

UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA  
UNIDAD IZTAPALAPA  
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD



*ANÁLISIS DE LAS CARACTERÍSTICAS DE MASA Y  
TORTILLA PRODUCIDAS POR EL MÉTODO  
TRADICIONAL Y POR EL PROCESO DE MOLINO  
SUSTENTABLE GENERADO EN LA UAM-I*

**T E S I S**

para obtener el grado de  
**Doctora en Biotecnología**

**PRESENTA**

M. en B. Ruth Angélica Peña Reyes

Directora

Dra. Alma Elizabeth Cruz Guerrero



Asesores

Dr. Francisco José Fernández Perrino  
Dra. María del Carmen Wachter Rodarte

México, D.F., a 23 de mayo del 2017.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

# ACTA DE DISERTACIÓN PÚBLICA

No. 00185

Matrícula: 2121800326

ANÁLISIS DE LAS CARACTERÍSTICAS DE MASA Y TORTILLA PRODUCIDAS POR EL MÉTODO TRADICIONAL Y POR EL PROCESO DE MOLINO SUSTENTABLE GENERADO EN LA UAM-I

En la Ciudad de México, se presentaron a las 12:00 horas del día 23 del mes de mayo del año 2017 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DR. FRANCISCO JOSE FERNANDEZ PERRINO  
 DRA. MARIA DEL CARMEN WACHER RODARTE  
 DRA. MARIA DE LOS ANGELES CORNEJO VILLEGAS  
 DR. HECTOR BERNARDO ESCALONA BUENDIA

Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretario el último, se reunieron a la presentación de la Disertación Pública cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:



DOCTORA EN BIOTECNOLOGIA

DE: RUTH ANGELICA PEÑA REYES

y de acuerdo con el artículo 78 fracción IV del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

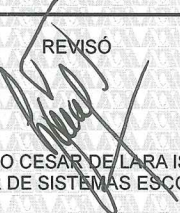
APROBAR

Acto continuo, el presidente del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.


RUTH ANGELICA PEÑA REYES  
ALUMNA

REVISÓ



LIC. JULIO CESAR DE LARA ISASSI  
DIRECTOR DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE CBS



DRA. EDITH PONCE ALQUICIRA

PRESIDENTE




DR. FRANCISCO JOSE FERNANDEZ PERRINO

VOCAL



DRA. MARIA DEL CARMEN WACHER RODARTE

VOCAL



DRA. MARIA DE LOS ANGELES CORNEJO VILLEGAS

SECRETARIO



DR. HECTOR BERNARDO ESCALONA BUENDIA

**El Doctorado en Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana  
está incluida en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del  
CONACYT, con la referencia 001466.**

México D.F. a 23 de mayo del 2017.

El jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Unidad Iztapalapa aprobó la tesis

**ANÁLISIS DE LAS CARACTERÍSTICAS DE MASA Y TORTILLA  
PRODUCIDAS POR EL MÉTODO TRADICIONAL Y POR EL PROCESO DE  
MOLINO SUSTENTABLE GENERADO EN LA UAM-I**

Que presentó

Ruth Angélica Peña Reyes

**COMITÉ TUTORAL:**

Director: Dra. Alma Elizabeth Cruz Guerrero

Asesor: Dr. Francisco José Fernández Perrino

Asesor: Dra. María del Carmen Wachter Rodarte

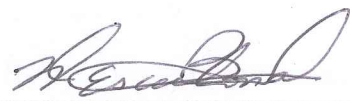
**JURADO:**

Presidente: Dr. Francisco José Fernández Perrino



---

Secretario: Dr. Héctor Bernardo Escalona Buendía



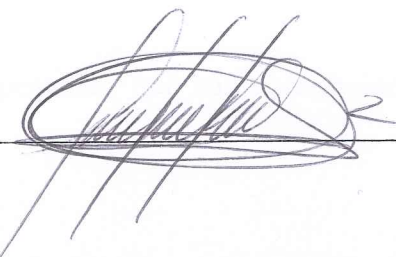
---

Vocal: Dra. María del Carmen Wachter Rodarte

*Ma. del Carmen Wachter*

---

Vocal: Dra. María de los Ángeles Cornejo Villegas



---

## AGRADECIMIENTOS

A mi directora, la Dra. Alma Elizabeth Cruz Guerrero por sus conocimientos, orientaciones y consejos: su manera de trabajar, su paciencia y motivación han sido fundamentales para mi formación como investigador.

Al Dr. Francisco José Fernández Perrino por todos los consejos y apoyo brindado durante el proyecto.

A los doctores Héctor Escalona, Carmen Wachter Rodarte y Ángeles Cornejo Villegas por el tiempo dedicado en el desarrollo y revisión de esta tesis.

Un agradecimiento especial al Dr. Gerardo Ramírez Romero, mente creadora de este proyecto, quien se nos adelantó y no pudo ver terminado el trabajo, pero de quien siempre tuve apoyo incondicional.

A la Dra. Alejandro Serrato Díaz y al Maestro Edgar Sierra Palacios por la paciencia para transmitirme sus conocimientos de Biología Molecular.

Al Dr. José Sepúlveda Sánchez por las risas y sabios consejos que me compartió.

Al Ing. David Técotl Crisostomo dueño del molino “El Esfuerzo” y a las personas que trabajan ahí, por todas las facilidades brindadas y el conocimiento que me transmitieron.

A Carlos Jiménez, quien con sus ocurrencias hizo más placentera y divertida la realización de este trabajo.

A la UAM-I, por permitirme conocer maravillosas personas, que han contribuido a hacer de mi la persona que soy hoy en día.

## **DEDICATORIA**

A mi ángel de la guarda que, desde donde está, me cuida y guía mi camino.

A mi familia, fuente de apoyo constante e incondicional durante toda mi vida, especialmente más aún en estos años dedicados al posgrado. En especial quiero expresar mi más grande agradecimiento a mi madre, que a pesar de la distancia que nos separaba siempre ha estado ahí, dándome todo lo que ha estado a sus manos para que yo pueda seguir desarrollándome en la vida, sin ella hubiera sido imposible cumplir con este sueño, llamado doctorado.

A todos mis amigos que, a pesar de la distancia, siempre han estado conmigo y han alegrado mi vida.

## CONTENIDO

1. RESUMEN .....	9
2. ABSTRACT .....	11
3. INTRODUCCIÓN .....	13
4. OBJETIVOS .....	14
General: .....	14
Particulares: .....	14
5. ANTECEDENTES .....	15
5.1 Maíz .....	15
5.1.1 Origen .....	15
5.1.2 Importancia .....	15
5.1.3 Estructura del grano de maíz .....	16
5.1.4 Composición química del grano de maíz .....	17
5.2 Nixtamalización: masa y tortilla .....	22
5.2.1 El proceso de nixtamalización tradicional .....	23
5.2.2 Procesos alternativos de nixtamalización .....	24
5.2.3 Características del proceso de nixtamalización .....	25
5.2.4 Caracterización textural de masa de maíz nixtamalizado .....	28
5.2.5 Caracterización textural de tortillas de maíz nixtamalizado .....	30
5.3 El color en la industria de los alimentos .....	32
5.3.1 Diferencia de color ( $\Delta E$ ) .....	34
5.4 Microbiología del maíz .....	35
5.4.1 Identificación de microorganismos por técnicas moleculares .....	35
5.5 BIBLIOGRAFÍA .....	39
6. EFECTO DE LA TEMPERATURA DURANTE EL PROCESO DE NIXTAMALIZACIÓN SOBRE LA HIDRATACIÓN DEL MAÍZ Y LAS PROPIEDADES TEXTURALES DE MASA Y TORTILLAS .....	45
6.1 INTRODUCCIÓN .....	45
6.2 MATERIALES Y MÉTODOS .....	47
6.2.1 Materiales .....	47
6.2.2 Nixtamalización .....	47
6.2.3 Cinética de hidratación .....	47

6.2.4 Producción de Masa y Tortilla .....	49
6.2.5 Análisis de Textura .....	49
6.2.6 Análisis estadístico .....	50
6.3 RESULTADOS Y DISCUSIONES .....	50
6.3.1 Cinética de hidratación del maíz.....	50
6.3.2 Propiedades Texturales de Masa y Tortillas .....	56
6.3.3 Consumo de energía en el proceso de Nixtamalización de maíz .....	59
6.4 CONCLUSIONES.....	59
6.5 BIBLIOGRAFÍA .....	61
7. EFECTO DE LA TEMPERATURA DE NIXTAMALIZACIÓN Y LA ADICIÓN DE SÓLIDOS DE NEJAYOTE EN LAS PROPIEDADES TEXTURALES DE MASA Y TORTILLA.....	64
7.1 INTRODUCCIÓN .....	64
7.2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	66
7.2.1 Nixtamalización .....	66
7.2.2 Elaboración de masa .....	66
7.2.3 Elaboración de tortillas .....	67
7.2.4 Análisis de textura .....	67
7.2.5 Determinación de color .....	68
7.2.6 Análisis estadístico .....	69
7.3 RESULTADOS Y DISCUSIONES .....	69
7.3.1 Efecto de la temperatura en nixtamal, masa y tortillas .....	69
7.3.2 Efecto de la adición de sólidos de nejayote en masa y tortilla.....	73
7.3.3 Análisis de color en masa y tortillas .....	77
7.4 CONCLUSIONES.....	78
7.5 BIBLIOGRAFIA .....	79
8. ANÁLISIS POR BIOLOGÍA MOLECULAR DE MICROBIOTA PRESENTE EN EL PROCESO DE NIXTAMALIZACIÓN.....	82
8.1 INTRODUCCIÓN .....	82
8.2 MATERIALES Y METODOS.....	83
8.2.1 Material.....	83
8.2.2 Extracción DNA .....	83



8.2.3 PCR.....	84
8.2.4 DGGE.....	84
8.2.5 Purificación y secuenciación.....	85
8.3 RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	86
8.4 CONCLUSIONES.....	90
8.5 BIBLIOGRAFÍA.....	91
9 CONCLUSIONES GENERALES.....	92
10 PERSPECTIVAS.....	93
ANEXO.....	94

## 1. RESUMEN

El proceso tradicional de nixtamalización para elaborar tortillas implica la cocción del maíz con cal para producir masa. El objetivo de este trabajo fue validar un proceso sustentable de nixtamalización, en donde se emplean bajas temperaturas y se adicionan los sólidos provenientes del agua de reposo (nejayote) y compararlo con el proceso tradicional de nixtamalización.

