

Propiedades de malta diastásica de sorgo blanco

Helbert David Almeida Domínguez¹ y Lloyd William Rooney²

RESUMEN. Las enzimas de malta diastásica tienen potencial para hidrolizar almidones pregelatinizados liberando azúcares solubles, disminuyendo la viscosidad de mezclas y permitiendo el uso de altas concentraciones de nutrimentos para la preparación de cremas, alimento para infantes y bebidas formuladas con base de cereal. Así, es fundamental determinar la capacidad de la malta de sorgo para desarrollar propiedades funcionales deseables como viscosidad, solubilidad en agua y calidad nutrimental. En este trabajo se monitorearon las características de un sorgo blanco durante la germinación y la malta resultante. Se hizo germinar sorgo blanco «Dorado» a 28°C y 95% HR durante 6 días en completa oscuridad y después se secó a 55°C y se pulverizó para obtener harina de malta diastásica. Se determinaron las características fisicoquímicas, químicas, nutrimentales y diastásicas de la malta así como su capacidad para licuar mezclas de harinas precocidas rehidratadas. La máxima actividad diastásica ocurrió a los 3-4 días de germinación. La pérdida de materia seca del grano ocurrida durante la germinación aumentó a razón de 2.7 unidades porcentuales por día. Los períodos de germinación prolongados resultaron en mayores pérdidas de materia seca y menores niveles de actividad diastásica. El índice de solubilidad en agua del sorgo aumentó linealmente durante los primeros 5 días de germinación debido probablemente a la producción de azúcares solubles y aminoácidos libres. Los valores de digestibilidad *in vitro* de proteína (78.7 g/100 g proteína), el contenido de lisina (3 g/100 g de proteína) y el C-PER (1.0) del sorgo aumentaron durante la germinación. La malta de sorgo fue capaz de licuar mezclas precocidas y rehidratadas (20% de sólidos) en 5 min. de mezclado a 30°C. La malta con máxima actividad diastásica es útil para licuar pastas o bebidas de cereal precocido permitiendo aumentar el contenido de sólidos totales y la densidad de nutrimentos mientras se conservan las propiedades líquidas del producto. La calidad proteica mejorada de la malta de sorgo es favorable para su uso en la formulación de alimentos con alta calidad nutrimental.

SUMMARY. Properties of white sorghum diastatic malt. Diastatic malt enzymes have potential to hydrolyze pregelatinized starches releasing soluble sugars, lowering viscosity of slurries and allowing the use of high nutrient densities for preparation of cereal-based creams, baby food and drinks. Determination of the extent in which sorghum malt is able to develop desirable functional properties such as viscosity, water solubility and nutritional quality is fundamental. In this work the characteristics of a white sorghum during germination and the resulting malt were evaluated. «Dorado» white sorghum was germinated at 28°C and 95% RH during 6 days in complete darkness, dried at 55°C and ground to produce diastatic malt flour. Physicochemical, chemical, diastatic and nutritional characteristics of malt and its ability to liquify precooked flour slurries were determined. Maximum diastatic activity occurred at 3-4 days germination. Dry matter loss increased during germination at a rate of 2.7 percent units per day. Longer germination resulted in increased dry matter loss and decreased diastatic activity. Water solubility index of sorghum increased linearly during the first 5 days of germination probably caused by the production of soluble sugars and free amino acids. *In vitro* protein digestibility, lysine content and C-PER increased during germination. Sorghum malt was able to liquify precooked rice, wheat, oats or millet pastes (20% solids) in 5 min mixing at 30°C. Utilization of malts with maximum diastatic activity are useful to liquify precooked cereal pastes or drinks and to increase the total solid contents and nutrient density while keeping the liquid properties of the product. The improved protein quality of sorghum malt favours its utilization in high nutritional quality food formulations.

INTRODUCCION

La variedad y los parámetros de malteado son factores determinantes del rendimiento y la calidad de la malta de sorgo (1, 2, 3, 4, 5, 6). Ya se han reportado algunos procesos para el malteado de sorgo para su uso en cervecería y para la preparación de alimento para infantes y para animales (7, 8, 9, 10).

1 Centro de Graduados e Investigación, Instituto Tecnológico de Mérida, Km 5 Carretera Mérida-Progreso, Mérida. Yucatán 97118, México.

