las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vea en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia”.

**RETENCIÓN DE CAROTENOIDES EN HÍBRIDOS EXPERIMENTALES DE  
MAÍZ BIOFORTIFICADO DURANTE LA ELABORACIÓN DE TORTILLAS  
CHIPS**

CAMILA ANDREA MÉNDEZ DELGADO

**APPROBADO**



---

Darwin Ortiz

Químico, PhD

Director



---

Andrés Giraldo Toro

Ingeniero Agroindustrial, PhD

Codirector

Mauricio Espinal Ruiz

---

Mauricio Espinal Ruiz

Químico, PhD

Jurado

**RETENCIÓN DE CAROTENOIDES EN HÍBRIDOS EXPERIMENTALES DE  
MAÍZ BIOFORTIFICADO DURANTE LA ELABORACIÓN DE TORTILLAS  
CHIPS**

CAMILA ANDREA MÉNDEZ DELGADO

**APPROBADO**

---

Concepción Judith Puerta Buta

Bacterióloga, PhD

Decana de Facultad

---

Luisa Fernanda Tobar Vargas

Nutricionista Dietista, MSc

Dirección de Carrera

## **DEDICATORIA**

A Dios, mi familia y profesores, quienes me  
han apoyado y guiado en cada una  
de las decisiones que he tomado  
a lo largo de mi vida  
¡Gracias!

## AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos a Dios, a mi familia y a mis amigos, quienes, a pesar de la distancia, me han acompañado en cada momento para cumplir este sueño con su apoyo incondicional.

A mis profesores Darwin Ortiz, Andrés Giraldo Toro e Ingrid Aragón quienes me aportaron sus conocimientos, orientación, dedicación, tiempo y confianza para poder realizar con éxito este proyecto.

A la profesora Ruby Alejandra Villamil Parra, por darme la oportunidad de ingresar como Joven Investigadora en el proyecto de investigación “Desarrollo de dos productos lácteos “tipo queso” bajos en sodio con potencial funcional, mediante la inclusión de aceite de palma alto oleico (*Elaeis oleífera* x *Elaeis guineensis*)”, su acompañamiento y asesorías.

Al personal del Laboratorio del Dr. Torbert Rocheford quienes me acompañaron, me asesoraron y me recibieron en su laboratorio para el desarrollo de este proyecto.

A Cenipalma y Colciencias por su financiación.

A la Pontificia Universidad Javeriana de Bogotá.

A Purdue University, West Lafayette.

## TABLA DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN.....	3
2. MARCO TEÓRICO .....	5
2.1. Carotenoides .....	5
2.2. Carotenoides y Prevención de Enfermedades.....	6
2.3. Deficiencia de Vitamina A.....	6
2.3.1. Degeneración Macular Relacionada con la Edad (DMAE).....	7
2.3.2. Cataratas .....	8
2.3.3. Enfermedad Cardiovascular .....	8
2.3.4. Función Cognitiva .....	9
2.4. Biofortificación de Cultivos con Altos Niveles de Carotenoides .....	10
2.5. Procesamiento de Maíz y Retención de Carotenoides.....	11
2.5.1. Nixtamalización.....	11
2.5.2. Fritura .....	12
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	13
4. OBJETIVOS.....	14
4.1. Objetivo General.....	14
4.2. Objetivos Específicos .....	14
5. HIPÓTESIS .....	14
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
6.1. Materiales.....	15
6.2. Métodos .....	15
6.2.1. Selección de Seis Genotipos de Maíz.....	15
6.2.2. Proceso de Elaboración de Tortillas y Chips de Tortilla.....	16
6.2.3. Extracción y Análisis de Carotenoides.....	17
6.2.4. Evaluación de las Propiedades Visco elásticas (RVA) .....	18
6.3. Análisis Estadístico.....	19
7. RESULTADOS .....	20
7.1. Evaluación del Perfil de Carotenoides en Seis Genotipos Seleccionados de Maíz... ..	20

7.2. Evaluación de la Retención de Carotenoides Durante la Elaboración de Tortillas y Chips de Tortilla. ....	21
7.3. Caracterizar las Propiedades Visco Elásticas de Líneas de Maíz Biofortificado .....	27
8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....	28
9. CONCLUSIONES.....	32
10. RECOMENDACIONES .....	32
11. REFERENCIAS .....	33

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Genotipos de maíz utilizados.....	16
Tabla 2. Contenido de carotenoides ( $\mu\text{g/g}$ ) en genotipos seleccionados.....	21
Tabla 3. Contenido de carotenoides ( $\mu\text{g/g}$ ) durante la elaboración de tortillas chips .....	23
Tabla 4. Contenido de carotenoides en una porción de tortilla o tortillas chips .....	25
Tabla 5. Resumen de las propiedades visco elásticas en líneas de maíz biofortificado .....	28

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructuras químicas de los carotenoides más frecuentes en la dieta humana.....	5
Figura 2. Perfil estándar de RVA .....	19
Figura 3. Cromatograma con saponificación vs cromatograma sin saponificación .....	26
Figura 4. Curva de viscosidad de híbridos de maíz naranja vs. Genotipos comerciales .....	27

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Diseño experimental .....	20
--------------------------------------	----

## **NOTA**

Esta propuesta de investigación fue apoyada por Purdue University, en el marco de un acuerdo de pasantía internacional para estudiantes de pregrado. Esta propuesta está enmarcada dentro del proyecto de investigación titulado “Desarrollo de dos productos lácteos “tipo queso” bajos en sodio con potencial funcional, mediante la inclusión de aceite de palma alto oleico (*Elaeis oleífera* x *Elaeis guineensis*)” e identificado con ID: 00008239. El cual está a cargo de la Profesora Ruby Alejandra Villamil Parra, nutricionista dietista, dentro del grupo de investigación: Alimentos, Nutrición y Salud del Departamento de Nutrición y Bioquímica de la Pontificia Universidad Javeriana. La duración del proyecto será de 18 meses. El proyecto en mención tiene el acuerdo de confidencialidad No. 062/19, entre la Pontificia Universidad Javeriana y CENIPALMA.

## **RESUMEN**

La biofortificación de cultivos básicos de la canasta familiar para incrementar el contenido de carotenoides es una estrategia prometedora y costo-eficiente para combatir diferentes enfermedades de interés en salud pública. Sin embargo, la utilización de alimentos biofortificados en la elaboración de productos procesados, que logren mantener niveles adecuados de carotenoides en el producto final, es crucial para el éxito de esta estrategia. Dado este panorama, este proyecto tuvo como objetivo caracterizar el impacto del procesamiento de maíz para la elaboración de tortillas y chips de tortilla incorporando genotipos comerciales e híbridos biofortificados de maíz sobre la estabilidad de los carotenoides. Como resultados se observó que tanto los híbridos experimentales como los genotipos comerciales cuentan con porcentajes de pérdidas similares de carotenoides durante el procesamiento; sin embargo, los híbridos experimentales muestran una concentración final de carotenoides totales cerca de tres veces mayor en comparación con los genotipos comerciales debido a la biofortificación con la cual cuentan estos genotipos. Así mismo, tres porciones de 50g de tortillas o tortillas chips elaboradas a partir de los híbridos experimentales lograrían cumplir con la recomendación mínima de consumo de carotenoides diarios (~3–6 mg/día) según el Instituto de Medicina de los Estados Unidos, para un posible efecto en salud. De esta investigación se destaca igualmente, la viabilidad a nivel industrial del uso de dos híbridos experimentales dado a sus características visco elásticas, que permiten otorgar características específicas de elongación a las tortillas, además de un alto rendimiento a nivel industrial.

## **ABSTRACT**

Carotenoid biofortification in staple crops as a natural fortification strategy remains a promising and cost-effective strategy to combat various diseases that are of public health concern. Using biofortified foods that maintain adequate levels of carotenoids in the final product are crucial to the success of this strategy, for both traditional and industrial processed products. Given this scenario, this project's aim is to characterize the impact of the tortilla and tortilla chip manufacturing process on carotenoid stability, for both commercial genotypes and biofortified maize. The results showed that both experimental hybrids and commercial genotypes have similar percentages of carotenoid losses during processing. However, due to the biofortification of these genotypes, the experimental hybrids show a total final concentration of carotenoids that is about three times higher when compared to commercial genotypes. Furthermore, three 50g portions of tortillas or tortilla chips made from the experimental hybrids would meet the minimum daily carotenoid consumption recommendation for a possible health effect (~3-6 mg/day), according to the US Institute of Medicine. This research also highlights the viability at the industrial level for the use of two experimental hybrids due to their pasting properties. These properties would be able to give specific elongation characteristics to the tortillas, as well as a high performance at an industrial level.

## 1.INTRODUCCIÓN

Las frutas y verduras contienen diferentes fitonutrientes incluidos carotenoides y flavonoides, los cuales han mostrado diversos efectos benéficos para la salud humana. Estos fitonutrientes se encuentran en bajas concentraciones en los alimentos y su ingesta se ha asociado a la reducción del riesgo de desarrollar ciertos tipos de cáncer, enfermedades del corazón, entre otras enfermedades no transmisibles. A pesar de sus beneficios a la salud, el consumo de frutas y verduras aún es bajo por un gran porcentaje de la población. Para promover una mejor ingesta de estos fitonutrientes, diferentes estrategias como la fortificación y la biofortificación de alimentos han sido implementadas buscando ayudar a incrementar su consumo y consecuentemente ayudar a prevenir el desarrollo de enfermedades no trasmisibles.

La biofortificación es una técnica agronómica de mejoramiento de cultivos que busca el incremento de nutrientes a través del mejoramiento convencional o usando ingeniería genética. Durante el mejoramiento convencional, los mejoradores de cultivos buscan en colecciones de semillas o bancos de germoplasma, variedades de un cultivo con concentraciones naturalmente altas de fitonutrientes de interés en salud pública. Luego, los mejoradores cruzan estas variedades con variedades comerciales con características agronómicas deseadas tales como, resistencia a enfermedades, alto rendimiento agroindustrial, y de esta manera se logra producir nuevas líneas de cultivos con concentraciones mejoradas del fitonutriente junto con excelentes características agronómicas. A través de estos programas de mejoramiento de cultivos se ha logrado desarrollar cultivos de frijol con alto contenido de hierro, trigo y maíz con alto contenido de zinc, y cultivos como maíz, yuca y batata con mejores contenidos de carotenoides provitamina A.

En cultivos de maíz biofortificado, se han desarrollado nuevas líneas de cultivos con altas concentraciones de carotenoides provitamina A ( $\beta$  – caroteno y  $\alpha$  – caroteno), las cuales ya han sido liberadas para su consumo en diferentes países de África.