Por una parte, se analizó la hidratación del maíz y las propiedades texturales de la masa y tortillas las diferentes condiciones de nixtamalización. La principal variable estudiada fue la temperatura de cocción, comparando las temperaturas de 60 y 50 °C con 90 °C, que tradicionalmente se utiliza. Los coeficientes de difusión de agua estimados fueron  $2.71 \times 10^{-8}$  (90 °C),  $1.82 \times 10^{-8}$  (60 °C) y  $0.93 \times 10^{-8} \text{ m}^2 / \text{s}$  (50 °C). Las propiedades texturales analizadas de la masa fueron adhesividad (-2.05 a -1.93 N) y cohesividad (0.12 a 0.13) y no mostraron diferencias significativas ( $\alpha=0.05$ ). Asimismo, el análisis de textura de las tortillas frescas no presentó diferencia significativa ( $\alpha=0.05$ ) en extensibilidad (1.03 a 1.22 N) o rollabilidad (0.22 a 0.29 N). Se concluyó que empleando el proceso de nixtamalización propuesto (baja temperatura), se pueden obtener masa y tortillas con una calidad similar a los productos comerciales.

Por otra parte, se analizó el efecto de dos temperaturas de nixtamalización (60 y 90 °C) y de la adición de sólidos provenientes del nejayote en las propiedades texturales de masa y tortillas. Se observó que tanto la masa como las tortillas elaboradas con el maíz nixtamalizado a las diferentes temperaturas no mostraron diferencia significativa ( $\alpha=0.05$ ) en sus propiedades texturales (dureza, fuerza adhesiva, resiliencia, cohesividad, índice de elasticidad, rollabilidad, extensibilidad). La adición de sólidos ocasiona una menor pérdida de humedad para las tortillas de 90 °C recién elaboradas y no modificó las propiedades texturales, ni de la masa ni de tortillas. Se encontró que usando distintas temperaturas y adicionando sólidos provenientes del nejayote se pueden obtener masa y tortillas con las mismas características que los productos comerciales, y con esto se puede disminuir la contaminación producida por el nejayote.

En un intento por caracterizar la microbiota presente durante el proceso de nixtamalización, se analizaron muestras tanto de maíz crudo, maíz nixtamalizado, masa y tortillas del proceso de 50 y 90°C y se obtuvo un perfil general del número de bacterias presentes en cada uno de los procesos.

## 2. ABSTRACT

The traditional process of nixtamalization to produce tortillas involves the cooking of corn with lime to produce dough. The objective of this work was to validate a sustainable process of nixtamalization, where low temperatures are used and solids from the rest water (nejayote) are added and compared with the traditional nixtamalization process.

On the one hand, the hydration of the maize and the textural properties of the dough and tortillas were analyzed the different conditions of nixtamalización. The main variable studied was the cooking temperature, comparing the temperatures of 60 and 50 °C with 90 °C, which is traditionally used. The estimated water diffusion coefficients were  $2.71 \times 10^{-8}$  (90 °C),  $1.82 \times 10^{-8}$  (60 °C) and  $0.93 \times 10^{-8} \text{ m}^2 / \text{s}$  (50 °C). The analyzed textural properties of the mass were adhesiveness (-2.05 to -1.93 N) and cohesiveness (0.12 to 0.13) and did not show significant differences ( $\alpha = 0.05$ ). Also, the texture analysis of fresh tortillas presented no significant difference ( $\alpha = 0.05$ ) in extensibility (1.03 to 1.22 N) or rollability (0.22 to 0.29 N). It was concluded that using the proposed nixtamalization process (low temperature), dough and tortillas can be obtained with a quality similar to commercial products.

On the other hand, the effect of two nixtamalization temperatures (60 and 90 °C) and of the addition of solids from the nejayote in the textural properties of dough and tortillas were analyzed. It was observed that both the dough and tortillas made with nixtamalized maize at different temperatures showed no significant difference ( $\alpha = 0.05$ ) in its textural properties (hardness, adhesive strength, resilience, cohesiveness, elasticity index, rollability, extensibility). Addition of solids resulted in less moisture loss for freshly prepared 90 °C tortillas and did not modify the textural properties of either the dough or tortillas. It was found that using different temperatures and adding solids from the nejayote can obtain mass and tortillas with the same characteristics as the commercial products, and this can reduce the pollution produced by the nejayote.

In an attempt to characterize the microbiota present during the nixtamalization process, samples of both raw maize, nixtamalized maize, mass and tortillas of the 50 and 90 ° C process were analyzed and an overall profile of the number of bacteria present in each one of processes.

### 3. INTRODUCCIÓN

En México el maíz ha sido el cultivo más importante, ya que contribuye a la dieta y a la economía familiar; éste representa nuestras tradiciones y costumbres que conforman la cultura que nos identifica como nación.

La tortilla es el alimento básico en la población de nuestro país, siendo el grano de maíz la materia prima fundamental para su elaboración. Se estima que su consumo *per cápita* anual de tortilla en medio rural supera los 125 kg, llegando incluso a los 200 kg en las comunidades más pobres del país. **(Cámara Nacional del maíz industrializado, 2003).**

La nixtamalización del maíz es un procedimiento milenario por el cual el maíz es sometido a cocción alcalina (cal o hidróxido de sodio), el producto obtenido llamado nixtamal se lava con agua para eliminar el exceso de cal y después se coloca en molinos de piedra para obtener una pasta suave y cohesiva conocida como masa, la cual es empleada para la elaboración de tortillas, entre otros alimentos **(Paredes López, O., et al, 2009).**

La tecnología para la elaboración de las tortillas ha sido transmitida de generación en generación siguiendo básicamente los mismos pasos y procedimientos utilizados por los aztecas, aunque con la modernización industrial, el proceso se ha mejorado y modernizado, este sigue teniendo varios inconvenientes como la demanda de la gran cantidad de mano de obra, altos consumos de energía y agua, reflejándose en altos costos de producción. Por lo anterior, los esfuerzos se deben enfocar a encontrar alternativas para elaborar masa y harinas nixtamalizadas, con un sustento energético y ecológico.

En este trabajo, se analizó la evolución de las propiedades microbiológicas, texturales y reológicas en un proceso de nixtamalización sustentable, el cual consiste en utilizar temperaturas de cocción menores y la posterior adición de los sólidos procedentes del nejayote durante la molienda y se comparó con el proceso tradicional de nixtamalización.

## 4. OBJETIVOS

### **General:**

Analizar desde el punto de vista físico-químico y microbiológico un proceso de nixtamalización sustentable y compararlo con el proceso de nixtamalización tradicional.

### **Particulares:**

- Evaluar la hidratación del maíz y las propiedades texturales de masa y tortillas producidas bajo diferentes condiciones de nixtamalización.
- Evaluar el efecto de dos temperaturas de nixtamalización (60 y 90 °C) y de la adición de sólidos provenientes del nejayote en las propiedades texturales y físico-químicas de masa y tortillas.
- Estudiar la evolución de la microbiota durante el proceso de nixtamalización y producción de tortillas.

## 5. ANTECEDENTES

### 5.1 Maíz

El maíz es uno de los cereales más importantes del mundo, pues además de suministrar elementos nutritivos tanto a los seres humanos como a los animales, es una materia prima básica en la industria de la transformación, con la que se produce almidón, aceite, proteínas, bebidas alcohólicas, edulcorantes y recientemente combustible. Como alimento se puede usar todo el grano, maduro o no, o bien se puede procesar con técnicas de molienda en seco para obtener un número relativamente amplio de productos intermedios (harinas, sémolas o aceites) (**De Teresa et al., 2009**).

#### 5.1.1 Origen

El origen geográfico de este cereal no está claramente definido, ya que mientras algunos historiadores lo ubican en Asia otros lo ubican en México, específicamente en el Valle de Tehuacán, Puebla y al norte de Oaxaca. Las representaciones de plantas de maíz o partes de ellas en esculturas, códices y cerámica prehispánica, así como los estudios de fósiles indican que el maíz no sólo tuvo su origen geográfico en México, sino que también en México ocurrió su domesticación y posterior dispersión a otras regiones de América del Sur hace más de cinco mil años (**Reyes, C., 1990**).

#### 5.1.2 Importancia

El maíz es uno de los cereales más importantes del mundo, pues además de suministrar elementos nutritivos tanto a los seres humanos como a los animales, es una materia prima básica en la industria de la transformación, con la que se produce almidón, aceite, proteínas, bebidas alcohólicas, edulcorantes y recientemente combustible. Como alimento se puede usar todo el grano, maduro o no, o bien se puede procesar con técnicas de molienda en seco para obtener un número relativamente amplio de productos intermedios (harinas, sémolas o aceites) (**De Teresa et al., 2009**).



El maíz (*Zea mays L.*) representa la principal fuente alimenticia de México, Centroamérica, Venezuela, Colombia, China y África; donde su consumo *per cápita* anual es mayor de 50 kg. En Estados Unidos de Norteamérica y otros países se utiliza principalmente como alimento para animales y como materia prima para diversos usos industriales (**Ramírez B. y Ortega F., 1994**). A nivel mundial, este cereal representa 54% de las fuentes alimenticias de la población humana. En México el maíz es el alimento de mayor importancia, es una fuente energética importante en la dieta de los sectores mayoritarios de la población mexicana (**González, A., 1995**), es el componente más relevante de la producción agrícola ocupando este cultivo aproximadamente la mitad de la superficie destinada a la agricultura, por su volumen y valor de la producción (cuarta parte del valor de la producción agrícola), por ser la base de la dieta alimentaria de la mayoría de la población (aproximadamente para 15 millones de mexicanos representa el único medio de subsistencia), por ser el cultivo de mayor tradición social y cultural (2.6 millones de personas se dedican a la agricultura del maíz), y por dar ocupación a cerca de una quinta parte de la población económicamente activa y a más de una tercera parte de los agricultores existentes en el país.