2 Cereal Quality Laboratory Soil & Crops Science Department, Texas A&M University, College Station, TX 77843 USA.

Los contenidos de proteína, aminoácidos libres, azúcares reductores y aminoácidos esenciales aumentan durante la germinación (11, 12) mientras que los taninos disminuyen (2, 5). La calidad de la malta puede ser evaluada mediante el índice de malta (método viscométrico) especialmente cuando esta será empleada en mezcla con almidones precocidos.

El malteado o la adición de malta diastásica (con capacidad de hidrolizar almidón) tiene un alto potencial para disminuir la viscosidad de mezclas rehidratadas de cereal precocido para consumo humano (10). Las enzimas de la malta pueden digerir los almidones pregelatinizados liberando azúcares solubles y rindiendo mezclas con alta densidad de nutrimentos. Es importante determinar en qué grado la malta de sorgo con máxima actividad diastásica puede desarrollar propiedades nutrimentales y funcionales deseables en alimentos tipo instantáneo formulados con base de cereal tales como alta calida proteica, fluidez o baja viscosidad y solubilidad en agua. Esto es particularmente necesario para contribuir al mejoramiento del estado nutricional de las comunidades en las que el sorgo es un grano básico. Los objetivos de este trabajo fueron elaborar malta diastásica de sorgo blanco, monitorear los cambios en las características fisicoquímicas, diastásicas y nutrimentales del sorgo durante la germinación, y evaluar la capacidad licuadora de la malta.

MATERIAL Y METODOS

Materia Prima

Se usaron granos de sorgo blanco «Dorado» (humedad de 11.6%, densidad de 1.358 g/cc y peso hectolítrico de 78.7 kg/hL) producidos en Halfway, Texas, como materia prima para las pruebas de germinación. Se usó harina comercial de malta de cebada con alta actividad diastásica (Malt Products Corporation, Maywood, New Jersey) para comparación. Para evaluar la capacidad de licuar de las maltas se usaron alimentos precocidos para infantes de arroz y de soya-trigo-avena (Gerber Products Co., Fremont, Minnesota) y alimentos precocidos por extrusión o hervido y hojueado de mijo perla decortinado (76% de rendimiento) preparados en el laboratorio (13).

Proceso de malteado

Los granos de sorgo fueron germinados siguiendo el proceso reportado por De Franca (14). Se pusieron a remojar 24 muestras de 150 g de grano limpio en agua fluyendo a 544 ml/min durante 20 hr a 26°C con un burbujeo continuo de aire. Los granos remojados se desinfectaron superficialmente por inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 2% por 15 min y fueron colocados en un germinador (Burrows, Burrows Equipment Co., Evanston, IL) durante 7 días a 28°C y 95% HR sin iluminación. Los granos germinados fueron secados a 50°C por 48 hr en un horno con flujo forzado de aire, frotados manualmente para separar las raíces y los tallos, y finalmente pulverizados en un molino UDY Cyclone Mill (UDY Co., Fort Collins, Colorado) a través de una malla de

1mm para obtener harina de malta diastásica.

Propiedades físicas y químicas

El color (L, a, b) fue medido con un colorímetro Hunterlab Tristimulus modelo D25-M-9 (placa estandar: L=+91.77, 1=1.07 y b=+1.36). La pérdida de materia seca fue calculada por diferencia entre el peso seco del grano crudo y el del grano germinado.

Los contenidos de humedad, grasa y ceniza fueron determinados con los métodos de la AACC (15). El contenido de proteína cruda (% N x 6.25) fue determinado mediante una digestión Kjeldahl (15) y un análisis de nitrógeno (16). Los contenidos de almidón total y almidón susceptible al ataque enzimático fueron calculados después de una digestión con glucoamilasa (Diazyme L-200, Miles Lab., Inc. Elkhart, IN) durante 30 min a 60° (17) y un análisis de glucosa (18).

Los índices de absorción de agua (IAA, g gel/g materia seca) y solubilidad en agua (ISA, g sólidos solubles secos/100g materia seca) fueron determinados por incubación de 1 g harina en 15 ml de agua destilada a temperatura ambiente durante 30 min con agitación (19).

Actividad de amilasas

La actividad de α -amilasa se determinó como índice de malta con un Visco Analizador Rápido modelo 3C (Newport Scientific Pty. Ltd, Sydney, Australia) siguiendo una modificación de un método de determinación de actividad diastásica de la AACC (15). Se graficó la viscosidad de muestras de 30 g (14.5% sólidos) formuladas con 95 partes de almidón de maíz y 5 partes de malta calentadas secuencialmente a 25°C por 2 min y a 95°C por 8 min. El pico de viscosidad (índice de malta) que apareció a los 5.5 min fue convertido a unidades de α -amilasas/g mediante una curva de calibración construida con malta diastásica de cebada con actividad de α -amilasas conocida.