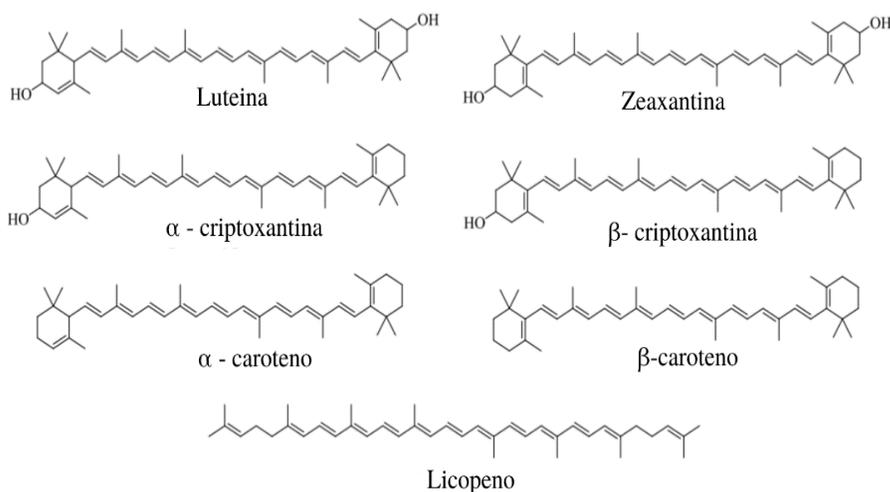
Actualmente, se han desarrollado nuevos híbridos de maíz biofortificado que se encuentran en etapa de desarrollo avanzada con niveles significativos de luteína y zeaxantina. Estos carotenoides son potentes pigmentos antioxidantes críticos para mantener una función ocular saludable a medida que el cuerpo humano envejece, además de contribuir a la prevención de diferentes enfermedades crónicas no transmisibles y al desarrollo de la función cognitiva. Sin embargo, las mismas características que les conceden una actividad antioxidante y por ende efecto positivo a la salud, de igual manera los hacen muy propensos a reacciones químicas de degradación al ser sometidos a factores como la luz, el oxígeno y la exposición al calor.

Si bien estas líneas de maíz con altos niveles de luteína y zeaxantina prometen un impacto positivo a la salud de los consumidores, es necesario que el maíz logre ser transformado en productos que sean de consumo masivo en la población, utilizando operaciones industriales y variables de proceso controladas que permitan una adecuada retención de estos carotenoides durante la elaboración de estos productos. Con lo anterior mencionado, para el presente proyecto se eligió elaborar tortillas y tortillas chips debido a que son de los productos a base de maíz más consumidos en los Estados Unidos y Latino América, con el objetivo de caracterizar el impacto del proceso de elaboración de tortillas y chips de tortilla utilizando líneas comerciales e híbridos biofortificados de maíz sobre la estabilidad de los carotenoides.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Carotenoides

Los carotenoides son pigmentos naturales que se distribuyen en bacterias fotosintéticas, algas, plantas y animales (Rubin, et al., 2017). Estos compuestos interactúan con la luz y absorben longitudes de onda que van de 400 a 550 nanómetros, causando que el ojo humano los perciba de color amarillo, naranja y rojo (Fiedor & Burda, 2014). Los carotenoides son hidrocarburos polinsaturados de 40 carbonos (Figura 1), y algunos de ellos pueden contener estructuras cíclicas en uno o ambos extremos de la molécula (Badui, 2006). Los carotenoides se clasifican de manera general en dos grandes grupos: los carotenos y las xantofilas. El grupo de los carotenos se caracteriza por contener átomos de hidrógeno y carbono en su estructura. Estos carotenoides pueden contener estructuras cíclicas en su estructura química, como el  $\beta$ -caroteno, o pueden ser de cadena lineal como el licopeno (Figura 1). Por otro lado, el grupo de las xantofilas se caracteriza por contener átomos de oxígeno, además de átomos de carbono e hidrógeno, en su estructura química. Algunos ejemplos en este grupo son la luteína, zeaxantina y  $\beta$ -criptoxantina (Figura 1.) (IUPAC, 1974).



**Figura 1.** Estructuras químicas de los carotenoides más frecuentes en la dieta humana.

Los carotenoides más frecuentes en la dieta humana son  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno,  $\beta$ -criptoxantina, licopeno, luteína y zeaxantina (Fiedor & Burda, 2014). Sin embargo, no todos se encuentran en los mismos alimentos. Por ejemplo,  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno y  $\beta$ -criptoxantina se encuentran en la ahuyama, el licopeno es el carotenoide predominante en el tomate, y la luteína y zeaxantina se encuentran en alimentos como la espinaca y col (Escott-Stump, Mahan, & Raymond, 2013).

## **2.2. Carotenoides y prevención de enfermedades**

Los carotenoides son uno de los pigmentos naturales más abundantes en la naturaleza. Sin embargo, a pesar de su enorme diversidad natural, sólo 25 carotenoides han sido reportados estar presentes en concentraciones significantes en sangre y tejido de humanos y animales (Cooperstone & Schwartz, 2016). Debido a la incapacidad de humanos y animales de biosintetizar carotenoides, estos compuestos solo pueden ser obtenidos a través de la dieta (Sun et al., 2018). Los carotenoides presentes en concentraciones altas en plasma humano son licopeno,  $\beta$ -caroteno,  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -criptoxantina, luteína, zeaxantina y fitoflueno (Christen, 2008).

## **2.3. Deficiencia de Vitamina A**

La deficiencia de vitamina A, se presenta cuando hay un aporte insuficiente de esta vitamina en la dieta, ya sea por una ingesta inadecuada de vitamina A preformada (retinol, retinal o retinil ésteres) en productos animales como el hígado y el huevo, o de carotenoides provitamina A presentes en las frutas y verduras. La deficiencia de vitamina A también se presenta como consecuencia a alteraciones biológicas del metabolismo de este nutriente y problemas en su absorción, como se observa en la enfermedad de Crohn (Bohn, 2017).

La deficiencia de vitamina A se presenta con mayor frecuencia en países en desarrollo. Sin embargo, según la Organización Mundial de la Salud los grupos poblaciones más vulnerable son los niños y mujeres en estado de embarazo, un ejemplo de esto se observa en países como Colombia donde según la Encuesta Nacional de la Situación

Nutricional que 27 de cada 100 niños de 1 a 4 años presentan deficiencia de vitamina A (Ministerio de la Protección Social, 2015). Entre las consecuencias de la deficiencia de vitamina A, se encuentran, la pérdida de visión, desarrollo de enfermedades visuales y cardiovasculares, osteoporosis, subdesarrollo cognitivo, entre otras (Escott-Stump et al., 2013).

Se ha descrito que el consumo de carotenoides provitamina A (p. ej.,  $\alpha$  - caroteno,  $\beta$  - caroteno y  $\beta$  - criptoxantina) puede prevenir la deficiencia de vitamina A debido a su potencial de conversión en retinol. Por otro lado, las xantofilas como la luteína y la zeaxantina no poseen este potencial de conversión (Institute of Medicine, 2000). Sin embargo, al igual que se ha descrito la prevención de la deficiencia de vitamina A por medio del consumo de provitamina A, también se han establecido diferentes investigaciones las cuales señalan que estas xantófilas a pesar de no poder ser convertidas en retinol, logran cumplir un rol protector en la prevención de diferentes enfermedades como enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedades cardiovasculares, diabetes, cáncer y la degeneración macular relacionada con la edad (Bohn, 2017; Hamer & Chida, 2007; Rubin et al., 2017; Woodside, Young, & McKinley, 2013).

### **2.3.1. Degeneración Macular Relacionada con la Edad (DMAE)**

La degeneración macular relacionada con la edad es una enfermedad neurodegenerativa caracterizada por la pérdida progresiva de la visión central, la cual se encarga de la agudeza y definición de las imágenes percibidas (Lim, 2002). Investigadores han estimado que para el final del 2020, 196 millones de personas alrededor del mundo presentarán esta enfermedad, y se estima que para el 2050, la DMAE afectará a cerca de 22 millones a nivel mundial (Rein, 2009).

La luteína y la zeaxantina son las principales xantófilas presentes en la dieta humana que se acumulan en grandes concentraciones en la mácula humana (von Lintig, et al., 2019). Estudios recientes han demostrado que la luteína y la zeaxantina pueden proteger a los adultos mayores contra la degeneración macular relacionada con la edad

(DMAE) (Chitchumroonchokchai, et al., 2017). Debido a que estos carotenoides llamados de igual manera “pigmentos maculares” poseen una actividad antioxidante y de filtración de luz azul, la cual podría llegar a proteger la mácula de una oxidación a largo plazo (Sato et al., 2012). Esta característica específica presente en estos carotenoides se da debido al amplio número de enlaces dobles y simples combinados a lo largo de su estructura, lo cual permite que haya una absorción de luz azul; llevando a reducir hasta en un 90% la cantidad de luz azul que llegaría a la mácula del ojo protegiéndole, de esa manera, de un daño oxidativo inducido por ésta (Lim, 2002).

### **2.3.2. Cataratas**

Las cataratas son una enfermedad ocular caracterizada por la pérdida de la transparencia del lente o cristalino del ojo, llevando a una disminución de la capacidad de enfoque y percepción de la distancia captada por el ojo (Fajnkuchen et al., 2002). Esta enfermedad es catalogada como la primera causa de discapacidad visual a nivel mundial, con una prevalencia mayor a 18 millones de personas afectadas (World Health Organization, 2011).

Factores como una alta exposición a la luz solar, diabetes, tabaquismo, entre otros, aumentan el riesgo de padecer esta enfermedad. Sin embargo, estudios de cohorte han encontrado que personas que consumieron una dieta con alto contenido de carotenoides, tales como luteína y zeaxantina, presentaron entre un 18% y un 50% menos probabilidad de desarrollar cataratas (Christen, 2008; Lyle, et al., 1999). Además, se ha encontrado que las concentraciones plasmáticas de luteína y zeaxantina están inversamente asociadas a la progresión de la catarata nuclear (Fajnkuchen et al., 2002)

### **2.3.3. Enfermedad Cardiovascular**

La enfermedad cardiovascular (ECV) es un grupo de enfermedades relacionadas con afectaciones del corazón y vasos sanguíneos (Miller, Jarvis, & McBean, 2002). La Organización Mundial de la Salud declara que la ECV es la primera causa de muerte a

nivel mundial, y estimó en el 2015 que cerca del 31% de todas las muertes registradas en el mundo fueron como consecuencia a enfermedades cardiovasculares.

Debido a la característica liposoluble de los carotenoides, se conoce que éstos son capaces de circular en el plasma junto con las lipoproteínas (Institute of Medicine, 2000). De acuerdo con esto, se determinó que es posible hallar una relación entre la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y el rol de los carotenoides como antioxidantes de estas lipoproteínas; contribuyendo a la prevención del desarrollo de placa ateromatosa (Kritchevsky, 1999). Donde igualmente se ha determinado que la concentración sérica total de carotenoides tiene una relación inversa con la concentración sérica de la Proteína C-Reactiva (PCR) y la homocisteína total (Wang et al., 2014). Cabe recordar que altos niveles de éstos biomarcadores se han asociado con un alto riesgo de desarrollar ECV (Lordan & Zabetakis, 2017). Por lo tanto, Wang et al., 2014 sugirieron una posible relación de los carotenoides en la disminución del proceso inflamatorio en el cuerpo humano.

#### **2.3.4. Función Cognitiva**

La función cognitiva se define como todo proceso mental que permite el desarrollo de una actividad, como lo es aprender, recordar información, resolver problemas, concentrarse, mantener la atención, entre otros (Johnson, 2012). Se sabe que la luteína y la zeaxantina son los carotenoides que se acumulan significativamente en el cerebro (30-40%), sugiriendo una posible preferencia por el tejido cerebral en la absorción de estos carotenoides (Johnson et al., 2013).