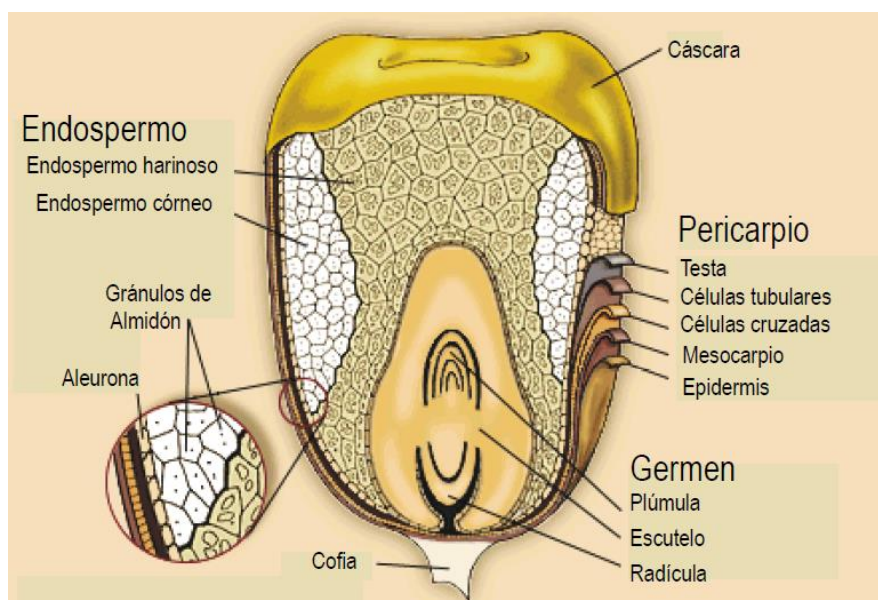
También su importancia radica en la gran diversidad de usos a que se destina y debido a un amplio desarrollo y trayectoria de múltiples encadenamientos entre industrias que procesan el maíz para uso alimentario y las industrias que utilizan solo partes para su uso no directamente alimentario (como la obtención de almidón *in natura*, derivados, y almidones modificados) (**Gordillo, A., 1990; INEGI, 1992**).

### **5.1.3 Estructura del grano de maíz**

Las variedades cultivadas fundamentalmente de maíz para alimentación comprenden el maíz dulce, reventador, dentado, harinoso y cristalino. El maíz harinoso es un grano con endospermo blando que se emplea como alimento en México, Guatemala y otros países de América. El maíz tipo dentado tiene un endospermo calloso y vítreo a los lados y el núcleo central es blando. El maíz de tipo cristalino posee un endospermo

grueso, duro, vítreo, con un centro pequeño; los maíces incluidos en esta conformación son: granuloso y amiláceo (FAO, 1993).

El grano posee cuatro estructuras principales: el pericarpio o cascarilla (5%) que protege a la semilla de la entrada de hongos y bacterias antes y después de la siembra, el endospermo (82%) que es una estructura de almacenamiento del grano que constituye su principal reserva energética, el germen o embrión (12%) y la piloriza o pedicelo (1%) que es un tejido inerte que une el grano al olote (FIG 1).



**FIG 1. Representación esquemática de las partes del grano de maíz.**  
(Colección FAO No. 25, 1993)

#### 5.1.4 Composición química del grano de maíz

Las partes principales del grano de maíz difieren considerablemente en su composición química (Tabla 1). La cubierta o pericarpio se caracteriza por un elevado contenido de fibra cruda, aproximadamente el 87%, la que a su vez está formada por hemicelulosa (67%), celulosa (23%) y lignina (0.1%) (Burge, R. y Duensing, W, 1989). El endospermo, en cambio contiene un nivel elevado de almidón (87%), aproximadamente 8% de proteínas y un contenido de grasas crudas realmente bajo.

**TABLA 1. Composición química proximal de las principales partes del grano de maíz (%)**  
**Watson, 1987.**

<b>Componente químico (%)</b>	<b>Pericarpio</b>	<b>Endospermo</b>	<b>Germen</b>
<b>Proteína</b>	3.7	8.0	18.4
<b>Extracto etéreo</b>	1.0	0.8	32.2
<b>Fibra cruda</b>	86.7	2.7	8.8
<b>Cenizas</b>	0.8	0.3	10.5
<b>Almidón</b>	7.3	87.6	8.3
<b>Azúcar</b>	0.34	0.62	10.8

#### *5.1.4.1 Almidón*

El almidón es el principal carbohidrato de reserva sintetizado por las plantas superiores, constituye una fuente de energía esencial para muchos organismos, especialmente el humano. Desde el punto de vista nutricional, el almidón es el principal componente de la dieta humana, el almidón representa una fracción importante en un gran número de productos agrícolas como los cereales (maíz, trigo, arroz) cuyo contenido de almidón está entre 30 y 80%, leguminosas (frijol, chícharo, haba) de 25 a 50% de almidón y tubérculos (papa, yuca) en los que el almidón representa entre un 60 a 90% de la materia seca (**Guilbot, A. y Mercier, C, 1985**).

El almidón está constituido esencialmente (98-99%) de un polímero de D-glucosa, aunque puede contener una serie de constituyentes en cantidades mínimas, estos aparecen a niveles tan bajos, que es discutible si son oligoconstituyentes del almidón o contaminantes no eliminados completamente en el proceso de extracción.

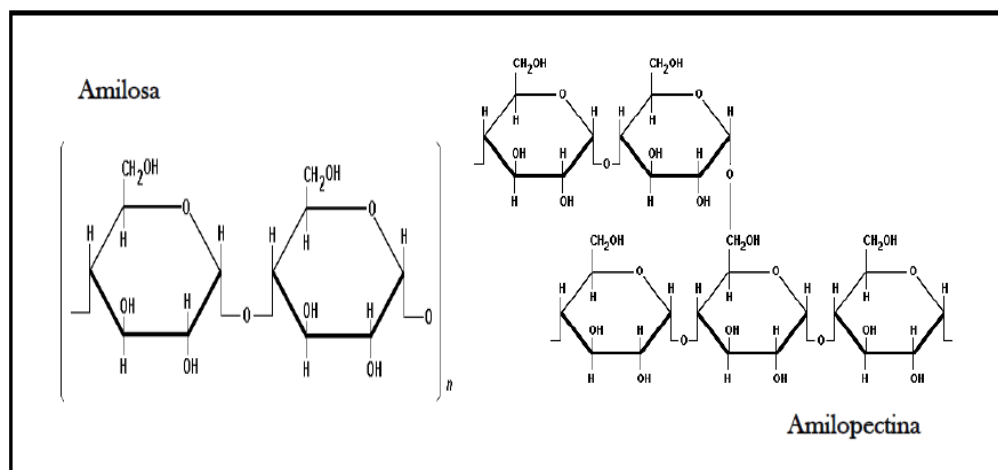
Los almidones de los cereales contienen pequeñas cantidades de grasas. Los lípidos asociados al almidón son, generalmente, lípidos polares, que necesitan disolventes polares tales como metanol-agua, para su extracción. Generalmente el nivel de lípidos en el almidón de cereal, está entre 0.5 y 1%. Mientras que los almidones que no son de cereales, no contienen esencialmente lípidos.

Dicho carbohidrato se encuentra organizado en agregados semicristalinos llamados gránulos, compuestos de polímeros de glucosa que son distintos estructuralmente: la amilosa (15-30%) y amilopectina (70-85%) (**Bello *et al.*, 1998**).

▪ **Amilosa:** es un polímero lineal de 200 a 2500 unidades de glucosa unidas mediante enlaces  $\alpha$ -(1-4) y pesos moleculares hasta de un millón; es decir es un  $\alpha$ -D-(1-4)-glucano cuya unidad repetitiva es la  $\alpha$ -maltosa (**Badui 1996**). Sin embargo, se ha demostrado la presencia de cierta cantidad de enlaces  $\alpha$ -(1-6) en esta macromolécula (**Curá *et al.*, 1995; Hood 1982**). Dichas ramificaciones se encuentran de manera espaciada e infrecuente, lo que permite observar que la amilosa se comporta como un polímero lineal (**Lineback, D. R. y Rasper, V. F., 1988**), el modelo simplificado de la estructura de la amilosa es típicamente ilustrada como una estructura de cadena lineal por motivos de simplicidad, porque en realidad tiene una estructura helicoidal. El interior de la hélice contiene los átomos de hidrógeno y debido a esto es susceptible a formar complejos con moléculas hidrófobas como yodo, ácidos grasos o hidrocarburos, en este tipo de complejos los grupos hidrofílicos de la cadena están orientados hacia el exterior y los hidrófobos hacia el interior de la cavidad (**Guilbot, A. y Mercier, C., 1985**).

▪ **Amilopectina:** es el otro componente del almidón, es un polímero ramificado formado por cadenas de residuos  $\alpha$ -D-glucopiranosidos unidos por enlaces  $\alpha$ -(1-4) y presentando entre 5-6% de enlaces  $\alpha$ -(1-6) en los puntos de ramificación. Los racimos de las cadenas constituyen la unidad básica de la macromolécula. Son definidos dos grupos principales de cadenas, nombradas cadenas A (insustituibles) y cadenas B (sustituibles por otras cadenas) (**Marchal *et al.*, 2001**). La cadena B forma la columna

de la molécula de amilopectina y se extiende sobre dos o más racimos. Cada racimo contiene de dos a cuatro cadenas A estrechamente asociadas. Los racimos asociados de cadenas A son principalmente responsables de las regiones cristalinas dentro del gránulo. Las áreas intercristalinas (amorfos) se presentan cada 0.6-0.7 nm y contienen la mayor cantidad de enlaces  $\alpha$ -(1-6) siendo relativamente susceptibles a los agentes hidrolíticos (ácidos y enzimas). En general, la molécula de amilopectina es de 1.0 a 1.5 nm de diámetro y de 12 a 40 nm de longitud (Bello *et al.*, 2002).