Poder licuador de malta

El poder licuador de las harinas de malta fue evaluado en mezclas con arroz, trigo o mijo precocidos mediante la medición de la disminución de la viscosidad con el Visco Analizador Rápido. Las harinas, obtenidas con un molino UDY, fueron mezcladas con 5% (base seca) de malta y suficiente agua destilada para obtener 30 g de mezcla con 20% de sólidos. Los sólidos fueron adicionados al agua en el recipiente del analizador y mezclados manualmente con una espátula delgada por 30s para entonces ser analizados a 30°C durante 10 min. La viscosidad (cps) a los 5 min fue usada como indicador del poder licuador de la malta. La línea base fue establecida con 30 ml de agua destilada.

Calidad de proteína

Los aminoácidos fueron cuantificados mediante una hidrólisis ácida (20) y alcalina (para triptofano, 21) y un

análisis por intercambio iónico con un Analizador de Aminoácidos Beckman 121M. La digestibilidad proteica *in vitro* fue determinada con un sistema multienzimático (21). Los valores de C-PER fueron calculados a partir de los contenidos de aminoácidos y la digestibilidad de las proteínas (21).

Incineración húmeda y análisis de minerales

La incineración húmeda fue realizada mediante digestión de las muestras con ácido nítrico al 70.3% y después con ácido perclórico al 72%. Los contenidos de Ca y Fe de los hidrolizados fueron determinados por absorción atómica en un Espectrofotómetro Perkin Elmer 603 A/A (Perkin Elmer, Norwalk, CO). El fósforo inorgánico fue cuantificado por el método de Fiske y Subarow (23).

Diseño experimental y estadística

Para la evaluación del efecto del procesamiento sobre las propiedades de la malta resultante y del poder licuador de las maltas se usó análisis de varianza de una vía en un diseño experimental completamente aleatorio con 3 replicaciones. Para la comparación múltiple de promedio se usó el método de Diferencias Mínimas Significativas de Fisher (24). Se usó regresión polinomial simple para las curvas de calibración.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Propiedades físicas y químicas

Se obtuvo un alto grado de germinación alcanzando un 94-98% de los granos con raíces y tallos desarrollados al tercer día. Esto fue ventajoso comparado con otros sorgos altos y bajos en taninos que alcanzaron un 97-98% de germinación hasta el quinto día (2).

La humedad de los granos aumentó hasta 40% después del remojo y continuó aumentando linealmente ($r=0.99$) durante la germinación a razón de 1.73 unidades porcentuales por día (Figura 1). La pérdida de materia seca (PMS) aumentó linealmente ($r=0.95$) durante los primeros seis días de germinación a razón de 2.7 unidades porcentuales por día. El valor de PMS por día fue inferior a 3.4 obtenido por Okoh et al (5). El rápido incremento de PMS después del sexto día fue causado por el crecimiento de hongos. La utilización de tiempos óptimos de germinación es importante para obtener pérdidas mínimas de materia seca lo que significa mayores rendimientos de malta.

La malta de sorgo germinado por cuatro días resultó ser más blanca y con una composición química diferente que la malta de cebada (Tabla 1). Sus contenidos de proteína y ceniza fueron menores y los de almidón y grasa fueron mayores. Cerca del 18% del almidón del sorgo fue consumido durante los primeros 4 días de germinación probablemente para producir la energía necesaria para la actividad metabólica. Disminuciones de hasta 24% en el contenido de almidón han sido reportadas por Chavan et al (2).