Investigadores como Johnson y colaboradores encontraron en el 2008 que al suministrar una suplementación con luteína (12 mg/día) y zeaxantina (~0,5 mg/día) a mujeres entre 60 a 80 años sin deterioro cognitivo, presentaban una mejora significativamente alta en el rendimiento en pruebas cognitivas; seguidamente para el 2013 lograron encontrar que pacientes con menor contenido de luteína y zeaxantina a nivel plasmático presentaron una disminución en su función cognitiva. En los

siguientes años, Vishwanathan, et al., 2014 sugirieron los contenidos en plasma de luteína y zeaxantina como un posible biomarcador para evaluar la salud cognitiva de los seres humanos.

#### **2.4. Biofortificación de cultivos con altos niveles de carotenoides**

La biofortificación, es una técnica agronómica de mejoramiento de cultivos que busca el incremento natural de nutrientes en cultivos básicos de consumo masivo (Badui, 2006), mediante el uso de tecnologías agronómicas como la fertilización del suelo, el fitomejoramiento convencional o tradicional, y la ingeniería genética (Garcia-Casal, Peña-Rosas, & Giyose, 2017). La biofortificación de cultivos ha sido desarrollada como una herramienta sostenible y complementaria a otras estrategias, tales como la fortificación de alimentos, diversificación de la dieta, educación nutricional, entre otras, para combatir deficiencias de micronutrientes en países en desarrollo (Lockyer, White, & Buttriss, 2018). Nuevas variedades de cultivos básicos como maíz, arroz, yuca, batata, entre otros, están siendo biofortificados con altos niveles de micronutrientes como hierro, zinc, y vitamina A (Lockyer et al., 2018).

El maíz biofortificado no transgénico, fue desarrollado inicialmente para aliviar deficiencias nutricionales (deficiencia de vitamina A) en países en desarrollo (Menkir, Rocheford, Maziya-Dixon, & Tanumihardjo, 2015). Este desarrollo tecnológico dió como resultado un maíz con mejores características agronómicas, mejores contenidos de carotenoides, concediéndoles no solo un color único, sino también un sabor superior, un beneficio inesperado confirmado por sus consumidores (Ortiz, et al., 2018). Los carotenoides predominantes en el maíz biofortificado de color naranja, son luteína y zeaxantina (L/Z, ambas xantofilas no provitamina A), también conocidos como "carotenoides maculares", potentes pigmentos antioxidantes críticos para mantener una función ocular saludable a medida que el cuerpo humano envejece y sus consumidores podrían beneficiarse al consumir en mayores cantidades (Lim, 2002).

Por lo tanto, a pesar de ser la biofortificación de maíz una estrategia desarrollada para su implementación en países en desarrollo, nuevos híbridos de maíz biofortificados con altos niveles de carotenoides no-provitamina A, luteína y zeaxantina, están siendo desarrollados para el mercado estadounidense. Las nuevas líneas biofortificadas de maíz desarrolladas por investigadores de Purdue University contiene niveles significativamente más altos de carotenoides (40-60  $\mu\text{g/g}$ ) en comparación con el maíz amarillo convencional (promedio  $\sim 10\text{-}20 \mu\text{g/g}$ ).

Aunque los resultados en el desarrollo de nuevos híbridos de maíz con altos niveles de carotenoides son prometedores, el éxito de la biofortificación depende en gran medida en la retención de los carotenoides a través de la cadena de procesamiento y pos-cosecha del maíz. Desafortunadamente, los atributos químicos que confieren los beneficios para la salud también fomentan que los carotenoides sean altamente inestables y susceptibles a la oxidación, lo cual puede limitar el impacto potencial de estos compuestos en los alimentos, especialmente durante las condiciones tradicionales de procesamiento del maíz.

## **2.5. Procesamiento de maíz y retención de carotenoides**

El maíz es transformado a través del uso de diferentes técnicas de procesamiento antes de ser ingerido por los seres humanos. Las técnicas de procesamiento más comúnmente usada en el maíz son la extrusión, molienda en seco, fermentación, nixtamalización y fritura. Estas técnicas de procesamiento adicionan características organolépticas específicas a cada producto, y además generan alteraciones en la matriz alimentaria del maíz.

### **2.5.1. Nixtamalización**

La nixtamalización, es una técnica de procesamiento en la que granos de maíz enteros se someten a ebullición durante 35-50 min, seguido de un periodo de remojo en solución alcalina, durante 8-16 horas a temperatura ambiente (Rosales, et al., 2016). Esta técnica se suele utilizar para la elaboración de masa nixtamalizada, tortillas,

tortilla “chips” y harinas instantáneas (extruidas) nixtamalizadas (Gwirtz & Garcia-casal, 2014).

La retención de carotenoides durante la nixtamalización, depende de diversos factores como, el tiempo de exposición a temperaturas elevadas, la concentración de  $\text{CaOH}_2$ , el tiempo de remojo de los granos de maíz, y la composición de la matriz de cada genotipo de maíz. Aunque algunos estudios reportan pérdidas del 12% de los carotenoides totales luego de la nixtamalización (Corrales-Bañuelos et al., 2016), otros carotenoides, tales como la  $\beta$ -criptoxantina y  $\beta$ -caroteno, han mostrado pérdidas hasta del 84% y 38%; respectivamente (Rosales et al., 2016).

### **2.5.2. Fritura**

La fritura es un método de cocción tradicional que consiste en la inmersión completa de un producto alimenticio en aceite a temperaturas entre 160 °C y 200 °C (Ata Ximello & Bravo González, 2015). Este método de cocción es ampliamente usado en la industria alimentaria para la obtención de tortillas chips, otorgándole características organolépticas específicas, como lo es la crocancia, siendo ésta una de las características de mayor interés en los consumidores de tortillas chips.

Durante el proceso de fritura de tortilla chips, Sowa et al., (2017) reportó un porcentaje de pérdida de carotenoides entre el 22% - 33%. Además, reportó que la pérdida de carotenoides se encuentra directamente relacionada con las altas temperaturas y el tiempo de exposición a estas durante la fritura. Los carotenoides presentan en su estructura química cadenas de dobles enlaces conjugados, característica que les confiere mayor susceptibilidad a descomposición oxidativa, fotodegradación e isomerización geométrica durante su exposición a factores como la temperatura, oxígeno, luz, enzimas oxidativas, ácidos, metales, y radicales libres (De Moura, Miloff, & Boy, 2015).

### 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La degeneración macular relacionada con la edad (DMAE) es una de las principales causas de pérdida de la visión en los Estados Unidos en adultos mayores de 50 años (Instituto Nacional del Ojo, 2019). Se estima que para el 2050 entre 2 y 5 millones de personas padecerán esta enfermedad (Instituto Nacional del Ojo, 2019). Diferentes estudios epidemiológicos han sugerido que el consumo de alimentos con niveles altos de xantofilas estaría asociado con un menor riesgo en el desarrollo de degeneración macular relacionada con la edad (Seddon et al., 1994). Aunque las xantofilas se encuentran en altas concentraciones en alimentos como frutas y verduras, la ingesta de estos carotenoides es limitada debido a su bajo consumo. En Estados Unidos, sólo el 12,2% de los adultos cumplen con la recomendación de consumo diario de fruta y sólo el 9,3% cumplen con la recomendación de consumo diario de verduras (Lee, 2018). Debido al bajo consumo de frutas y verduras, se buscan estrategias alternativas de alimentación que sean saludables y que permitan incrementar el contenido de carotenoides en la dieta de las poblaciones; con el fin de obtener un efecto beneficioso en la salud humana.

La biofortificación es una técnica agronómica, utilizada como estrategia para mejorar el perfil nutricional de diferentes cultivos. Uno de estos cultivos, es el maíz (*Zea mays* L.) debido a que es uno de los cultivos de mayor importancia en la actualidad, debido a que uno de los mas consumido a nivel mundial, con un promedio mundial superior a 116 millones de toneladas por año (FAO, 2017).

Híbridos de maíz biofortificado con altos niveles de luteína y zeaxantina se están desarrollando en los Estados Unidos para combatir la deficiencia de estos carotenoides en la dieta de los americanos. Sin embargo, el éxito de la biofortificación de maíz con mayores niveles de luteína y zeaxantina depende en gran medida de la retención y estabilidad de los carotenoides durante la producción de alimentos a base de maíz y de alto consumo por los americanos.

Con base a este panorama, el presente estudio busca caracterizar el impacto del proceso de elaboración de tortillas y chips de tortilla en la estabilidad de los carotenoides a partir de genotipos comerciales y en híbridos de maíz biofortificados con carotenoides. Con el fin de evaluar si al hacer uso de maíz biofortificado en la producción de tortillas se obtienen contenidos finales de carotenoides suficientes para cubrir los requerimientos diarios de ingesta para un adulto promedio.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1. Objetivo general:**

- Caracterizar el impacto del proceso de elaboración de tortillas y chips de tortilla a partir de genotipos comerciales e híbridos biofortificados de maíz sobre la estabilidad de los carotenoides.

### **4.2. Objetivos específicos**

- Evaluar el perfil de carotenoides en seis genotipos seleccionados de maíz biofortificado.
- Evaluar la retención de carotenoides durante la elaboración de tortillas y tortillas chips
- Caracterizar las propiedades visco elásticas de líneas de maíz biofortificado.

## **5. HIPÓTESIS**

La retención y estabilidad de carotenoides durante la preparación de tortillas y tortilla chips depende en gran medida de la composición química y de la morfología de los cromoplastos donde se almacenan los carotenoides en el endospermo de maíz. Además, la retención de los carotenoides también dependerá de la temperatura de cocción, el contenido y perfil de carotenoides, y el procesamiento del maíz.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1. Materiales

- **Los disolventes de extracción y HPLC:** Acetona, acetato de etilo, metanol, éter de petróleo (JT Baker, Phillipsburg, NJ), éter metil tert-butílico (Sigma-Aldrich St. Louis MO) e hidróxido de potasio. Estándares all-trans luteína (LUT),  $\beta$ -caroteno (BC),  $\beta$ -criptoxantina (BCRYP),  $\beta$ -apo-8'-carotenal (Sigma-Aldrich, St. Louis MO),  $\alpha$ -criptoxantina,  $\alpha$ -caroteno (CaroteneNature, Lupsingen, Suiza), y zeaxantina (ZEA) (IndoFine, Hillsborough, NJ) se obtuvieron y utilizaron para la identificación de carotenoides y la calibración del método por HPLC.
- **Materia prima:** 21 genotipos diferentes de maíz, (cada línea de maíz se cultivó en el Centro de Agronomía de Investigación y Educación de Purdue University en West Lafayette, IN (EE.UU.), durante la temporada de cultivo de 2019 (mayo-octubre)), aceite híbrido de palma colombiano (producido y donado por cenipalma Bogotá, Colombia.), aceite de canola y agua destilada.
- **Equipos:** Rapid visco-analyzer (RVA, por sus siglas en inglés) modelo RVA-4 series (Newport Scientific, Warriewood, Australia) y HPLC.

### 6.2. Métodos

#### 6.2.1. Selección de seis genotipos de maíz

Se eligieron 25 genotipos diferentes de maíz, dos de éstos fueron genotipos comerciales y 23 híbridos experimentales, según su perfil de carotenoides y propiedades agronómicas conocidas. Los genotipos comerciales fueron utilizados para el desarrollo de todo el proyecto. Por el lado de los híbridos experimentales, se seleccionaron cuatro de éstos para el desarrollo de tortillas según su perfil único de carotenoides y 20 para la caracterización de sus propiedades visco elásticas (Tabla 1.). Cada línea de maíz se cultivó durante la temporada de cultivo del 2019 y al momento de iniciar el proyecto se mantuvieron almacenados a una temperatura de  $-80^{\circ}\text{C}$ .