**FIG 2. Constituyentes del gránulo de almidón: amilosa y amilopectina**  
(Tester, F. y Karkalas, J., 2002)

#### 5.1.4.2 Proteínas

El grano de maíz presenta un bajo contenido de proteína. Además, éstas son consideradas de baja calidad nutricional ya que aproximadamente el 50% de ellas son zeína, una fracción protéica que no puede ser digerida por los animales monogástricos y también atribuido a que es deficiente en los aminoácidos esenciales para el consumo humano, específicamente, lisina y triptófano (Mertz, E. T., 1970).

Las proteínas constituyen aproximadamente 6-10% del grano y se localizan principalmente en el endospermo y el germen. Cuantitativamente las proteínas que predominan en el maíz son las prolaminas y en este grupo la principal es la zeína, la segunda fracción de importancia son las globulinas. Las prolaminas están concentradas en el endospermo y las globulinas y albúminas en el germen lo cual explica las

diferencias en la composición de aminoácidos entre las proteínas del endospermo y germen (**Bressani, R. y Scrimshaw, N. S., 1958**).

#### *5.1.4.3 Lípidos*

En general, el grano contiene 4.5% de lípidos y de este total, el 85% están presentes en el germen, el cual es la fuente comercial del aceite de maíz. Estos lípidos se encuentran principalmente como triglicéridos de ácidos grasos y constituyendo fosfolípidos, esteroides, tocoferoles y carotenoides (**Watson, A. y Ramstad, D., 1987**).

#### *5.1.4.4 Vitaminas y minerales*

Además de la vitamina A, el maíz contiene vitamina E y algunas vitaminas hidrosolubles: tiamina, piridoxina y niacina (**Inglett, G. E., 1970**). La niacina se encuentra en elevadas concentraciones (28 mg/kg de materia seca), aunque ésta se encuentra enlazada, de tal forma que se encuentra indisponible para los monogástricos. Sin embargo, el tratamiento alcalino en la nixtamalización la hace disponible (**Watson, A. y Ramstad, D., 1987**).

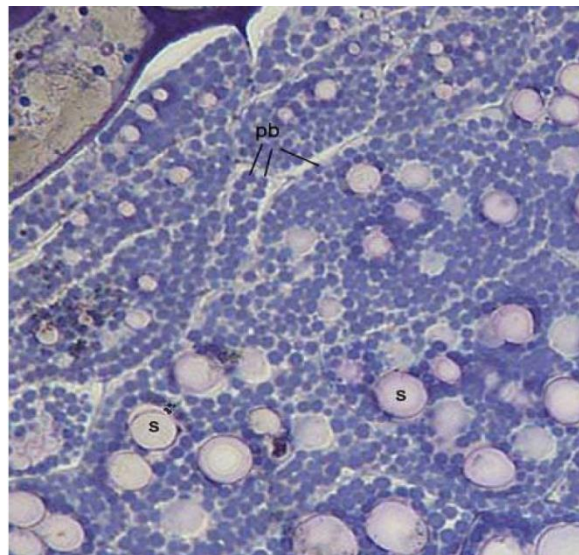
En el maíz, al igual que en otros cereales, los niveles de calcio, fósforo, potasio y magnesio son bajos. La mayor parte de los minerales se encuentran concentrados en el germen, representando el 78% total del grano. El elemento inorgánico más abundante es el fósforo, el cual se encuentra presente en 0.29% del grano seco; del cual más del 80% se encuentra almacenado como sal fósforo-magnesio del ácido fítico y es liberado por la enzima fitasa cuando se lleva a cabo el desarrollo embrionario. Otros elementos constituyentes son el potasio (0.37% del grano seco) y el azufre (en forma orgánica como componente de los aminoácidos azufrados metionina y cisteína).

#### *5.1.4.5 Fibra*

Diferentes polisacáridos juegan un papel importante en la estructura del grano de maíz. Estos pueden ser clasificados como sustancias pécticas, hemicelulosa y celulosa. Desde el punto de vista de ingestión humana, los componentes de pared celular más importantes son el pericarpio y el pedicelo, los cuales son fuentes importantes de fibra

dietética. El salvado (pericarpio de maíz) está compuesto de hemicelulosa (70%), celulosa (23%) y lignina (0.1%) (**Gordon, T. D., 1989**). La fibra dietética total incluye dos porciones diferentes: fibra insoluble y fibra soluble. La fibra insoluble incluye: celulosa, hemicelulosa y lignina. La fibra soluble de forma natural incluye pectinas, gomas y mucílagos.

En la **FIG 3** se puede observar una imagen por microscopía óptica del endospermo del maíz.



**FIG 3.** Micrografía por microscopía óptica del endospermo de maíz teñido con azul de toluidina.

**PB:** cuerpos protéicos, **S:** Gránulos de almidón.

(Colección FAO No. 25, 1993)

## **5.2 Nixtamalización: masa y tortilla**

En México la forma más importante de consumo del maíz es como tortilla, un alimento producido tanto para el hogar como a nivel industrial, utilizando hidróxido de calcio en forma de cal en la cocción del grano. Este proceso se conoce como nixtamalización y consiste básicamente en una operación de cocción alcalina y una de remojo y lavado del grano cocido. La tecnología de la nixtamalización permite transformar el maíz en tortilla.

En nuestro país la tortilla forma parte de la dieta de todos los estratos sociales, con un consumo per cápita de 120 Kg anuales, esto es, 328 g de tortilla por día. En las zonas urbanas se estima que la tortilla sola provee 38.8% de proteínas, 45.2% de calorías y 49.1% de calcio en la dieta diaria de la población en México, mientras que en las zonas rurales provee alrededor del 70% del total de calorías y el 50% de las proteínas ingeridas diariamente por la población (**Figueroa et al., 1994**).

### **5.2.1 El proceso de nixtamalización tradicional**

El maíz se somete a un tratamiento llamado nixtamalización, un proceso de antigüedad milenaria usado en México y en algunos países de América Central. Proviene de la palabra náhuatl “nextli” que significa cenizas o cenizas de cal, y “tamalli” que significa masa de maíz, y consiste en la cocción del maíz en agua adicionada con cal para lograr la gelificación de los almidones existentes en él y otorgar a la tortilla su flexibilidad y sabor característico (**De Teresa et al., 2009**).

En su forma tradicional, primero se hierve el maíz en agua en una proporción de 1:3 (peso: volumen) a la que se ha añadido 1-3% de cal, con lo cual se alcanza un pH que varía de 11 a 13. El tiempo de cocción, que fluctúa entre 20 y 40 minutos, depende de las variedades de maíz, pues las variedades de endospermo suave requieren menos tiempo que las de endospermo duro. La dureza del grano está dada por la composición y grosor del pericarpio, y de la relación de concentración de amilosa y amilopectina. Después de este corto tiempo de ebullición, se deja reposar de 10 a 14 horas. El agua de cocción llamada “nejayote”, se elimina y después el maíz se lava con agua para eliminar el exceso de álcali, y mejorar el sabor de la tortilla que de otra forma sería alcalino. El nejayote es un contaminante importante por su alta demanda biológica de oxígeno y su pH de aproximadamente 11. (**Badui, 1996**).

La adición de cal en las fases de cocción y de remojo contribuye a eliminar las cubiertas seminales del grano de maíz disminuyendo la cantidad de fibra en la masa y las tortillas elaboradas por este proceso (**Martínez, F. et al., 2001**).



### 5.2.2 Procesos alternativos de nixtamalización

Se han llevado a cabo diferentes investigaciones con la finalidad de hacer más eficiente el proceso de nixtamalización. Los primeros estudios científicos basados en aspectos fisicoquímicos y nutricionales del proceso de elaboración de la tortilla se realizaron en la década de los 50's del siglo pasado, cubrieron aspectos básicos del proceso tradicional tales como: disminución de las proporciones agua:maíz, la concentración de hidróxido de calcio, la temperatura de cocción, el tiempo de cocción y reposo; pero sin realizar cambios importantes al método tradicional de nixtamalización (**Vaqueiro, M. y Reyes, P., 1986**).

En trabajos recientes se ha probado que es posible obtener masa de maíz con buenas características para hacer tortillas empleando bajas temperaturas de nixtamalización. Se evaluó el proceso tradicional de nixtamalización a varias temperaturas en un rango de 50 a 90 °C con diferentes tiempos de cocción (5, 10 y 15 min) modificando el porcentaje de hidróxido de calcio (1, 1.5 y 2%) con distintos tiempos de reposo (7, 9 y 12 h). Al evaluar dichos parámetros se encontró que, a 60 °C, con un tiempo de reposo de 12 h y con hidróxido de calcio al 2% se logró obtener una masa de buena calidad para la elaboración de tortillas con un rendimiento de 1.750 kg por kilogramo de maíz. (**Ramírez-Romero y Ambriz-García, 2012**).

Por otro lado, se ha probado el uso de distintas sales de calcio para disminuir la contaminación ocasionada por el nejayote. **Veles-Medina, J. (2006)** patentó un proceso en donde se emplean sales o ácidos (sulfato de calcio, bicarbonato de calcio, carbonato de calcio, propionato de calcio u otras sales sódicas o ácidos débiles) que permiten abatir la contaminación de los sólidos solubles del nejayote sin alterar los rendimientos de harina, masa o tortillas, manteniendo la calidad y vida de anaquel del producto. Mientras que **Ruiz-Gutiérrez et al. (2012)** propusieron el uso de diferentes sales de calcio en una nixtamalización en dos etapas, evaluando las propiedades tanto químicas como térmicas de masa y tortillas, encontrando que las tortillas preparadas con lactato de calcio resultaron ser las mejor aceptadas y tiene mayores valores de fuerza de extensibilidad que las obtenidas por el método tradicional.

### 5.2.3 Características del proceso de nixtamalización

La transformación del maíz en tortilla requiere de un proceso en el que se utiliza agua, calor e hidróxido de calcio; estos tres elementos influyen directamente en la composición del maíz elaborado (nixtamal) da lugar a cambios en el contenido de nutrientes por la pérdida de sólidos (pericarpio, pérdidas estimadas entre un 10-23.9%) generadas por la destrucción de algunos elementos nutritivos y de la transformación de otros (**Bressani, R. y Scrimshaw, N. S., 1958**).