FIGURA 1

Efecto del remojo y la germinación de sorgo sobre su contenido de humedad (LSD (.05) = 2.5) y su pérdida de materia seca (LSD (.05) = 2.4)

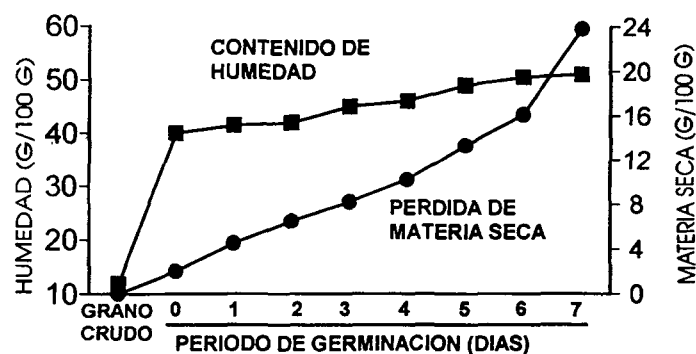


TABLA 1
EFECTO DE LA GERMINACION SOBRE EL COLOR Y LA COMPOSICION DE SORGO

Propiedad ^a	Sorgo crudo	Malta de sorgo ^b	Malta de cebada ^c	DMS ^d
Color				
L	80.9	81.5	77.5	0.3
a	0.4	-0.3	1.0	0.1
b	12.7	13.0	15.3	0.3
Proteína (% N x 6.25)	10.5	10.5	14.4	0.4
Ceniza	1.6	1.5	2.3	0.1
Almidón	79.1	71.9	55.9	1.6
Grasa	3.4	2.8	1.7	0.3

a La composición está dada en g/100g de materia seca.

b Sorgo germinado por 4 días, secado a 50°C y pulverizado.

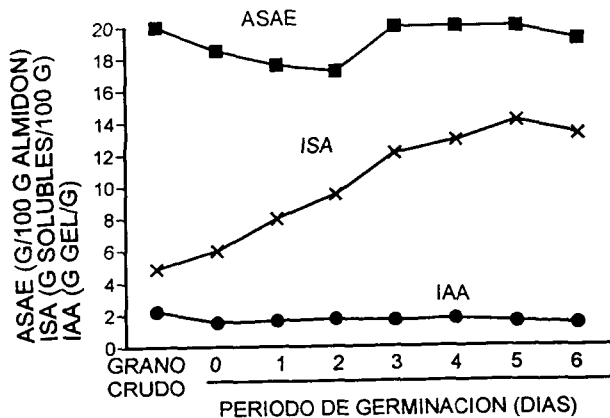
c Malta diastásica comercial de cebada

d Diferencia Mínima Significativa de Fisher al 5% de significancia.

El índice de solubilidad en agua aumentó linealmente ($r=0.99$) a razón de 1.68 unidades/día durante los primeros 5 días de germinación (Figura 2). Esto fue debido a la producción de azúcares reductores, aminoácidos libres y proteínas solubles durante la germinación (2,3). El índice de absorción de agua permaneció prácticamente inalterado durante la germinación. Así, la malta tiene potencial para dispersarse en agua a temperatura ambiente sin desarrollar un gel debido a su baja capacidad de absorber agua.

FIGURA 2

Efecto del remojo y la germinación de sorgo sobre su contenido de almidón susceptible al ataque enzimático (ASAE, LSD (.05) = 1.3) y sus índices de absorción (IAA, LSD (.05) = 0.1) y solubilidad (ISA, LSD (.05) = 1.0) en agua



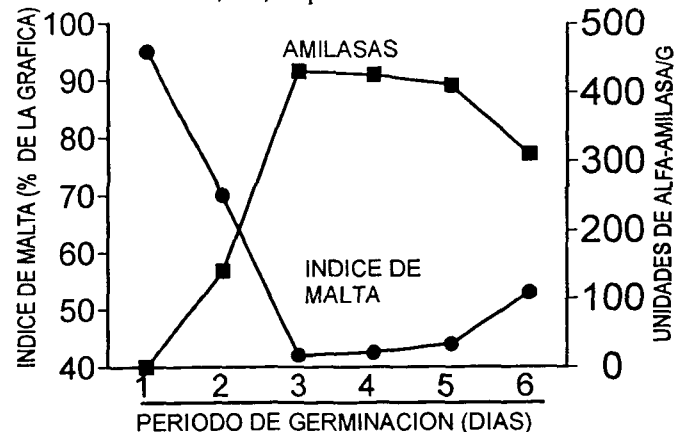
El contenido de almidón susceptible al ataque enzimático disminuyó durante el remojo y hasta el segundo día de germinación aumentando posteriormente (Figura 2). Aparentemente, el almidón fácil de digerir (almidón dañado, regiones amorfas de los granulos de almidón) en el grano crudo es metabolizado durante el remojo y las primeras etapas de la germinación para proveer la energía necesaria para la producción de enzimas y el crecimiento de la planta. Las enzimas producidas en mayor cantidad después del segundo día (1,3) degradan más almidón liberando azúcares reductores que a su vez son detectados como almidón susceptible al ataque enzimático. Esto es apoyado por el máximo contenido de almidón susceptible al ataque enzimático encontrado entre el cuarto y el quinto día de germinación cuando se observó una alta actividad de α -amilasas (Figura 3).