**Tabla 1. Genotipos de maíz utilizados**

<b>Genotipo</b>	<b>Selección</b>
1	A
2	A,C
3	B
4	A
5	A
6	B
7	C
8	C
9	C
10	C
11	C
12	C
13	C
14	C
15	C
16	C
17	C
18	C
19	C
20	C
21	C
22	C
23	C
24	C
25	C

A: Híbrido experimental utilizado para elaboración de tortillas y tortillas chips, B: Genotipo comercial y C: Híbrido experimental utilizado para caracterización de propiedades visco elásticas

### **6.2.2. Proceso de elaboración de tortillas y chips de tortilla.**

Se elaboraron tortillas y tortillas chips utilizando seis de los genotipos elegidos en base a su perfil y contenido de carotenoides. Para la nixtamalización del maíz, se ubicaron en un Erlenmeyer 20 g de granos de maíz por cada muestra, para un total de 18 muestras (es decir, 6 genotipos, cada uno por triplicado). Se adicionaron 100 ml de agua destilada y 350 mg de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  en cada Erlenmeyer. Luego, las muestras se sometieron a ebullición a 95°C por 25 minutos, y al culminar este tiempo se dejaron en reposo en

una habitación oscura a temperatura ambiente durante 16 horas. Al finalizar este periodo de tiempo, se realizó un lavado de las muestra dos veces para eliminar los residuos de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  presentes en las muestras. Seguidamente se pasó a la molienda de cada muestra para lograr obtener una masa (nixtamal), se adicionó 10 ml de agua para formar una masa maleable que se aplana y se da forma circular a las tortillas manualmente. Para la cocción del maíz, las tortillas se cocinan en seco en una parrilla a 200 °C por 15 segundos por cada lado. De esta manera se obtienen las tortillas y se dejan en reposo a temperatura ambiente por 15min. Por último, se separan 3 g de muestra para el análisis de carotenoides. La masa nixtalamizada remanente de cada muestra se divide en dos porciones para elaborar las tortillas chips. La primera porción se somete a fritura con aceite de canola y la segunda porción en aceite híbrido de palma. Las tortillas chips se obtuvieron a través de fritura profunda a 180 °C por 25 segundos. Para el análisis de retención de carotenoids durante el procesamiento, se analizó su contenido en el maíz crudo, después de la nixtamalización y en los productos terminados (tortillas, tortillas chips en aceite de canola y tortillas chips en aceite de palma), con el fin de determinar las pérdidas y variación en el perfil de carotenoides en cada una de las etapas del procesamiento.

### **6.2.3. Extracción y análisis de carotenoides**

Por cada genotipo se realizó el análisis completo por triplicado. Todas las muestras de granos de maíz se extrajeron y analizaron bajo condiciones mínimas de exposición a luz con el objetivo de disminuir las reacciones foto-oxidativas, de acuerdo al procedimiento descrito por Ortiz et al., 2019.

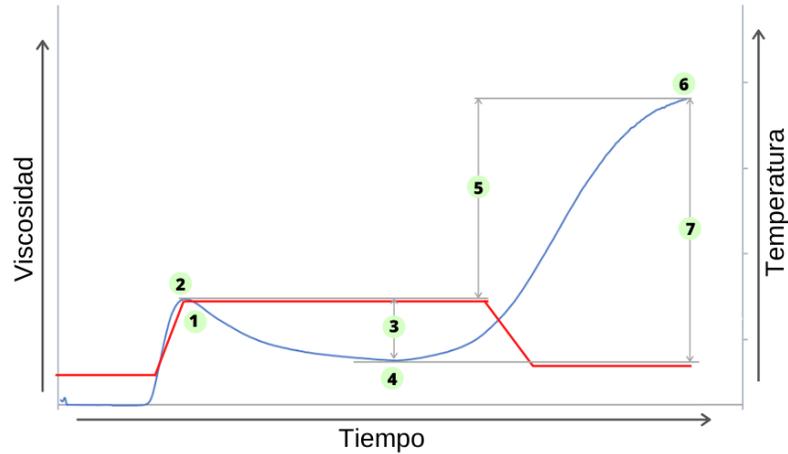
En primer lugar, se pesó 0.6 g de maíz molido por cada muestra. Las extracciones de carotenoides se realizaron por sets de 12 muestras a los cuales se adicionó, de manera aleatoria, 150  $\mu\text{L}$  de spike como estándar interno (150  $\mu\text{M}$  o 30  $\mu\text{M}$   $\beta$ -apo-8 -carotenal en acetona). Seguidamente, cada muestra se hidrató con 1 mL de agua destilada, y los carotenoides se extrajeron con 5 mL de acetona dos veces, seguido de una tercera extracción con 2 mL de metil tert-butil éter. Los extractos se colectaron en tubos de

vidrio y los solventes orgánicos secaron bajo una corriente de nitrógeno en un baño a 37°C. Luego, los extractos se redisolvieron en una solución 1:1 de metanol: acetato de etilo, y filtraron a través de un filtro PTFE 0,45 µM (Macherey-Nagel, Düren, Alemania). Por último, se inyectaron 10µL de cada extracto, donde cada uno se analizó por medio de HPLC utilizando una columna de YMC C30 3 µm 2.0 mm × 150 mm, con una guarda columna YMC (2.0 x 23mm) termostatada a 40 °C. Como perfil de elución de gradiente se utilizó como fase móvil, un sistema binario: Fase A: Metanol: 1M Acetato de Amonio (98:2 v/v) y la Fase B: Acetato de Etilo. Se utilizó un flujo de 0,37 mL/min con condiciones iniciales fijadas en 0 min 80:15 (%v/v), Fase A: Fase B; 6 min 20:80 (%v/v), Fase A: Fase B; 8 min 0:100 (%v/v), Fase A:Fase B; 12 min 0:100 (%v/v), Fase A:Fase B, 14 min 80:15 (%v/v), Fase A:Fase B. Se utilizó un Shimadzu Prominence UFLC, con un detector de arreglo de diodos con una longitud de onda fijada a 450 nm, como se describió anteriormente por Kean, Hamaker, & Ferruzzi, 2008. Los picos se identificaron comparando la información espectral en la literatura (G Britton, Liaaen-Jensen, & Pfander, 2004) y los tiempos de retención con estándares auténticos de *all-trans*-carotenoides. La cuantificación de carotenoides se realizó a través de una curva de calibración de 7 puntos preparada espectrofotométricamente con estándares auténticos en un rango de concentración entre 0,01 y 7,67 µM.

#### **6.2.4. Evaluación de las propiedades visco elásticas (RVA)**

Se eligieron 20 líneas de híbridos experimentales de maíz biofortificado, con mayor desarrollo dentro del laboratorio del Dr. Torbert Rocheford. Se obtuvieron 20 g de granos de maíz para cada genotipo, los cuales se molieron en su totalidad. Seguidamente, se tomó 1 g de cada muestra y se secaron en un horno por 10 horas a 100 °C, al culminar este tiempo se pesó nuevamente cada muestra y se determinó el porcentaje de humedad de cada genotipo. Con base a esto, se calculó la cantida de agua y harina necesaria para preparar suspensiones de 11.86 % (p/v), de acuerdo a lo descrito por Ortiz, Nkhata, Rocheford, & Ferruzzi, 2019. Las suspensiones de maíz se analizaron por medio de un analizador visco elástico rápido (RVA, por sus siglas en inglés) serie RVA-4 (Newport Scientific, Warriewood, Australia). La viscosidad se

registró utilizando el siguiente perfil de temperatura: mantener a 25 °C durante 6 min, calentar de 50 a 95 °C por 4 min, mantener a una temperatura constante de 95 °C durante 6.5 min, y luego enfriar a 25 °C por 5 min con agitación continua a 160 rpm. Se registraron siete parámetros en el viscosoamilograma (Figura 2.)



**Figura 2.** Perfil estándar de RVA, indicando los principales estándares medidos durante el análisis. Definiendo cada estándar: 1) Temperatura de gelificación (TG), 2) Pico máximo de viscosidad (PV), 3) Breakdown (B), 4) Viscosidad mínima (VM), 5) Área de retrogradación (AR), 6) Viscosidad final (VF) y 7) Retrogradación total (RT)

### 6.3. Análisis estadístico

Todos los datos fueron reportados como media  $\pm$  error estándar de la media (SEM) usando triplicados para análisis de carotenoides para Nixtamal, tortillas y tortillas chips, y duplicado para los granos. Para el análisis estadístico se obtuvieron las diferencias significativas (ANOVA) por medio del software JMP®, versión 12 (SAS Institute Inc., Cary, NC) y se utilizó el Test de Tukey como método de comparación (Gráfica 1). En el primer estudio se realizó un análisis de varianza de un factor (ANOVA). Seguidamente, se utilizó el Test de Tukey como método de comparación. Durante este se evaluó el impacto del genotipo en la estabilidad de los carotenoides. En el segundo estudio, se realizó un análisis de varianza de dos factores totalmente aleatorio (ANOVA). Seguidamente para comparar las medias se utilizó el Test de

Tukey como método de comparación. Durante este se evaluó el impacto del genotipo y el tipo de tratamiento en la estabilidad de los carotenoides.

**Gráfica 1.** Diseño experimental

Tratamiento	Genotipo					
	1	2	3*	4	5	6*
Granos	n = 2	n = 2	n = 2	n = 2	n = 2	n = 2
Nixtamal	n = 3	n = 3	n = 3	n = 3	n = 3	n = 3
Tortilla	n = 3	n = 3	n = 3	n = 3	n = 3	n = 3
Chips-Canola	n = 3	n = 3	n = 3	n = 3	n = 3	n = 3
Chips-Palma	n = 3	n = 3	n = 3	n = 3	n = 3	n = 3

n = al número de muestras tomadas

## 7.RESULTADOS

### 7.1. Evaluación del perfil de carotenoides en seis genotipos seleccionados de maíz.

Se utilizaron dos líneas comerciales de maíz, las cuales contenían en promedio 20.2 µg/g de carotenoides totales. Por otro lado, se utilizaron cuatro híbridos experimentales de maíz, los cuales contenían un promedio de  $51.7 \pm 7.6$  µg/g de carotenoides totales. El genotipo #2 es el genotipo con mayor contenido de carotenoides totales (62.8 µg/g). Adicionalmente, este genotipo cuenta con el nivel más alto de zeaxantina con cerca de 36.2 µg/g (Tabla 2.). Las xantófilas son los carotenoides más predominantes en todos los genotipos de maíz; sin embargo, los híbridos experimentales de maíz contienen cerca de tres veces más xantófilas que las variedades comerciales.