#### 5.2.3.1 Cambios fisicoquímicos que sufre el grano de maíz durante la nixtamalización

En el proceso de nixtamalización la cal debilita las paredes celulares del grano de maíz, facilitando la eliminación del pericarpio, solubiliza las paredes celulares del endospermo periférico, da lugar a una hinchazón y destrucción parcial de los gránulos de almidón (**Gómez et al., 1989**).

Durante la cocción del grano se originan reacciones bioquímicas importantes que modifican las características fisicoquímicas, microbiológicas, texturales y reológicas de la masa (**Rodríguez et al., 2005**). A diferencia de la masa de trigo, cuyas propiedades reológicas y texturales se deben principalmente a las modificaciones que sufren las proteínas que lo conforman, el mayor porcentaje de los cambios ocurridos durante la nixtamalización se debe a las modificaciones que sufre el almidón, principal componente del grano de maíz (72-78%) (**Arámbula et al., 2001**).

#### 5.2.3.2 Cambios en el almidón producidos durante la nixtamalización

El almidón presenta una amplia aplicación en la industria alimenticia debido a que proporciona propiedades de gran importancia.

- **Gelatinización.** Los gránulos de almidón son insolubles en agua fría, pero se hinchan cuando se calientan en un medio acuoso. Inicialmente el hinchamiento es reversible y las propiedades ópticas del gránulo no se pierden; sin embargo, cuando se alcanza una cierta temperatura el hinchamiento llega a ser irreversible y la estructura del gránulo se altera significativamente. La ruptura del orden molecular dentro del gránulo de

almidón se manifiesta en cambios de propiedades como hinchamiento granular, fusión del cristal nativo, pérdida de birrefringencia y solubilidad del almidón (**Boyer, D. C. y Shannon, C. J., 1987**).

**Biliaderis (1991b)**, postuló que son tres los procesos que constituyen el fenómeno de la gelatinización del almidón. Estos procesos están basados en la termodinámica de no-equilibrio: a) difusión de agua dentro de los gránulos de almidón, b) un proceso de fusión caracterizado por una transición hélice-enrollamiento que es facilitada por la hidratación y c) hinchamiento del gránulo como resultado de la desintegración de los cristales.

- **Gelación:** Después de la gelatinización o formación de pastas del almidón, las moléculas de amilosa y amilopectina pueden considerarse como "disueltas", durante el enfriamiento, la dispersión de almidón gelatinizado adquiere dependiendo de la concentración, una consistencia de pasta suave o gel (**Doublier L. J. y Choplin, L., 1989**). Cuando la pasta o gel se almacena por largos períodos de tiempo, las moléculas de amilosa presentan cierta tendencia fuerte a reasociarse a través de la formación de enlaces de hidrógeno con moléculas de amilosa adyacentes.

El grado de hinchamiento y desintegración del gránulo, al igual que la exudación de la amilosa, depende del tipo y concentración del almidón, temperatura, presencia de otros solutos y el corte o agitación aplicada durante el calentamiento (**Lineback, D. R. y Rasper, V. F., 1988**).

- **Retrogradación:** Si la pasta de almidón gelatinizado se enfría lentamente, las moléculas de amilosa tienen suficiente tiempo para alinearse de tal forma que varios enlaces de hidrógeno pueden formarse entre cadenas paralelas adyacentes (**Lineback, D. R. y Rasper, V. F., 1988**); este fenómeno se conoce como retrogradación, la cual se manifiesta por la formación de precipitados o geles y afecta a la textura, aceptabilidad y digestibilidad de los alimentos que contienen almidón. Como se ha mostrado, la retrogradación consiste de dos procesos: a) *gelación* de las moléculas de amilosa exudadas del gránulo durante la gelatinización y b) *recristalización* de la amilopectina (**Biliaderis, 1991a**).

A pesar de que la amilosa y la amilopectina están sujetas a la retrogradación, parece ser que la amilopectina es la molécula que más influye en los cambios que se suscitan en los alimentos que contienen almidón cuando se almacenan (**Biliaderis y Prokopowich, 1994**). Evidencias sobre este comportamiento fueron encontradas por **Paredes et al. (1989)** reportando que en el caso de los almidones cerosos la entalpía de retrogradación incrementó al aumentar el tiempo de almacenamiento, no siendo el caso del almidón de maíz normal, el cual mostró una disminución en dicha entalpía. La retrogradación es un proceso complejo y depende de muchos factores, como el tipo y concentración de almidón, regímenes de cocimiento y enfriamiento, pH y la presencia de solutos como lípidos, sales y azúcares. Se ha reportado que los monoacil lípidos retardan la retrogradación, pero el efecto de los azúcares y las sales es más complejo y no se conoce muy bien (**Biliaderis y Prokopowich, 1994**).

#### 5.2.3.4 Composición del nejayote

El nejayote contiene altas concentraciones de materia orgánica disuelta, parte del pericarpio, endospermo, hemicelulosa, carbohidratos, celulosa, proteína, así como carotenoides responsables de la coloración amarilla (**Gutiérrez-Urbe et al., 2010; Ramírez-Romero et al., 2013**), y el hidróxido de calcio utilizado en el proceso lo hace un residual altamente alcalino (pH 12). En la tabla 2 se reporta la composición proximal del nejayote procedente de un proceso tradicional de nixtamalización.

**TABLA 2. Composición química proximal<sup>1</sup> del nejayote y sus sólidos (%)**  
(Velasco-Martínez et al., 1997)

<b>Componente químico</b>	<b>Nejayote (%)</b>	<b>Sólidos Secos (%)</b>
<b>Humedad</b>	97.85	7.04
<b>Proteína</b>	7.42	5.11
<b>Fibra cruda</b>	22.77	19.29
<b>Extracto etéreo</b>	1.48	0.81
<b>Extracto libre de N</b>	55.67	52.45

<b>Cenizas</b>	12.66	23.15
<b>Calcio</b>	13.13	13.06
<b>Fosforo</b>	---	1.94

1. Porcentaje base seca

#### 5.2.4 Caracterización textural de masa de maíz nixtamalizado

La textura es un factor de aceptabilidad sensorial importante para la aprobación de algunos alimentos por parte del consumidor. Las propiedades texturales de un alimento son el grupo de características físicas que dependen de los elementos estructurales del material y se relacionan con la deformación, desintegración y flujo por la aplicación de una fuerza. La masa es un material viscoelástico muy sensible a la deformación. Cuando la masa se somete a fuerzas externas, los entrecruzamientos físicos y los puentes químicos débiles que sostienen los constituyentes de la masa se pueden romper y reorganizar, permitiendo su relajamiento, parcial o completo. (Steffe, 1992).

Una propiedad textural muy importante durante el procesamiento y la transformación de las masas es la pegajosidad, la cual se define como la fuerza de adhesión que resulta cuando dos superficies se ponen en contacto (Rodríguez-Sandoval *et al*, 2005).

Existen distintos métodos para determinar las propiedades texturales y reológicas de los alimentos, los cuales se pueden clasificar en objetivas, las que se realizan con instrumentos, y subjetivas, las que efectúan personas. Las pruebas objetivas pueden dividirse en directas, que miden las propiedades texturales reales de los materiales, e indirectas, que se correlacionan bien con una o más propiedades texturales. Las pruebas subjetivas se pueden clasificar en orales y no orales. Las pruebas objetivas directas generalmente se han dividido en fundamentales, empíricas e imitativas; siendo esta última de las más utilizadas, ya que estas pruebas imitan las condiciones a las cuales se somete el material en la práctica y se pueden considerar como una clase de pruebas empíricas. Un ejemplo de prueba imitativa es el análisis de perfil de textura (con siglas en inglés TPA), que se puede efectuar utilizando un equipo universal de ensayos Instron, un analizador de textura (TA-XT2), o un G. F. Texturómetro. El



**Limanond *et al.* (1999)** evaluaron el efecto del empaque y tiempo de reposo sobre la estabilidad de masas de maíz utilizadas para elaborar tortillas, mediante ensayos de compresión con un analizador de textura.

**Sahai *et al.* (2001)** investigaron la relación entre las características texturales (firmeza, pegajosidad, cohesividad y gomosidad) de la masa y las propiedades funcionales y fisicoquímicas de sus componentes (cristalinidad del almidón, relación amilosa/amilopectina, curvas de empastamiento, tamaño de partícula de la harina).

### **5.2.5 Caracterización textural de tortillas de maíz nixtamalizado**

Entre las pruebas que pueden ser utilizadas para caracterizar o monitorear las características de calidad en las tortillas, se encuentran determinaciones objetivas como son la textura, rollabilidad, punción y extensibilidad, que tratan de simular lo que sucede con los alimentos cuando son consumidos o durante su manipulación en el transporte y manejo, determinaciones para las cuales se dispone de equipos como los texturómetros universales.

La textura es el conjunto de propiedades reológicas y de estructura (geométrica y de superficie) de un producto, perceptibles por receptores mecánicos, táctiles y en ciertos casos visuales y auditivos (**ISO 5492, 1992**).

El análisis objetivo de textura (instrumental) ofrece datos cuantificables, repetibles y precisos de las propiedades físicas de productos alimenticios y químicos. Es un procedimiento muy establecido en la investigación y una herramienta de gran valor en la búsqueda de métodos mejorados para el control de calidad. Los analizadores de textura se utilizan para medir muchas propiedades de una gran cantidad de productos, como la dureza, fracturabilidad, adhesividad y resistencia (**Szczesniak, 1987**). Las técnicas imitativas se desarrollan bajo condiciones que simulan las que se utilizan en la práctica y existen instrumentos que pueden medir las propiedades del material durante la manipulación (**De Hombre y Díaz, 2001**).