Actividad de amilasas

El máximo de actividad de α -amilasas ocurrió entre el tercero y el cuarto día de germinación mientras que, como era de esperarse, el valor del índice de malta fue mínimo en ese momento (Figura 3). Watson y Novellie (1) también han reportado actividades elevadas de maltosas y α - y β -amilasas al tercer día de germinación. El método viscométrico empleado detectó actividad de α -amilasas después del primer día de germinación. Esto es correcto ya que el desarrollo de α -amilasas en sorgo se inicia después del primer día y aumenta rápidamente después del segundo (3). La actividad de α -amilasas de la malta de sorgo germinado por 4 días fue 4.6 veces inferior a la de la malta diastásica comercial de cebada.

FIGURA 3

Efecto de la germinación de sorgo sobre su índice de malta (LSD (.05) = 2.3) y su contenido de actividad de alfa amilasas (LSD (.05) = 10.5). El índice de malta y la actividad de alfa amilasas de la malta de cebada fueron 9 y 1,019, respectivamente



Poder licuador de malta

Tanto la malta de sorgo como la de cebada redujeron significativamente la viscosidad de todas las mezclas de cereal precocido después de 5 min de mezclado a 30°C (Figura 4); sin embargo, la malta de cebada redujo las viscosidades más rápidamente y en mayor grado. Esto muestra el gran potencial que tienen las maltas con actividad enzimática para licuar mezclas de cereal precocido y rehidratado en la elaboración de alimentos fluidos con alta concentración de sólidos a temperatura ambiente y en corto tiempo.

Calidad de proteínas y composición de minerales

Tanto la digestibilidad *in vitro* de proteína y el C-PER del sorgo fueron incrementados durante la germinación (Tabla 2). El aumento significativo de la digestibilidad de las proteínas durante el remojo y las primeras etapas de la germinación es aparentemente causado por la hidrólisis de las proteínas de almacenamiento requerido para la producción de enzimas. El aumento del C-PER fue causado por el efecto combinado de los incrementos de digestibilidad proteica y el contenido de lisina (Tabla 3). También se observó un pequeño aumento en los contenidos de valina, isoleucina, tirosina y triptofano durante los primeros 4 días de germinación. La germinación mejora considerablemente la calidad proteica del sorgo mediante un aumento en los contenidos de los aminoácidos esenciales (11) y la fracción albúmina-globulina rica en lisina (5).

Los contenidos de calcio y hierro no cambiaron durante la germinación, mientras que el contenido de fósforo disminuyó. La pérdida de fósforo observada probablemente es debida a la separación de las raíces y los tallos durante el proceso de elaboración de la malta; sin embargo, esto requiere de investigación.

FIGURA 4

Efecto de la adición de 5% de malta diastásica sobre la viscosidad de mezclas rehidratadas (20% de sólidos) después de 5 min. de mezclado

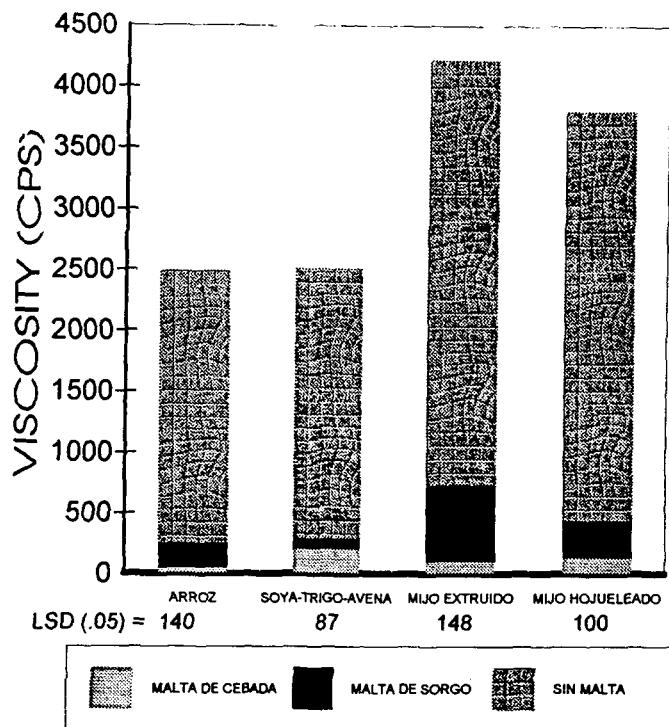


TABLA 2

CALIDAD DE PROTEINAS Y COMPOSICION DE MINERALES (mg/100g) DE SORGO CRUDO Y GERMINADO Y DE MALTA DE CEBADA^a.