**Tabla 2.** Contenido de carotenoides ( $\mu\text{g/g}$ ) en genotipos seleccionados

Carotenoides	Genotipo					
	1	2	3*	4	5	6*
Luteína	23.8 $\pm$ 0.1b	15.6 $\pm$ 0.2c	3.3 $\pm$ 1.1d	29.0 $\pm$ 1.4a	11.8 $\pm$ 0.6c	13.1 $\pm$ 0.1c
Zeaxantina	16.9 $\pm$ 0.5a	36.2 $\pm$ 0.1b	7.1 $\pm$ 4.8b	10.3 $\pm$ 0.3b	30.5 $\pm$ 1.5a	6.8 $\pm$ 0.0b
$\alpha$ -criptoxantina	1.6 $\pm$ 0.0a	0.8 $\pm$ 0.2a	4.1 $\pm$ 3.9b	2.2 $\pm$ 0.1a	0.7 $\pm$ 0.1a	1.1 $\pm$ 0.2a
$\beta$ -criptoxantina	0.7 $\pm$ 0.0b	1.8 $\pm$ 0.0a	0.4 $\pm$ 0.4b	0.5 $\pm$ 0.0b	1.7 $\pm$ 0.1a	0.4 $\pm$ 0.1b
15-cis- $\beta$ -caroteno	0.4 $\pm$ 0.0a	0.9 $\pm$ 0.0a	0.6 $\pm$ 0.5a	0.3 $\pm$ 0.0a	0.8 $\pm$ 0.0a	0.3 $\pm$ 0.0a
13-cis- $\beta$ -caroteno	0.9 $\pm$ 0.0b	1.3 $\pm$ 0.0a	0.2 $\pm$ 0.1e	0.6 $\pm$ 0.0cd	0.8 $\pm$ 0.0bc	0.4 $\pm$ 0.0de
$\alpha$ -caroteno	0.4 $\pm$ 0.0a	0.4 $\pm$ 0.0a	0.1 $\pm$ 0.0b	0.4 $\pm$ 0.0a	0.3 $\pm$ 0.0a	0.3 $\pm$ 0.1a
$\beta$ -caroteno	3.5 $\pm$ 0.0b	5.8 $\pm$ 0.0a	0.4 $\pm$ 0.0e	2.4 $\pm$ 0.0c	3.6 $\pm$ 0.1b	1.2 $\pm$ 0.1d
Xantofilas	43.1 $\pm$ 0.4a	54.4 $\pm$ 0.3a	15 $\pm$ 7.9b	42.0 $\pm$ 1.8a	44.7 $\pm$ 2.0a	21.4 $\pm$ 0.5b
Carotenos	5.2 $\pm$ 0.1b	8.4 $\pm$ 0.1a	1.8 $\pm$ 1.2c	3.6 $\pm$ 0.0bc	5.5 $\pm$ 0.1b	2.1 $\pm$ 0.2c
pVAC	5.5 $\pm$ 0.0a	8.4 $\pm$ 0.1a	3.4 $\pm$ 2.8a	4.4 $\pm$ 0.1a	5.7 $\pm$ 0.1a	2.4 $\pm$ 0.3a
Carotenoides Totales	48.2 $\pm$ 0.4a	62.8 $\pm$ 0.4a	16.8 $\pm$ 9.2c	45.6 $\pm$ 1.8ab	50.2 $\pm$ 2.2a	23.5 $\pm$ 0.7bc

Diferentes letras entre columnas indica una diferencia significativa según el test de Tukey ( $P < 0.05$ ).  
Los datos representan las medias  $\pm$  SEM de  $n = 2$  observaciones independientes.

\*Genotipos comerciales

## 7.2. Evaluación de la retención de carotenoides durante la elaboración de tortillas y chips de tortilla.

La estabilidad de los carotenoides se evaluó en las diferentes etapas de procesamiento de maíz para la elaboración de tortillas y tortillas chips. En la primera etapa, la nixtamalización, se observó de forma general que no hay una diferencia estadísticamente significativa en la concentración de carotenoides totales ( $p < 0.001$ ) en comparación con la concentración inicial de los granos; adicionalmente, se encuentra una retención promedio entre los genotipos utilizados (exceptuando el genotipo 3 y 4) de los carotenoides totales de 73%. Sin embargo, en la etapa de cocción, si se observó que tuvo un efecto significativo en la retención de carotenoides. En la cocción en seco de las tortillas, hubo una retención de carotenoides totales cerca del 42%. En la cocción por fritura de las tortillas para la obtención de las tortillas chips, hubo una retención de

carotenoides totales cerca del 43% para tortillas chips freidos en aceite de canola y 80% para tortillas chips freidos en aceite híbrido de palma. Por otro lado, se observo que en relación al contenido de xantofilas, durante la nixtamalización, se observó de forma general que no hay una diferencia estadísticamente significativa en la concentración de xantofilas ( $p < 0.001$ ) en comparación con la concentración inicial de los granos; adicionalmente, se encuentra una retención promedio entre los genotipos utilizados (exceptuando el genotipo 3 y 4) de las xantofilas de 72% mostrando una retención similar a la obtenida en los carotenoides totales.

En la elaboración de los tortillas chips, se encontró que al realizar la comparación entre el uso de aceite de canola y aceite híbrido de palma para la obtención de tortillas chips, los contenidos de carotenoides totales fueron dos veces más altos en las tortillas chips freidas en aceite de palma versus las tortillas chips freidas en aceite de canola. Las diferencias observadas se deben principalmente al aporte de carotenoides pVAC del aceite de palma; sin embargo se observo que durante el proceso de fritura hubo una perdida de pVAC en este aceite, debido a que se conto con una concentración inicial de 160  $\mu\text{g/ml}$  y se obtuvo una concentración final (después de fritura) de 74  $\mu\text{g/g}$ , presentando perdidas de pVAC de 46% en el aceite híbrido de palma después ser sometido a fritura. Esta perdida de pVAC en el aceite se ve reflejada tanto en el proceso de degradación por oxidación de los carotenos, como en la adición que se logro encontrar en las tortillas chips freidas en este tipo de aceite, pues sus niveles de pVAC incrementaron nueve veces a las concentraciones de los granos utilizados.

Comparando los contenidos de carotenoides entre los híbridos experimentales y comerciales en los productos finales, se encontró que la concentración de carotenoides totales en tortillas preparadas con los híbridos experimentales (genotipos 1, 2, 4 y 5) estuvo en un rango entre 19.1  $\mu\text{g/g}$  – 25.2  $\mu\text{g/g}$ , mientras que para las variedades comerciales (genotipos 3 y 6) las concentraciones de carotenoides totales variaron en un rango más estrecho entre 8.3  $\mu\text{g/g}$  (Tabla 3.). En el caso de las xantófilas, si bien se observó una pérdida cerca de 59% después de la cocción en seco, los híbridos

experimentales contienen aproximadamente tres veces más concentración de xantófilas en comparación con los genotipos comerciales, y dicha relación se mantiene a lo largo de los diferentes pasos de procesamiento. Es decir, el contenido de xantófilas en tortillas preparadas con genotipos experimentales versus genotipos comerciales fue en promedio de 21.6 µg/g y 7.0 µg/g, respectivamente. En el caso de las tortillas chips elaboradas a partir de híbridos experimentales y que fueron freidas en aceite de canola mostraron una concentración de carotenos promedio de 2.1 µg/g y 0.6 µg/g aquellas elaboradas a partir de los híbridos comerciales; mientras que las tortillas chips que fueron tratadas con aceite híbrido de palma, presentaron una concentración promedio de 13.2 µg/g en los híbridos experimentales y 11.8 µg/g en los híbridos comerciales (Tabla 3.).

**Tabla 3.** Contenido de carotenoides (µg/g) durante la elaboración de tortillas chips

Tratamiento	Genotipo					
	1	2	3*	4	5	6*
<i>Luteína</i>						
Granos	23.8 ± 0.1	15.6 ± 0.2	3.3 ± 1.1	29.0 ± 1.4	11.8 ± 0.6	13.1 ± 0.1
Nixtamal	18.5 ± 0.5	15.1 ± 1.0	9.8 ± 0.4	17.6 ± 1.8	8.7 ± 0.2	8.6 ± 0.5
Tortilla	9.6 ± 0.1	7.8 ± 0.5	4.4 ± 0.3	11.2 ± 0.4	6.2 ± 0.5	3.9 ± 0.1
Chips-Canola	13.2 ± 0.9	9.2 ± 0.2	4.8 ± 0.3	11.1 ± 0.5	5.9 ± 0.3	4.0 ± 0.1
Chips-Palma	12.2 ± 0.3	8.7 ± 0.5	5.2 ± 0.2	13 ± 0.7	5.9 ± 0.3	4.1 ± 0.1
<i>Zeaxantina</i>						
Granos	16.9 ± 0.5	36.2 ± 0.1	7.1 ± 4.8	10.3 ± 0.3	30.5 ± 1.5	6.8 ± 0.0
Nixtamal	12.7 ± 0.5	24.5 ± 0.6	5.2 ± 0.3	29.6 ± 2.8	20.2 ± 0.5	4.1 ± 0.3
Tortilla	6.4 ± 0.2	11.9 ± 0.5	2.3 ± 0.2	4.7 ± 0.2	14.6 ± 1.2	2.4 ± 0.3
Chips-Canola	7.1 ± 0.1	13.5 ± 0.5	2.0 ± 0.1	3.8 ± 0.2	13.0 ± 0.5	1.7 ± 0.1
Chips-Palma	7.4 ± 0.3	13.8 ± 0.7	2.4 ± 0.0	5.6 ± 0.1	14.4 ± 0.8	2.0 ± 0.2
<i>Xantofilas</i>						
Granos	43.1 ± 0.4	54.4 ± 0.3	15 ± 7.9	42.0 ± 1.8	44.7 ± 2.0	21.4 ± 0.5
Nixtamal	32.9 ± 0.9	41.8 ± 1.6	16.1 ± 0.7	49.8 ± 4.8	30.9 ± 0.6	13.9 ± 0.8

Tortilla	17.1 ± 0.2	21.1 ± 1.0	7.1 ± 0.5	17.1 ± 0.8	22.1 ± 1.8	6.9 ± 0.2
Chips-Canola	21.4 ± 0.9	23.7 ± 0.7	7.1 ± 0.5	15.5 ± 0.7	19.8 ± 0.8	6.1 ± 0.2
Chips-Palma	20.6 ± 0.6	23.6 ± 1.1	8.1 ± 0.2	20.8 ± 0.9	21.4 ± 1.1	6.8 ± 0.4
<i>Carotenos</i>						
Granos	5.2 ± 0.1	8.4 ± 0.1	1.8 ± 1.2	3.6 ± 0.0	5.5 ± 0.1	2.1 ± 0.2
Nixtamal	4.4 ± 0.2	6.6 ± 0.9	2.1 ± 0.1	6.4 ± 1.5	4.9 ± 0.1	1.9 ± 0.2
Tortilla	2.2 ± 0.1	3.3 ± 0.1	1.1 ± 0.1	2.0 ± 0.1	3.1 ± 0.2	1.5 ± 0.1
Chips-Canola	2.3 ± 0.1	2.9 ± 0.0	0.6 ± 0.0	1.3 ± 0.2	1.9 ± 0.0	0.5 ± 0.0
Chips-Palma	21.1 ± 1.4	18.9 ± 0.8	14.5 ± 1.9	16.8 ± 1.3	19.8 ± 1.0	21.1 ± 2.7
<i>pVAC</i>						
Granos	5.5 ± 0.0	8.4 ± 0.1	3.4 ± 2.8	4.4 ± 0.1	5.7 ± 0.1	2.4 ± 0.3
Nixtamal	4.4 ± 0.1	6.7 ± 1.0	2.1 ± 0.0	6.5 ± 1.5	4.6 ± 0.0	2.0 ± 0.2
Tortilla	2.2 ± 0.0	3.3 ± 0.1	1.0 ± 0.1	2.1 ± 0.1	3.0 ± 0.2	1.2 ± 0.1
Chips-Canola	2.4 ± 0.1	2.9 ± 0.0	0.6 ± 0.0	1.3 ± 0.1	1.9 ± 0.0	0.6 ± 0.0
Chips-Palma	14.2 ± 0.9	13.1 ± 0.5	9.7 ± 1.2	12 ± 0.8	13.6 ± 0.6	13.9 ± 1.6
<i>Carotenoides Totales</i>						
Granos	48.2 ± 0.4	62.8 ± 0.4	16.8 ± 9.2	45.6 ± 1.8	50.2 ± 2.2	23.5 ± 0.7
Nixtamal	37.2 ± 1.0	48.4 ± 2.5	18.3 ± 0.7	56.2 ± 5.2	35.7 ± 0.7	15.7 ± 1.0
Tortilla	19.3 ± 0.3	24.3 ± 1.1	8.3 ± 0.6	19.1 ± 0.8	25.2 ± 2.0	8.4 ± 0.3
Chips-Canola	23.7 ± 0.9	26.5 ± 0.7	7.7 ± 0.5	16.7 ± 0.8	21.7 ± 0.9	6.6 ± 0.2
Chips-Palma	41.6 ± 1.0	42.5 ± 1.4	22.7 ± 2.0	37.6 ± 1.9	41.2 ± 0.4	27.9 ± 2.8

Los datos representan las medias ± SEM de n=3 observaciones independientes.