### 5.2.5.1 Rollabilidad

La determinación de rollabilidad se encarga de medir la fuerza requerida para enrollar una tortilla alrededor de un cilindro de acrílico. Históricamente el enrollar una tortilla en forma de taco es una de las pruebas subjetivas que se han aplicado para evaluar la calidad de la tortilla. A nivel de laboratorio, y tratando de establecer alguna medida que controle o monitoree la calidad de las tortillas durante el almacenamiento, se estableció una técnica subjetiva en la cual la tortilla se enrolla alrededor de un cilindro de acrílico de 1 cm de diámetro de forma manual y se evalúa el grado de rompimiento en una escala hedónica que va de 1 a 5 (Bedolla, S., 1984). La determinación de rollabilidad mediante la aplicación de un analizador de textura trata de estandarizar el procedimiento de rollabilidad y obtener datos de manera objetiva, que sean cuantificables y reproducibles, obteniéndose parámetros como fuerza de rollabilidad (fuerza máxima), así como el área bajo la curva (Trabajo, W) (FIG 5) (Suhendro, 1998).

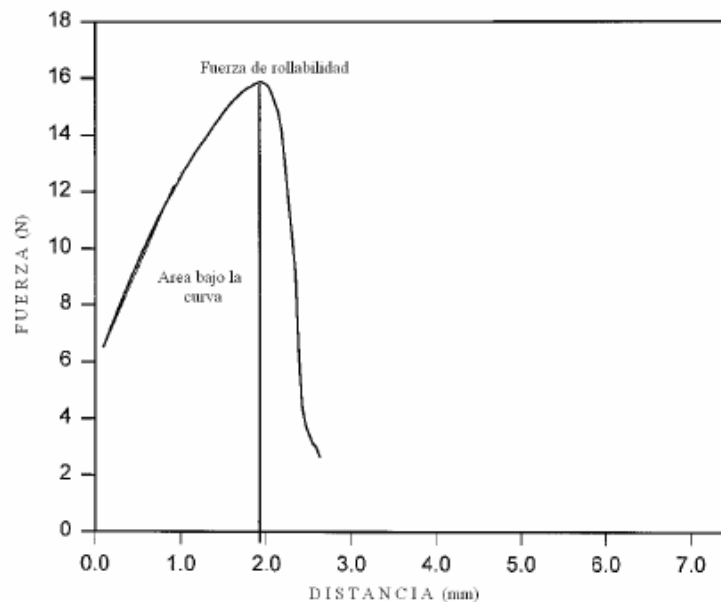


FIG 5. Curva de fuerza vs distancia, al realizar determinaciones de rollabilidad, utilizando un texturómetro TA.XT2i. (Suhendro *et al.*, 1998)



### 5.2.5.2 Extensibilidad

Durante la aplicación de la prueba de extensibilidad, se trata de simular la manipulación a la que se somete la tortilla durante su consumo; se determinan las propiedades de elasticidad y firmeza de las tortillas, las cuales se asocian con un producto recién elaborado (suave y flexible) o que ha sido sometido a un proceso de almacenamiento (Suhendro *et al.*, 1999). Simula la fuerza al rasgado de la tortilla con las manos.

La curva de deformación (FIG 6) se puede obtener al realizar deformaciones de extensibilidad, donde se miden parámetros como la distancia de extensibilidad, fuerza máxima de ruptura (fuerza máxima en la que se provoca la fractura de la tortilla), módulo de elasticidad (pendiente inicial de la curva de fractura) y trabajo (área bajo la curva desde el tiempo cero hasta la fuerza máxima de ruptura) (Suhendro *et al.*, 1999).

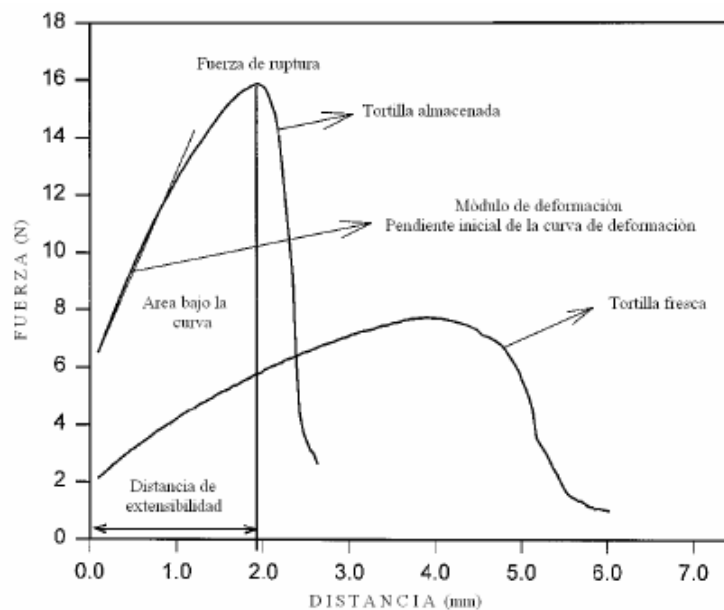


FIG 6. Curvas de deformación de tortillas frescas y tortillas almacenadas en determinaciones de extensibilidad (Suhendro *et al.*, 1999).

### 5.3 El color en la industria de los alimentos

El color no es solamente un fenómeno psíquico o psicológico, sino el resultado de la evaluación de la energía radiante (magnitud física) en términos de una correlación visual (psicológica) y está basada en las propiedades del ojo humano (fisiológicas). Un

color puede ser descrito subjetivamente por la experiencia del observador u objetivamente, de acuerdo a su longitud de onda. Así, la luz roja tiene una longitud de onda ( $\lambda$ ) de alrededor de 680 nm; el color anaranjado de unos 590; la amarilla alrededor de 575; verde 520; azul 480 y violeta 450; todas ellas comprendidas en la llamada luz blanca tal como fue demostrado por Newton al hacerla pasar a través de un prisma.

En la industria de alimentos en particular, el color juega un importante papel en el proceso de aseguramiento de la calidad. De hecho, la apariencia y dentro de ella el atributo “color” es económicamente tan importante que ha dado origen a una ciencia y a toda una línea de equipamientos para lograr hacer mediciones objetivas pasando por los estudios y metodologías destinados a entrenar al mejor sensor: el hombre.

En el año 1971 la Comisión Internacional de Iluminación (CIE) propuso un nuevo espacio cromático para transformaciones no lineales del sistema CIE 1931 al que se denomina CIE  $L^*a^*b^*$ , y fue aprobado en 1976 como una buena aproximación de un espacio de color uniforme. Posteriormente, con el objetivo de lograr un espacio de color más uniforme han sido propuestas modificaciones como el sistema CIE Luv y CIE  $L'u'v'$ .

En el sistema CIE LAB se define un espacio de coordenadas rectangulares ( $L^*, a^*, b^*$ ) y otro en coordenadas cilíndricas ( $L^*, C^*, H_o$ ) también conocidos como parámetros de color psicométrico. Para la evaluación de un color diseñaron un círculo cromático con los colores alrededor de la circunferencia (similar al anillo de Munsell). Sobre él descansan dos ejes perpendicularmente entre sí ( $a^*, b^*$ ) graduados de 0-60 (en el gráfico) aunque en la realidad pueden alcanzar cualquier valor mayor que cero en dependencia de la saturación y el tono de que se trate. Perpendicular al plano  $a^*, b^*$  y en su centro, se encuentra un eje  $L^*$  que representa la luminosidad desde el negro ( $L^* = 0$ , abajo) al blanco ( $L^* = 100$ , arriba) (**FIG 7**).

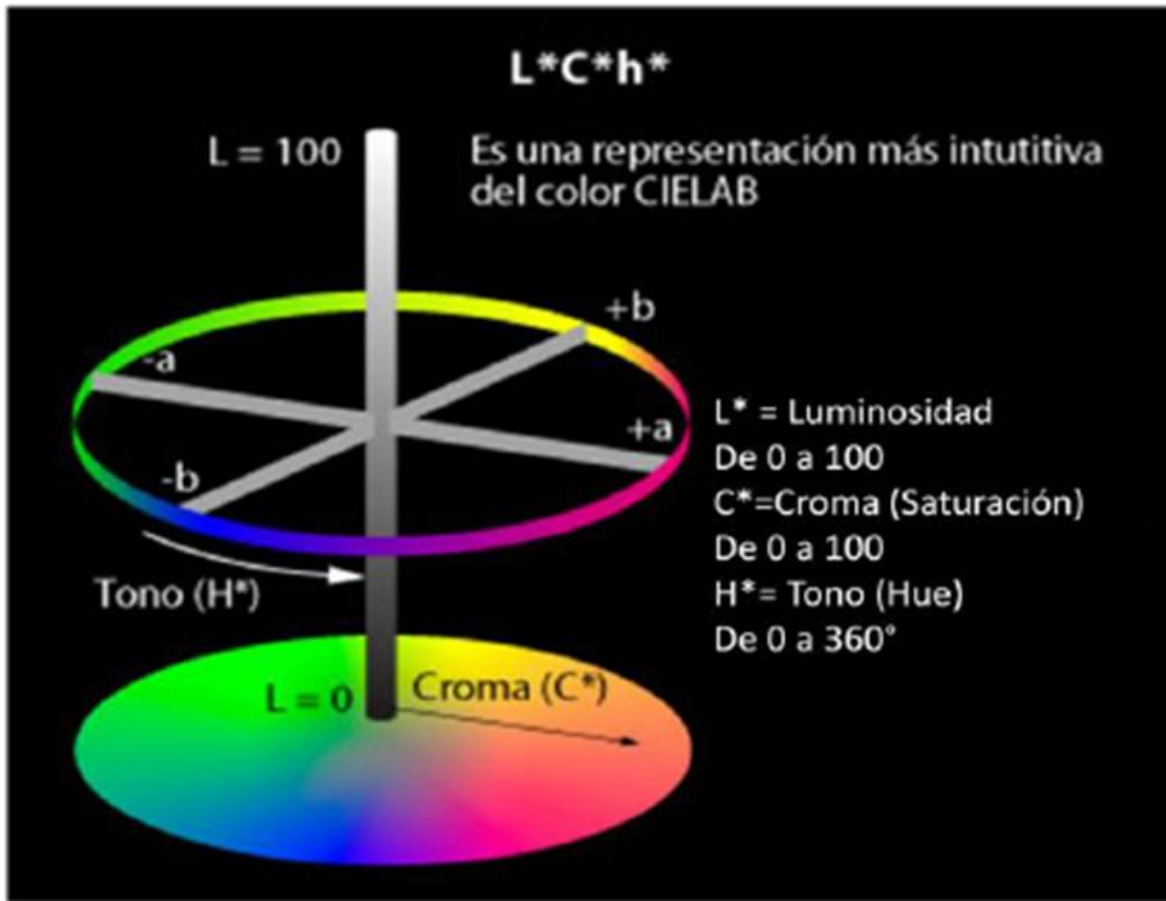


FIG 7. Diagrama representativo del sistema CIELCH

### 5.3.1 Diferencia de color ( $\Delta E$ )

Las diferencias de color son extremadamente útiles, pero a menudo deben emplearse con algún otro parámetro para indicar la dirección de la diferencia.