Muestra	Digestibilidad de proteína (g/100 g/prot)	C-PER ^b	Ca	Fe	P
Sorgo crudo	72.6	0.68	2.9	4.6	367
Sorgo remojado	76.9	0.79	2.7	3.6	218
Malta de sorgo	78.7	1.00	3.0	3.7	220
Malta de cebada	70.7	2.22	19.8	8.1	278
DMS ^c	2.5	0.14	0.5	0.9	29.5

- a Los valores son promedios de 3 observaciones
- b Para los cálculos se usaron los valores de los contenidos de cistina del sorgo y la cebada reportados por la FAO (25).
- c Diferencias Mínimas Significativas al 5% de significancia.

TABLA 3

EFFECTOS DE LA GERMINACION DE SORGO SOBRE SU CONTENIDO DE AMINOACIDOS (g/100g DE PROTEINA)^a

	Período de Germinación (Días)						Malta de cebada	DMS ^c
	Crudo	0 ^b	2	4	6			
Lisina	2.5	2.5	2.6	3.0	3.2	4.2	0.4	
Histidina	2.4	2.5	2.7	2.5	2.4	4.8	0.4	
Arginina	4.6	4.3	3.9	4.1	3.9	19.7	0.5	
Aspártico	8.3	7.9	9.1	11.4	12.8	4.6	0.6	
Treonina	3.6	3.5	3.6	3.7	3.2	6.4	0.5	
Serina	4.9	4.8	4.6	5.0	4.7	2.9	0.4	
Glutámico	26.1	26.3	25.2	24.1	20.9	5.6	1.5	
Prolina	10.0	9.9	9.8	10.1	9.3	64.5	0.9	
Glicina	3.5	3.3	3.4	3.7	3.6	4.2	0.5	
Alanina	11.1	11.4	10.8	9.9	8.4	4.7	0.6	
Valina	6.0	6.3	6.2	6.3	5.6	5.2	0.3	
Metionina	1.9	2.0	2.0	1.9	1.8	1.8	0.3	
Isoleucina	4.8	4.7	5.0	5.1	4.4	3.5	0.3	
Leucina	15.9	15.8	15.2	14.6	12.1	6.4	1.0	
Tirosina	4.5	4.8	4.8	4.8	4.2	3.4	0.3	
Fenilalanina	6.3	6.4	6.3	6.1	5.2	5.1	0.4	
Triptofano	0.9	1.0	1.0	1.2	1.1	2.1	0.3	

- a Los valores son promedios de 3 observaciones.
- b La muestra corresponde al grano remojado por 20 hr.
- c Diferencias Mínimas Significativas al 5% de significancia.

CONCLUSIONES

Un período de germinación de 3-4 días es adecuado para la producción de malta diastásica de sorgo con máximos rendimiento y actividad de amilasas. La malta obtenida poseerá una capacidad de solubilidad en agua altamente aceptable y una alta calidad proteica. Esta malta de sorgo (o de cebada) con actividad enzimática tiene potencial para ser usada como ingrediente en la formulación de mezclas en polvo tipo instantáneo, fácil de rehidratar, útiles para la preparación de bebidas o cremas con baja viscosidad, alta concentración de sólidos solubles y calidad nutrimental mejorada tales como alimento para infantes y bebidas no carbonatadas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen los apoyos financiero recibidos de CONACYT, México, y de la Agencia para el Desarrollo Internacional, Washington, a través del fondo DAN 1254-G-SS-5065-00.