\*Genotipos comerciales

Adicionalmente, se realizaron los cálculos respectivos para conocer el potencial aporte de carotenoides al consumir una porción de tortillas y tortillas chips (Tabla 4.). Se observó que el contenido de carotenoides totales de las tortillas y tortillas chips freidos en aceite de canola y preparados con maíz biofortificado es tres veces más alto que las tortillas a base de maíz comercial, debido a un aporte superior de xantófilas. Por otro lado, se observó que una porción de las tortillas chips freidas en aceite híbrido de palma

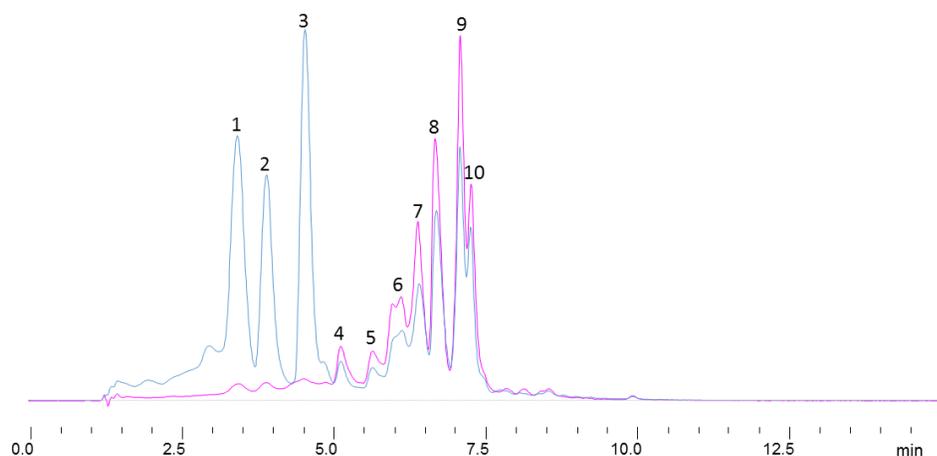
proveen cerca de 2 veces más carotenoides provitamina A con respecto a los genotipos comerciales y los chips de tortilla freídos en aceite de canola.

**Tabla 4.** Contenido de carotenoides en una porción de tortilla o tortillas chips para adultos.

Tratamiento	Comerciales			Híbridos		
	µg/g	mg/100g	mg/50g	µg/g	mg/100g	mg/50g
<i>Luteína</i>						
Tortilla	4.2	0.4	0.2	8.7	0.9	0.4
Chips-Canola	4.4	0.4	0.2	9.9	1.0	0.5
Chips-Palma	4.7	0.5	0.2	10.0	1.0	0.5
<i>Zeaxantina</i>						
Tortilla	2.4	0.2	0.1	9.4	0.9	0.5
Chips-Canola	1.9	0.2	0.1	9.4	0.9	0.5
Chips-Palma	2.2	0.2	0.1	10.3	1.0	0.5
<i>Xantofilas</i>						
Tortilla	7.0	0.7	0.4	19.4	1.9	1.0
Chips-Canola	6.6	0.7	0.3	20.1	2.0	1.0
Chips-Palma	7.5	0.7	0.4	21.6	2.2	1.1
<i>pVAC</i>						
Tortilla	1.1	0.1	0.1	2.7	0.3	0.1
Chips-Canola	0.6	0.1	0.0	2.1	0.2	0.1
Chips-Palma	17.8	1.8	0.9	19.2	1.9	1.0
<i>Carotenoides totales</i>						
Tortilla	8.4	0.8	0.4	22.0	2.2	1.1
Chips-Canola	7.2	0.7	0.4	22.2	2.2	1.1
Chips-Palma	25.3	2.5	1.3	40.7	4.1	2.0

Una observación adicional en el estudio fue en la saponificación de los extractos de carotenoides de productos freídos de maíz. En términos metodológicos se observó que al momento de realizar la extracción de carotenoides, fue necesario usar dos

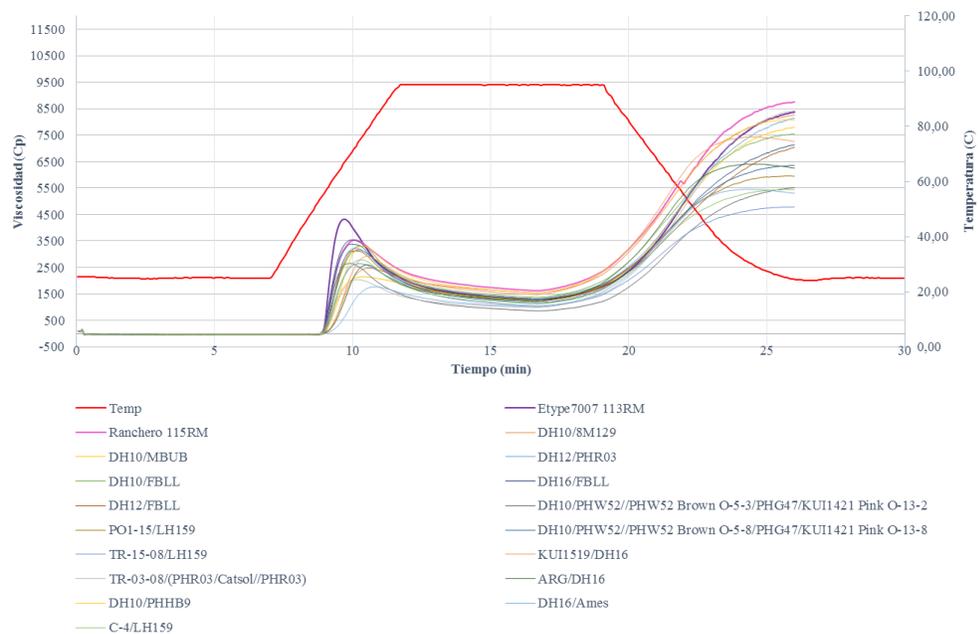
metodologías diferentes. Al inicio de la extracción se planteó una extracción de los carotenoides con saponificación siguiendo la metodología reportada por Kimura, Rodriguez-Amaya, & Godoy, (1990); sin embargo se observó una pérdida de los carotenoides polares, es decir las xantofilas, en un 91%. Por lo cual fue necesario implementar como metodología una extracción sin saponificación con el fin de evitar la pérdida de estos carotenoides, como se describe por Ortiz et al., 2019. La diferencia obtenida con cada metodología se pudo observar en el cromatograma presentado en la Figura 3, donde se presenta una alta pérdida en los carotenoides polares y una disminución leve en los carotenoides no polares.



**Figura 3.** Cromatograma con saponificación (Color rosado) vs cromatograma sin saponificación (Color azul).  $\lambda = 450\text{nm}$ . Definiendo cada pico como: 1) Luteína, 2) Zeaxantina, 3)  $\beta$ -apo-8'-carotenal, 4)  $\alpha$ -criptoxantina, 5)  $\beta$ -criptoxantina, 6) 15-cis- $\beta$ -caroteno, 7) 13-cis- $\beta$ -caroteno, 8)  $\alpha$ -caroteno, 9)  $\beta$ -caroteno, y 10) 9-cis- $\beta$ -caroteno

### 7.3. Caracterizar las propiedades visco elásticas de líneas de maíz biofortificado

Para desarrollar este objetivo se hizo uso del (RVA, por sus siglas en inglés) como una herramienta analítica para examinar las propiedades de visco elásticas de los genotipos de maíz seleccionados. Se tomó como valores de estándares para la obtención de nixtamal y tortillas de alto rendimiento y buena calidad, los resultados reportados previamente por Vázquez-Carrillo y Santiago-Ramos 2019: PV 2563-4689 cP, VM 1403-2832 cP, Viscosidad Final 3450-6222 cP, B 502-2538 cP, y RT 1685-3539 cP. Con base en eso, se observó que el 61% de los genotipos seleccionados cumplen con los valores de pico máximo de viscosidad, el 27% de los genotipos cumplen con los valores de viscosidad mínima, el 50% cumplen con los valores de Breakdown y únicamente 17% con la viscosidad final; sin embargo, solo 2 de los genotipos seleccionados cumple tanto con la viscosidad máxima y final, donde estos genotipos son de maíz biofortificado (Figura 4. y Tabla 5.).



**Figura 4.** RVA, curva de viscosidad de híbridos de maíz naranja vs. Genotipos comerciales

**Tabla 5.** Resumen de las propiedades visco elásticas en líneas de maíz biofortificado

	<b>PV</b>	<b>VM</b>	<b>B</b>	<b>VF</b>	<b>AR</b>	<b>TG</b>
<b>2</b>	2180 ± 133	1110 ± 106	2216 ± 133	6055 ± 1008	6092 ± 1002	75 ± 0.3
<b>3</b>	4209 ± 82	1266 ± 19	4249 ± 86	7820 ± 352	7860 ± 354	74 ± 0.4
<b>6</b>	3765 ± 154	1388 ± 138	3798 ± 156	7687 ± 627	7720 ± 630	73 ± 0.5
<b>7</b>	2688 ± 135	1461 ± 51	2734 ± 131	7969 ± 176	8016 ± 178	75 ± 0.4
<b>8</b>	2796 ± 221	1547 ± 103	2836 ± 223	8482 ± 553	8522 ± 549	75 ± 0.8
<b>9</b>	3324 ± 27	1536 ± 50	3359 ± 36	8071 ± 248	8107 ± 256	74 ± 0.1
<b>10</b>	2652 ± 52	1319 ± 16	2699 ± 52	8138 ± 61	8185 ± 61	75 ± 0.8
<b>10</b>	3132 ± 60	1233 ± 18	3175 ± 63	7046 ± 224	7089 ± 222	75 ± 0.1
<b>12</b>	1778 ± 108	1019 ± 69	1815 ± 117	5306 ± 344	5343 ± 353	76 ± 0.0
<b>13</b>	2942 ± 353	1484 ± 118	2977 ± 353	8316 ± 707	8353 ± 708	75 ± 0.6
<b>14</b>	2932 ± 360	1471 ± 161	2968 ± 353	7264 ± 892	7300 ± 885	76 ± 0.7
<b>15</b>	1922 ± 52	1226 ± 30	1962 ± 57	7264 ± 102	7304 ± 107	77 ± 0.3
<b>16</b>	2285 ± 230	1406 ± 46	2333 ± 229	9226 ± 188	9275 ± 189	75 ± 0.5
<b>17</b>	2078 ± 293	1168 ± 95	2107 ± 292	8366 ± 598	8402 ± 606	75 ± 1.3
<b>18</b>	1616 ± 47	1310 ± 21	1637 ± 45	8219 ± 292	8239 ± 289	77 ± 0.3
<b>19</b>	1648 ± 302	1267 ± 92	1692 ± 323	8432 ± 1188	8477 ± 1207	76 ± 0.8
<b>20</b>	1743 ± 25	1461 ± 122	1790 ± 5	8262 ± 274	8308 ± 253	80 ± 0.6
<b>21</b>	2372 ± 48	1618 ± 92	2426 ± 38	9736 ± 280	9790 ± 270	76 ± 0.3
<b>22</b>	3325 ± 21	1249 ± 25	3364 ± 7	5953 ± 71	5992 ± 57	73 ± 0.0
<b>23</b>	3217 ± 284	1045 ± 56	3249 ± 291	4788 ± 231	4820 ± 238	73 ± 0.0
<b>24</b>	2602 ± 114	1229 ± 0.5	2638 ± 117	6259 ± 36	6294 ± 38	75 ± 1.3
<b>25</b>	2795 ± 7.0	1126 ± 5.0	2837 ± 2.0	5448 ± 110	5491 ± 115	74 ± 0.1