El sistema Hunter Lab es el primero que utiliza el espacio euclidiano para determinar la diferencia de color total entre dos muestras a través del cálculo de  $\Delta E$  (EC. 1).

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (\text{EC. 1})$$

Esta ecuación se cumple además para los sistemas  $L^*a^*b^*$  y  $L'u'v'$ , lo cual los hace más ventajosos con respecto a los existentes hasta ese momento.

## **5.4 Microbiología del maíz**

La microbiota de la masa de maíz y las tortillas pueden tener su origen en el suelo, en el medio ambiente del almacén, en la fase de cocción y reposo, así como en la manipulación y traslado a los diferentes expendios. El hecho de que estos productos sean ricos en proteínas y carbohidratos, los hace factibles de ser atacados por microorganismos dada su actividad acuosa ( $a_w \approx 0.65-0.70$ ).

Debido al mal almacenamiento y a los tiempos prolongados de este, el grano del maíz puede ser contaminado con hongos, los cuales producen aflatoxinas, siendo estas tóxicas para el ser humano (**García y *et al.*, 2001**).

Hay muy pocos estudios que nos hablen de la microflora tanto del maíz como durante el proceso de nixtamalización (**FAO, 1993; Chávez *et al.*, 1992**). **Sefa *et al.*** en el 2004 reportaron la presencia de bacterias ácido lácticas, mesófilos aerobios y levaduras en la masa de maíz.

Dentro de esta microbiota se pueden encontrar bacterias coliformes, que son perjudiciales en los alimentos ya que su presencia, se considera como signo de contaminación por desperdicios cloacales y, por lo tanto, posiblemente por bacterias enteropatógenas. Estas bacterias crecen en cualquier tipo de sustrato y pueden causar sabores anormales y desagradables en el alimento.

También se pueden encontrar algunos microorganismos patógenos, especialmente los que causan infecciones respiratorias que pueden llegar por medio del aire a los empleados y a los mismos alimentos, al igual que las esporas de los hongos que se transmiten por aire pueden ocasionar problemas importantes, ya sea por razones sanitarias o económicas.

### **5.4.1 Identificación de microorganismos por técnicas moleculares**

Los microorganismos son muy importantes para el humano dado que son benéficos para su salud o bien patógenos. Dado lo anterior se han desarrollado una serie de metodologías para poder diferenciar un microorganismo de otro, y para poderlos identificar. Estas metodologías se han basado tradicionalmente en la observación de los síntomas que presentan los hospederos, en la observación macro o microscópica del microorganismo o bien de las estructuras reproductivas de los microorganismos, del

desarrollo del patógeno en un medio de cultivo específico, de la tinción producida al aplicar algunos colorantes sobre el tejido infectado, o bien sobre el patógeno y la reacción de un anticuerpo a la presencia de un patógeno. Estas metodologías son buenas en algunos casos, pero deficientes en otros casos por lo que en las últimas tres décadas se han desarrollado técnicas moleculares de detección e identificación de microorganismos las cuales se basan en el análisis de los ácidos nucleicos extraídos de los microorganismos en forma directa o bien de una muestra conteniendo el microorganismo en cuestión (**Rodríguez *et al.*, 2009**).

Dentro de las ventajas de las técnicas moleculares de detección se encuentran:

- Especificidad porque pueden detectar solo la molécula o microorganismo de interés.
- Sensibilidad ya que son capaces de detectar la presencia de un solo microorganismo.
- Rapidez dado que se puede identificar un microorganismo en menos de 24 horas.
- Pueden ser automatizadas lo cual permite tener un diagnóstico en un menor tiempo y reducir los costos.
- Permite identificar nuevos microorganismos, los cuales no había sido posible su cultivo e identificación por técnicas tradicionales (**Jan y LeBorgne, 2001**).
- Permiten estudiar las poblaciones microbianas sin hacer aislamientos, evitando los sesgos que pueden surgir con el cultivo de microorganismos (**Chan *et al.*, 2002**).

Algunas de las desventajas que presentan las técnicas moleculares son:

- No distinguen entre organismos vivos y muertos.
- Se tiene que contar con conocimientos de secuencias de nucleótidos específicas del microorganismo a diagnosticar.
- Se requiere de personal altamente capacitado para el desarrollo de las pruebas de identificación.

- Se requiere de equipo específico para el diagnóstico.
- Se desarrollan procedimientos con múltiples etapas, lo que incrementa la posibilidad de errores, además de la posibilidad de obtener falsos positivos y falsos negativos. (Ayala *et al.*, 2004).

Existen distintas técnicas moleculares empleadas para la identificación de microorganismos.

#### *5.4.1.1 Reacción de cadena de la Polimerasa (PCR)*

La PCR es la técnica más utilizada para la detección de microorganismos y su finalidad es la ampliación de un determinado fragmento de ADN en varios órdenes de magnitud, obteniendo así un elevado número de copias.

De manera general, la PCR consta de tres pasos:

1. Desnaturalización: Al aplicar calor en presencia de un buffer adecuado, la doble cadena de ADN se desnaturaliza.
2. Alineamiento: Los primers o cebadores, que son oligonucleótidos sintetizados artificialmente, se unen a secuencias colindantes de la región a amplificar. Cada primer tiene una temperatura específica de alineamiento, que es inferior a la de desnaturalización.
3. Polimerización: Se aumenta la temperatura nuevamente para que la ADN polimerasa pueda sintetizar una nueva cadena de ADN, uniéndose al primer correspondiente y emparejando los desoxirribonucleótidos trifosfato (dNTPs) con su complementario en la cadena molde de DNA. Finalizada la síntesis de la hebra complementaria, el proceso se repite tantas veces como se requiera para obtener el número de copias necesarias.

#### *5.4.1.2 Electroforesis en Gel de Gradiente Desnaturalizante (DGGE)*

Es posible combinar la PCR con otras técnicas, como lo es la DGGE (del inglés: “Denaturing Gradient Gel Electrophoresis”), que es un tipo de electroforesis que permite la separación de fragmentos de ADN del mismo tamaño, pero con diferente

secuencia de nucleótidos. Para ello, un gradiente lineal creciente de agentes químicos desnaturizantes del ADN (una mezcla de urea y formamida) se incorpora a lo largo de un gel de poliacrilamida. Durante la electroforesis, se mantiene una temperatura constante de 50-65 °C y los fragmentos de ADN de doble cadena migran por el gel hasta encontrar una determinada concentración de urea y formamida (concentración desnaturizante) a la cual las cadenas se separan localmente y el desplazamiento de las moléculas disminuye o se interrumpe. La concentración desnaturizante a la cual las cadenas se separan depende de la secuencia de nucleótidos, es decir, del contenido de dobles o triples puentes de hidrógeno dependiendo de si son pares de bases adenina-timina o citosina-guanina (**Myers *et al.*, 1987**). Así, fragmentos de ADN con secuencias nucleotídicas diferentes tendrán diferentes posiciones en el gel.

## 5.5 BIBLIOGRAFÍA

- Arámbula-Villa, G., González-Hernández y Ondorica-Falomir, C. A. (2001). Physicochemical, structural and textural properties of tortillas from extruded instant corn flour supplemented with various types of corn lipids. *Journal of Cereal Science*. 33, 245-252.
- Ayala-Labarríos, L.A., Rodríguez-Herrera, R., Aguilar-González, C. N., Lara-Victoriano, F. y Quero-Carrillo, A. R. (2004). Detección de *Clavibacter michiganensis subsp. nebraskensis* usando la reacción en cadena de la polimerasa. *Revista Fitopatología Mexicana*. 22(2), 239-245.
- Badui Dergal, S. *Química de los Alimentos*. (1996). Ed. Pearson Educación, 3ª edición. México, DF. Pág. 227-229.
- Bedolla S. (1984). *Development and characterization of an instant tortilla flour from sorghum and maize by infrared cooking (micronizing) and extrusion cooking*. Ph.D. Dissertation, Texas A&M University, College Station, TX.
- Bello, L., Osorio, P., Agama, E., Nuñez, S. y Paredes, O. (2002). Propiedades Químicas y Fisicoquímicas y Reológicas de masas y harinas de maíz nixtamalizadas. *J Agrociencia*. 36, 319-328.
- Bello, P., De León, Y., Agama, E. y Paredes, O. (1998). *Starch/Starke*. 50: 409.
- Biliaderis, C. G. (1991a). The structure and interactions of starch with food constituents. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 69, 60-78.
- Biliaderis, C. G. (1991b). Non-equilibrium phase transitions of aqueous starch systems. In *Water Relationships in Foods*. Eds. H. Levine y L. Slade. Plenum Press, New York. Pág. 251-273.
- Biliaderis, C. G. y Prokopowich D. J. (1994). Effect of polyhydroxy compounds on structure formation in waxy maize starch gels: a calorimetric study. *Carbohydrate Polymers*. 23, 193-202.
- Boyer, D. C. y Shannon, C. J. (1987). Carbohydrates of the kernel. Cap. 8. In: *Corn Chemistry and Technology*. Eds. (Watson, S. A. and Ramstand, P. E.) American Association of Cereal Chemists, Inc, St. Paul. Min.