REFERENCIAS

1. Watson T.G. y Novellie L. The development of amylase and maltase during malting of sorghum vulgare. *Agrochemophysica*, 7:61-64, 1975.
2. Chavan J.K., Kadam S.S. y Salunkhe D.K. Changes in Tannin, free amino acids, reducing sugars and starch during seed germination of low and high tannin cultivars of sorghum. *J. Food Sci.* 46:638-639, 1981.
3. Aisien A.O. Palmer G.H. y Stark J.R. The development of enzymes during germination and seedling growth in Nigerian sorghum. *Starch/Stärke*, 35(9):316-320, 1983.
4. Novellie L. y Schaeppdrijver P. Modern developments in traditional African beers. En: *Progress in Industrial Microbiology* M.R. Admas (Ed). Elsevier Sci. Publishers B.V. Vol 32 p 73-76. 1986.
5. Okoh P.N., Kubiczek R.P., Njoku P.C. y Lyeghe G.T. Some compositional changes in malted sorghum (*Sorghum vulgare*) grain and its value in broiler chick diet. *J. Sci. Food Agric* 49:271-279, 1989.
6. Smith R.L., Hoveland C.S. y Hanna W.W. Water stress and temperature in relation to seed germination of pearl millet and sorghum. *Agron J.* 81:303-305, 1989.
7. Schwartz H.M. Kaffir corn malting and brewing studies. I. The kaffir beer brewing industry in South Africa. *J. Sci. Food Agric.* 7:101-103, 1956.
8. Novellie L. Kaffir beer brewing. Ancient art and modern industry. *Wallerstein Labs. Commun.*, 31:17-18, 1968.
9. Plugfelder R.L. y Rooner L.W. The role of germination in sorghum reconstitution. *Animal Feed Sci. Tech.* 14:243-254, 1986.
10. Malleshi N.G. Daodu M.A. y Chandrasekhar A. Development of weaning food formulations based on malting and roller drying of sorghum and cowpea. *Int J. Food Sci Tech.* 24:511-519, 1989.
11. Taylor J.R.N. Effect of malting on the protein and free amino nitrogen composition of sorghum. *J.Sci Food Agric.* 34:885-892, 1983.
12. Ikemefuna C. y Obizoba C. Nutritive value of malted dry-or-wet-milled sorghum and corn. *Cereal Chem.* 65(6):447-449, 1988.
13. Almeida Domínguez H.d., Serna Saldívar S.O., Gómez M.H. y Rooney L.W. Production and nutritional value of weaning foods from mixtures of pearl millet and cowpeas. *Cereal Chem* 70(1): 14-18, 1993.
14. De Franca J.G.E. Studies of genetic parameters of agronomic grain structure and malting characteristics of sorghum (*Sorghum bicolor* (L) Moench). *Disertación Doctoral*, Texas A & M University, College Station TX, USA, p 20-21, 1990.
15. American Association of Cereal Chemists. *Cereal Laboratory Methods de la AACCC*. St. Paul MN. The Association. Métodos 44-19 (humedad), 08-01, 1986.
16. Technico Instrument Corporation. *Autonalyzer II Industrial Method 334-74A/A (nitrógeno)*. Tarrytown NY USA, The Corporation, 1976.
17. Khan M.N., Rooney L.W., Rosenow D.T. y Miller F.R. Sorghums with improved tortilla-making characteristics. *J. Food Sci.*, 45:720-722, 1980.
18. Technico Instrument Corporation. *Autoanalyzer II Industrial Method SF4-0045FA8 (glucosa)*. Tarrytown NY USA. The Corporation, 1978.
19. Anderson R.A. Conway H.F., Pfeiffer V.F. y Griffin E.L. Jr. Gelatinization of corn grits by roll and extrusion cooking. *Cereal Sci. Today* 14:1-4, 1969.
20. Spackman D.H., Stein W.H. y Moore S. Automatic recording apparatus for use of chromatography of amino acids. *Anal Chem* 30:1190-1192, 1958.
21. Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis of the AOAC* W. Horwitz (Ed) Washington DC, The Association, Métodos 43.263 (hidrólisis alcalina), 43.265 (digestibilidad de proteína) y 43.266 (C-PER).
22. Sandel E.B. *Colorimetric determination of traces of metals*. Interscience Publ. Inc. NY p 411-412. 1950.
23. Fiske C.H. y Subbarow Y. *The colorimetric determination of phosphorus*. *J.Biol Chem.* 66:375-377, 1925.
24. Montgomery D.C. *Design and Analysis of Experiments*. New York, John Wiley & Sons Inc p.64-80, 1976.
25. FAO. *Amino acid content of foods and biological data of proteins*. FAO Nutrient Studies N° 24. Food and Agriculture Organization. Rome 1970.

Recibido: 01-03-1993

Aceptado: 04-03-1994