TG: Temperatura de gelificación, PV: Pico máximo de viscosidad, B: Breakdown, VM: Viscosidad mínima, AR: Área de retrogradación, VF: Viscosidad final

## 8.DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Este estudio tuvo como propósito caracterizar el impacto del proceso de elaboración de tortillas y chips de tortilla en la estabilidad de carotenoides utilizando genotipos comerciales y en híbridos biofortificados de maíz. Para cumplir con este propósito se

plantearon tres objetivos específicos. Para el primer objetivo, se evaluó el perfil de carotenoides en cuatro genotipos seleccionados de maíz biofortificado, los cuales fueron elegidos según su perfil de carotenoides (Tabla 2.). De aquí se pudo observar que los híbridos experimentales tienen cerca de tres veces más contenido de xantofilas que las variedades comerciales, resultado que coincide con lo reportado anteriormente por Ortiz, (2017); Ortiz et al., (2019); Venado et al., (2017)

Para el segundo objetivo, se evaluó la retención de carotenoides durante la elaboración de tortillas y chips de tortilla. Como se ha reportado anteriormente los carotenoides son susceptibles a degradación al ser sometidos a procesos térmicos (Failla et al., 2012; Zhang, et al., 2020), lo cual se pudo observar en la etapa de cocción en seco (etapa final para la obtención de tortillas) donde se obtuvieron una retención de carotenoides totales cerca del 42% en los híbridos experimentales y 39% en los genotipos comerciales (Tabla 3.). Sin embargo, en contraste con otros estudios, las retención observadas en el presente estudio se encuentran dos veces por debajo a las reportadas por Zhang, et al., 2020, quienes reportaron retenciones del 78% en el proceso de elaboración de tortillas tradicionales con maíz biofortificado. Estas diferencias en la degradación de carotenoides pueden estar asociadas a diferencias durante el procesamiento para ambos estudios como también diferencias en los tipos de maíz evaluados. Dentro de las diferencias que pudieron influir en la degradación encontramos en primer lugar las ocasionadas por el procesamiento, dentro de estas se encuentra que el tiempo de remojo de las muestras en  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  menor al realizado durante este proyecto, al igual que el tiempo de ebullición inicial de la muestra; y en segundo lugar se encuentra el tipo de maíz utilizado, dado que se reportan contenidos mayores de carotenoides en el estudio realizado por Zhang, et al., 2020, adicionalmente, se presentan condiciones geográficas diferentes en todo el proceso de siembra y cosecha. Lo siguiente sugiere que tanto factores asociados a la matriz como su procesamiento inciden sustancialmente en la retención de los carotenoides en productos alimenticios listos para el consumidor.

Una observación adicional para destacar es el efecto del tipo de aceite sobre el contenido final de carotenoides en las tortillas chips. Este tratamiento se realizó con

dos tipos de aceites diferentes (aceite de canola y aceite híbrido de palma). Al comparar el contenido de carotenoides para ambos chips, se encontró que las tortillas de maíz de los híbridos experimentales freidas en aceite híbrido de palma presentaron una “menor pérdida” con respecto al maíz crudo, es decir, 20% para carotenoides totales y 53% para xantófilas versus 57% para carotenoides totales y en 56% xantofilas de pérdidas de carotenoides en las tortillas chips freidas en aceite de canola (Tabla 3.). Dicha discrepancia en la retención de carotenoides se debe a que el aceite de palma *per se* contenía cerca de 160 µg de carotenoides totales/ml. En otras palabras, lo que se observó fue un incremento del contenido de carotenoides totales en los chips freidos en aceite de palma, posiblemente carotenos provenientes del mismo aceite de palma.

Sin embargo, a pesar de las pérdidas obtenidas durante el procesamiento, es importante señalar que una porción de tortillas y tortillas chips para un adulto promedio es de 50 g. Así que, una porción de tortillas y tortillas chips en aceite de canola aportaría ~1,1 mg de carotenoides totales. Por su parte, los tortillas chips en aceite de palma aportarían ~2,0 mg de carotenoides totales (Tabla 3.). Para cumplir con las recomendaciones sugeridas en estudios clínicos para la prevención de enfermedades como Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedades cardiovasculares, diabetes, cancer y degeneración macular relacionada con la edad, se requeriría una ingesta entre ~3–6 mg/día de carotenoides (Institute of Medicine, 2000). Lo cual sugiere que consumir alrededor de tres porciones al día de tortillas o tortillas chip freidas en aceite de canola podría cumplir dicha recomendación mínima para ver un posible efecto en salud. Si se consumiera tortillas chips freidos en aceite de palma sería necesario únicamente dos porciones al día para cumplir esta recomendación mínima (Tabla 4.). Si bien estos resultados suenan prometedores desde la perspectiva de asegurar y promover una ingesta adecuada de carotenoides diaria, sería necesario considerar otros factores como su biodisponibilidad y seguridad de su consumo diario por el consumidor.

Finalmente, para el último objetivo, se planteó caracterizar las propiedades viscoelásticas de veinte genotipos de maíz biofortificado. Aunque al comienzo del estudio

se buscaba generar el desarrollo de un modelo matemático, para lograr establecer una gama de valores de los parámetros RVA que permitirían predecir la dureza del maíz en nuestras líneas de maíz y los atributos de calidad de la masa y la tortilla; sin embargo, para cumplir con el desarrollo del modelo matemático se requería la evaluación de las propiedades físico-químicas del grano como el índice de flotación, el contenido total de proteínas, almidón y lípidos, la relación entre amilosa/amilopectina y las curvas de viscosidad. Actividades que requerirían más tiempo para completer, por tanto solo fue posible solo obtener las curvas de viscosidad. Razón por la cual se hizo un breve escaneo de los híbridos experimentales con mayor contenido de carotenoides, donde se observó que el 61% de los genotipos seleccionados cumplen con los valores de viscosidad máxima (Tabla 5.), parámetro que define la mayor viscosidad alcanzada durante el calentamiento, este se alcanza al final del estado máximo de hinchazón de los gránulos de almidón; lo cual en la industria alimentaria se define como un mayor rendimiento en el proceso de elaboración de tortillas debido a su capacidad de absorción de agua (Almeida-Dominguez, Suhendro, & Rooney, 1997). Adicionalmente el 17% de los híbridos experimentales cumplen con el rango viscosidad final donde se demostró que los genotipos que alcanzan estos valores tienen una mayor elongación en tortillas (Vázquez-Carrillo & Santiago-Ramos, 2019). Sin embargo, al cruzar la variable de viscosidad final y el pico de viscosidad máxima, se obtuvo que únicamente dos híbridos experimentales cumplían con estos valores, lo cual sugiere que este par de híbridos serían los que mayor rendimiento y elongación tendrían en la elaboración de tortillas. Lo cual sugiere que cumpliría con los parámetros de calidad que se buscan a nivel industrial, debido que al haber un mayor rendimiento del nixtamal se genera una reducción de costos al momento de la producción de tortillas, y por otro lado, al tener una enlongación adecuada, se cumple con las características sensoriales que buscan los consumidores de este tipo de productos.

## 9.CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio mostraron que las líneas de maíz biofortificado tienen una retención de carotenoides similar a los genotipos comerciales tanto en tortillas como en tortillas chips, sin embargo, cuentan con un contenido tres veces mayor de xantofilas; lo cual muestra una mejora del perfil nutricional de estos productos a base de maíz.

Se encontró que una porción 50 g de tortillas o tortillas chips cubre el 37% de la recomendación mínima de consumo de carotenoides diarios para un posible efecto en salud. Sin embargo si se hace uso del aceite híbrido de palma durante la fritura de los tortillas chips una porción de esta lograría cubrir 67% de la recomendación mínima, mostrando de tal manera el potencial que tendría este producto en el área de la salud.

Adicionalmente se cree que se han desarrollado líneas de híbridos de maíz que poseen una viabilidad a nivel industrial, sin embargo es necesario el desarrollo de todo el modelo matemático con el fin de determinar efectivamente su viabilidad.

## 10.RECOMENDACIONES

Para estudios posteriores se recomienda realizar un estudio que describa el impacto del uso de  $\text{Ca(OH)}_2$  en diferentes concentraciones al momento de realizar la nixtamalización, debido a que se cree que este compuesto podría llegar a afectar la biodisponibilidad de los carotenoides, dada la interacción de nutrientes que se puede llegar a presentar. Adicionalmente, se sugiere realizar un modelo de bioaccesibilidad *in vitro* para estos productos, con el fin de conocer la absorción de los carotenoides y las pérdidas que se tienen durante el proceso digestivo. Valdría la pena incluir tratamientos térmicos a diferentes temperaturas para los productos o fritura al vacío para determinar el impacto.

## 11.REFERENCIAS

- Almeida-Dominguez, H. D., Suhendro, E. L., & Rooney, L. W. (1997). Factors Affecting Rapid Visco Analyser Curves for the Determination of Maize Kernel Hardness. *Journal of Cereal Science*, 25(1), 93–102. <https://doi.org/10.1006/jcrs.1996.0072>
- Ata Ximello, L. E., & Bravo González, L. A. (2015). Fritura profunda. *Boletín Científico de Las Ciencias Económico Administrativas Del ICEA*, 4(7). <https://doi.org/10.29057/icea.v4i7.204>
- Badui, S. (2006). *Química de los alimentos* (4th ed.; P. Educación, Ed.).
- Bohn, T. (2017). Carotenoids, chronic disease prevention and dietary recommendations. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 87(3–4), 121–130. <https://doi.org/10.1024/0300-9831/a000525>
- Britton, G, Liaaen-Jensen, S., & Pfander, H. (2004). *Carotenoids* (George Britton, S. Liaaen-Jensen, & H. Pfander, Eds.). <https://doi.org/10.1007/978-3-0348-7836-4>
- Chitchumroonchokchai, C., Diretto, G., Parisi, B., Giuliano, G., & Failla, M. L. (2017). *Potential of golden potatoes to improve vitamin A and vitamin E status in developing countries*. 1–14.
- Christen, W. G. (2008). Dietary Carotenoids, Vitamins C and E, and Risk of Cataract in Women. *Archives of Ophthalmology*, 126(1), 102. <https://doi.org/10.1001/archophth.126.1.102>
- Corrales-Bañuelos, A. B., Cuevas-Rodríguez, E. O., Gutiérrez-Urbe, J. A., Milán-Noris, E. M., Reyes-Moreno, C., Milán-Carrillo, J., & Mora-Rochín, S. (2016). Carotenoid composition and antioxidant activity of tortillas elaborated from pigmented maize landrace by traditional nixtamalization or lime cooking extrusion process. *Journal of Cereal Science*, 69, 64–70. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2016.02.009>
- De Moura, F. F., Miloff, A., & Boy, E. (2015). Retention of Provitamin A Carotenoids in Staple Crops Targeted for Biofortification in Africa: Cassava, Maize and Sweet Potato. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(9), 1246–1269.

- <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.724477>
- Escott-Stump, S., Mahan, K., & Raymond, J. (2013). Krause Dietoterapia. In *Elsevier* (13th ed., Vol. 1).
- Failla, M. L., Chitchumroonchokchai, C., Siritunga, D., Moura, F. F. De, Fregene, M., Manary, M. J., & Sayre, R. T. (2012). *Retention during Processing and Bioaccessibility of  $\beta$ -Carotene in High  $\beta$ -Carotene Transgenic Cassava Root*. <https://doi.org/10.1021/jf204958w>
- Fajnkuchen, F., Achebouche, K., Giraud, C., Girmens, J. F., Nghiem-Bufferet, S., Nataf-Herzhaft, I., & Chaine, G. (2002). Catarata. *EMC - Tratado de Medicina*, 6(4), 1–4. [https://doi.org/10.1016/S1636-5410\(02\)70235-3](https://doi.org/10.1016/S1636-5410(02)70235-3)
- FAO, O. para la A. y la A. de las N. U. (2017). FAOSTAT. Retrieved from <http://www.fao.org/faostat/es/?#data/FBS>
- Fiedor, J., & Burda, K. (2014). Potential Role of Carotenoids as Antioxidants in Human Health and Disease. *Nutrients*, 6(2), 466–488. <https://doi.org/10.3390/nu6020466>
- Garcia-Casal, M. N., Peña-Rosas, J. P., & Giyose, B. (2017). Staple crops biofortified with increased vitamins and minerals: considerations for a public health strategy. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1390(1), 3–13. <https://doi.org/10.1111/nyas.13293>
- Gwirtz, J. A., & Garcia-casal, M. N. (2014). *Processing maize flour and corn meal food products*. 1312, 66–75. <https://doi.org/10.1111/nyas.12299>
- Hamer, M., & Chida, Y. (2007). Intake of fruit, vegetables, and antioxidants and risk of type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis. *Journal of Hypertension*, 25(12), 2361–2369. <https://doi.org/10.1097/HJH.0b013e3282efc214>
- Institute of Medicine. (2000). *DRI Dietary reference intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids* [Book]. Washington, D.C.: National Academy Press.
- IUPAC. (1974). *Nomenclature of carotenoids*.
- Johnson, E. J. (2012). A possible role for lutein and zeaxanthin in cognitive function in the elderly. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 96(5), 1161S-1165S. <https://doi.org/10.3945/ajcn.112.034611>
- Johnson, E. J., Mcdonald, K., Caldarella, S. M., Chung, H., Troen, A. M., & Snodderly,

- D. M. (2008). Cognitive findings of an exploratory trial of docosahexaenoic acid and lutein supplementation in older women. *Nutritional Neuroscience*, *11*(2), 75–83. <https://doi.org/10.1179/147683008X301450>
- Johnson, E. J., Vishwanathan, R., Johnson, M. A., Hausman, D. B., Davey, A., Scott, T. M., ... Poon, L. W. (2013). Relationship between Serum and Brain Carotenoids, Tocopherol, and Retinol Concentrations and Cognitive Performance in the Oldest Old from the Georgia Centenarian Study. *Journal of Aging Research*, *2013*, 1–13. <https://doi.org/10.1155/2013/951786>
- Kean, E. G., Hamaker, B. R., & Ferruzzi, M. G. (2008). Carotenoid Bioaccessibility from Whole Grain and Degermed Maize Meal Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *56*(21), 9918–9926. <https://doi.org/10.1021/jf8018613>
- Kimura, M., Rodriguez-Amaya, D. B., & Godoy, H. T. (1990). Assessment of the saponification step in the quantitative determination of carotenoids and provitamins A. *Food Chemistry*, *35*(3), 187–195. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(90\)90032-Y](https://doi.org/10.1016/0308-8146(90)90032-Y)
- Kritchevsky, S. B. (1999).  $\beta$ -Carotene, Carotenoids and the Prevention of Coronary Heart Disease. *The Journal of Nutrition*, *129*(1), 5–8. <https://doi.org/10.1093/jn/129.1.5>
- Lee, C. Y. (2018). *State Indicator Report on Fruits and Vegetables*. 435–455. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-63607-8\\_11](https://doi.org/10.1007/978-3-319-63607-8_11)
- Lim, J. I. (2002). Age-related macular degeneration. *Age-Related Macular Degeneration*, 1–533. <https://doi.org/10.3810/pgm.1998.05.480>
- Lockyer, S., White, A., & Buttriss, J. L. (2018). Biofortified crops for tackling micronutrient deficiencies – what impact are these having in developing countries and could they be of relevance within Europe? *Nutrition Bulletin*, *43*(4), 319–357. <https://doi.org/10.1111/nbu.12347>
- Lordan, R., & Zabetakis, I. (2017). Invited review: The anti-inflammatory properties of dairy lipids. *J. Dairy Sci.*, *100*(6), 4197–4212. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12224>
- Lyle, B. J., Mares-Perlman, J. A., Klein, B. E. K., Klein, R., & Greger, J. L. (1999).

- Antioxidant Intake and Risk of Incident Age-related Nuclear Cataracts In the Beaver Dam Eye Study. *American Journal of Epidemiology*, 149(9), 801–809. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a009895>
- Menkir, A., Rocheford, T., Maziya-Dixon, B., & Tanumihardjo, S. (2015). Exploiting natural variation in exotic germplasm for increasing provitamin-A carotenoids in tropical maize. *Euphytica*, 205(1), 203–217. <https://doi.org/10.1007/s10681-015-1426-z>
- Miller, G. D., Jarvis, J. K., & McBean, L. D. (2002). *Handbook of Dairy Foods and Nutrition, Second Edition* (Vol. 0).
- Ministerio de la Protección Social. (2015). Encuesta Nacional de la Situación Nutricional. Retrieved from <http://www.icbf.gov.co/portal/page/portal/Descargas1/Resumenfi.pdf>
- Ortiz, D. (2017). *Storage and processing effects on delivery of provitamin a carotenoids from biofortified maize*. Purdue University.
- Ortiz, D., Nkhata, S. G., Rocheford, T., & Ferruzzi, M. G. (2019). Steeping of biofortified orange maize genotypes for ogi production modifies pasting properties and carotenoid stability. *Agronomy*, 9(11). <https://doi.org/10.3390/agronomy9110771>
- Ortiz, D., Ponrajan, A., Bonnet, J. P., Rocheford, T., & Ferruzzi, M. G. (2018). Carotenoid Stability during Dry Milling, Storage, and Extrusion Processing of Biofortified Maize Genotypes [Research-article]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(18), 4683–4691. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b05706>
- Rein, D. B. (2009). Forecasting Age-Related Macular Degeneration Through the Year 2050. *Archives of Ophthalmology*, 127(4), 533. <https://doi.org/10.1001/archophthalmol.2009.58>
- Rosales, A., Agama-Acevedo, E., Arturo Bello-Pérez, L., Gutiérrez-Dorado, R., & Palacios-Rojas, N. (2016). Effect of Traditional and Extrusion Nixtamalization on Carotenoid Retention in Tortillas Made from Provitamin A Biofortified Maize (*Zea mays* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(44), 8289–8295. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b02951>

- Rubin, L. P., Ross, A. C., Stephensen, C. B., Bohn, T., & Tanumihardjo, S. A. (2017). Metabolic Effects of Inflammation on Vitamin A and Carotenoids in Humans and Animal Models. *Advances in Nutrition: An International Review Journal*, 8(2), 197–212. <https://doi.org/10.3945/an.116.014167>
- Sato, Y., Suzuki, R., Kobayashi, M., Itagaki, S., Hirano, T., Noda, T., ... Iseki, K. (2012). Involvement of Cholesterol Membrane Transporter Niemann-Pick C1-Like 1 in the Intestinal Absorption of Lutein. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 15(2), 256. <https://doi.org/10.18433/J38K56>
- Sowa, M., Yu, J., Palacios-Rojas, N., Goltz, S. R., Howe, J. A., Davis, C. R., ... Tanumihardjo, S. A. (2017). Retention of Carotenoids in Biofortified Maize Flour and  $\beta$ -Cryptoxanthin-Enhanced Eggs after Household Cooking. *ACS Omega*, 2(10), 7320–7328. <https://doi.org/10.1021/acsomega.7b01202>
- Sun, T., Yuan, H., Cao, H., Yazdani, M., Tadmor, Y., & Li, L. (2018). Carotenoid Metabolism in Plants: The Role of Plastids. *Molecular Plant*, 11(1), 58–74. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2017.09.010>
- Vázquez-Carrillo, M. G., & Santiago-Ramos, D. (2019). The RVA as a rapid tool to screen maize genotypes for the tortilla-making process in a breeding program. *Journal of Cereal Science*, 86, 22–25. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.12.021>
- Venado, R. E., Owens, B. F., Ortiz, D., Lawson, T., Mateos-Hernandez, M., Ferruzzi, M. G., & Rocheford, T. R. (2017). Genetic analysis of provitamin A carotenoid  $\beta$ -cryptoxanthin concentration and relationship with other carotenoids in maize grain (*Zea mays* L.). *Molecular Breeding*, 37(10). <https://doi.org/10.1007/s11032-017-0723-8>
- Vishwanathan, R., Kuchan, M. J., Sen, S., & Johnson, E. J. (2014). Lutein and Preterm Infants With Decreased Concentrations of Brain Carotenoids. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 59(5), 659–665. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000000389>
- von Lintig, J., Moon, J., Lee, J., & Ramkumar, S. (2019). Carotenoid metabolism at the intestinal barrier. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 158580. <https://doi.org/10.1016/J.BBALIP.2019.158580>

- Wang, Y., Chung, S.-J., McCullough, M. L., Song, W. O., Fernandez, M. L., Koo, S. I., & Chun, O. K. (2014). Dietary Carotenoids Are Associated with Cardiovascular Disease Risk Biomarkers Mediated by Serum Carotenoid Concentrations. *The Journal of Nutrition*, *144*(7), 1067–1074. <https://doi.org/10.3945/jn.113.184317>
- Woodside, J. V., Young, I. S., & McKinley, M. C. (2013). Fruit and vegetable intake and risk of cardiovascular disease. *Proceedings of the Nutrition Society*, *72*(4), 399–406. <https://doi.org/10.1017/S0029665113003029>
- World Health Organization. (2011). *Manual de ceguera por catarata en América Latina*.
- Zhang, S., Ji, J., Zhang, S., Guan, C., & Wang, G. (2020). Effects of three cooking methods on content changes and absorption efficiencies of carotenoids in maize. *Food & Function*, 11–13. <https://doi.org/10.1039/c9fo02622c>