- Bressani, R. y Scrimshaw, N. S. (1958). Effect of lime treatment on in vitro availability of essential amino acids and solubility of protein fractions in corn. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 6(10), 770-773.
- Burge, R. y Duensing, W. (1989). Processing and dietary fiber ingredient applications of corn bran. *Cereal Foods World*. 34, 535-538.
- Cámara Nacional del maíz industrializado. (2003). Principales cultivos en México, estimación y oferta de maíz en México.
- Chan, O. Ch., Wolf, M., Hepperle, D. y Casper, P. (2002). Methanogenic archaeal community in the sediment of an artificial partitioned acidic bog lake. *FEMS Microbiology Ecology*. 42, 119-129.
- Chávez, H. (1996). Determinación y caracterización de microorganismos presentes en la masa para tortilla de maíz en tortillerías de Saltillo, Coahuila. Facultad de Ciencias Químicas de la UA de C.
- Curá, J. A., Jansson, P. E. y Krisman, C. R. (1995). Amylose is not strictly linear. *Starch/Stärke*. 47, 79-114.
- De Hombre, M. y Díaz, A. (2001). Textura de sólidos y semisólidos. Cap. 1.6. En: *Métodos para medir propiedades físicas en industrias de alimentos*. Alvarado J y Aguilera. Ed. Acribia. Zaragoza, España.
- De Teresa, O., Viniegra, G. (2009). Temas selectos de la cadena Maíz-Tortilla, Un enfoque multidisciplinario. Ed. Universidad Autónoma Metropolitana, México. Pág.143-170.
- Doublier, L. J. y Choplin, L. (1989). A rheological description of amylose gelation. *Carbohydrate Research*. 193, 215-226.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). (1993). El maíz en la nutrición humana.
- Figueroa, J., Martínez, B., González, H., Sánchez, S., Martínez, J. y Ruiz, M. (1994). Modernización tecnológica del proceso de nixtamalización. *Avance y Perspectiva*. 13, 323-329.

- García, G., Martínez, R. y Melgarejo, J. (2001). Inspección para aflatoxinas en el maíz almacenado o transportado en Sonora, 1998: Informe técnico. *Anales del Instituto de Biología, UNAM, Serie Botánica*. 72(2), 187-1993.
- Gómez, M. H., Donough, C. M., Rooney, L. W. y Waniska, R. D. (1989) Changes in corn and sorghum during nixtamalization and tortilla gaking. *Journal Food Science*. 54, 330-336.
- González, A. (1995). *El maíz y su conservación*. Ed. Trillas. México. D.F.
- Gordillo, A. (1990). La industrialización y comercialización de maíz en México. El maíz en la década de los 90. Ayuntamiento de Zapopan, Jalisco, México. Pág. 261-274.
- Gordon, T. D. (1989). Functional properties vs physiological action of total dietary fiber. *Cereal Foods World*. 34(7):517-525.
- Hood, L. (1982). Current concepts of starch structure: Cap. 13. In *Food Carbohydrates*. Lineback D.R. and Inglett, G.E. (Eds) AVI Publishing Inc. Westport. CT, EUA.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática). (1992). Abasto y comercialización de productos básico. México.
- Inglett, G. E. (1970). *Corn: culture, processing, products*. Ed. AVI Publishing Company, Inc., London, Eng.
- ISO 5492. (1992). Sensory Analysis. Vocabulary. International standard
- Guilbot, A. y Mercier, C. (1985). Starch. In *The Polysaccharides*, Ed. O. Aspinall. Academia Press, New York. Pág. 209-282.
- Gutiérrez-Urbe, J. A., Rojas-García, C., García-Lara, S. y Serna-Saldivar, S. O. (2010). Phytochemical analysis of wastewater (nejayote) obtained after lime-cooking of different types of maize kernels processed into masa for tortillas. *Journal of Cereal Science*. 52, 410-416.
- Jan, J. y LeBorgne, S. (2001). Uso de técnicas moleculares para realizar estudios de biodiversidad microbiana en ambientes petroleros. *BioTecnología*. 5(3), 103-109.

- Limanond, B., Castell, E. y Moreira, R. (1999). Effect of time and storage conditions on the rheological properties of masa for corn tortillas. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*. 32, 344–348.
- Lineback, D. R. y Rasper, V. F. (1988). Wheat Carbohydrates. In *Wheat: Chemistry and Technology*, Vol. 1, Ed. Y. Pomeranz. American Association of Cereal Chemists. Inc. St. Paul Minnesota. Pág. 277-372.
- Marchal, L., Zordenvan, J., Bergsma, J., Beeftink, H. y Tramper, J. (2001). Montecarlo simulation of alfa amylolysis of amylopectin of amylopectin potato starch. Part 1: modelling of the structure of amylopectin. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 23, 163-170.
- Martínez, F., Martínez, H., Sanmartín, E., Sánchez, F., Chang, Y., Barrera, D. y Ríos, E. (2001). Effects of the components of maize on the quality of masa and tortilla during the traditional process. *Journal Science Food Agric*. 81, 1455–1462.
- Mertz, E. T. (1970). Nutritive value of corn and its products. Cap. 18. In: *Corn: Culture Processing Products. Mayor feed and food crops in agriculture and food series*. G. E. Inglett (Ed). The AVI publishing. Co. Inc. Wesport Connecticut, USA.
- Myers, R. M., Maniatis, T. y Lerman, L.S. (1987). Detection and localization of single base changes by denaturing gradient gel-electrophoresis. *Methods in Enzymology*. 155, 501-527.
- Paredes, O., Schevenin, M., Hernández, D. y Cárabez, A. (1989). Amaranth starch isolation and partial characterization. *Starch/Stärke*. 41, 205-207.
- Paredes López, O., Guevara Lara, F. y Bello Pérez, L. A. (2009). La nixtamalización y el valor nutritivo del maíz. *Ciencias*. 92, 60-70.
- Ramírez, B. y Ortega, F. (1994). Evaluación de las propiedades reológicas de la masa y tortillas comerciales. *Revista de Ciencias Alimentarias*. 2(1), 1-8.
- Ramírez-Romero, G. y Ambriz-García, J. J. (2012). Proceso de nixtamalización a bajas temperaturas. Patent Pending DAJ 366.12.DPI.

- Ramírez-Romero, G., Reyes-Velazquez, M. y Cruz-Guerrero, A. (2013). Estudio del nejayote como medio de crecimiento de probiótico y producción de bacteriocinas. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 12(3), 463-471.
- Reyes, C. (1990). El maíz y su cultivo. Ed. AGT Editor. 1a. edición. México, D.F.
- Rodríguez, E., Fernández, A. y Ayala, A. (2005). Reología y textura de masas: aplicaciones en trigo y maíz. *Ingeniería e Investigación*. 25(1), 72-78.
- Rodríguez, R., Aguilar, C., Ayala, L., Rocha, J., Padilla, V. y Espinosa, T. (2009). Detección de microorganismos mediante métodos moleculares. *Acta Química Mexicana*. 1(1), 85-92.
- Ruiz-Gutiérrez, M. G., Quintero-Ramos, A., Méndez-Pizarro, C. O., Talamás-Abbud, R., Barnard, J., Márquez-Melendez, R. y Lardizábal-Gutiérrez, D. (2012). Nixtamalization in two steps with different calcium salts and the relationship with chemical, texture and thermal properties in masa and tortilla. *Journal of Food Engineering*. 35, 772-783.
- Sahai, D., Buendía, M. y Jackson, D. (2001). Analytical techniques for understanding nixtamalized corn flour: Particle size and functionality relationships in a masa flour simple. *Cereal Chemistry*. 78(1), 14-18.
- Sefa-Dedeh, S., Cornelius, B., Amoa-Awua, W., Sakyi-Dawson, E. y Ohene Afoakwa, E. (2004). The microflora of fermented nixtamalized corn. *International Journal of Food Microbiology*. 96, 97-102.
- Steffe, J. F. (1992). Rheological methods in food process engineering. 2a Edition, Freeman Press. East Lansing, USA.
- Suhendro, E. L., Almeida-Dominguez, H. D., Rooney, L. W. y Waniska, R. D. (1998). Objective rollability method for corn tortilla texture measurement. *Cereal Chemistry*. 75, 320-324.
- Suhendro, E., Almeida, L., Rooney, K., Waniske, R. y Moreira, R. (1999). Use of extensibility to measure corn tortilla texture. *American Association of Cereal Chemists*. 76, 536-540.

- Szczesniak, A. (1987). Correlating sensory with Instrumental texture measurements-an overview of recent developments. *Journal Texture Studies*. 15, 181-186.
- Tester, F. y Karkalas, J. (2002). Starch. In: Biopolymers, Polysaccharides II: Polysaccharides from Eukaryotes, Vol. 6. Ed. Wiley-VCH, Weinheim, Germany. Pág. 381-438.
- Vaqueiro, M. y Reyes, P. (1986). Process for producing nixtamalized corn flour. Patent 4594260.
- Velasco-Martínez, M., Angulo, O., Vazquez-Couturier, A., Arroyo-Lara, A. y Monroy-Rivera, A. (1997). Effect of dried solids of nejayote on broiler growth. *Poultry Science*. 76, 1531-1534.
- Veles-Medina, J. (2006). Proceso ecológico de nixtamalización para la producción de harinas, masa y tortillas integrales. Patente MX PA05011797 A.
- Watson, A. y Ramstand, D. (1987). Structure and composition. In *Corn: Chemistry and Technology*. Ed. Published by the American Association of Cereal Chemists, Inc. St Paul. MN.

## 6. EFECTO DE LA TEMPERATURA DURANTE EL PROCESO DE NIXTAMALIZACIÓN SOBRE LA HIDRATACIÓN DEL MAÍZ Y LAS PROPIEDADES TEXTURALES DE MASA Y TORTILLAS

R.A. PEÑA-REYES, G.A. RAMÍREZ-ROMERO, F.J. FERNÁNDEZ-PERRINO and A.E. CRUZ-GUERRERO. EFFECT OF NIXTAMALIZATION PROCESSING TEMPERATURE ON MAIZE HYDRATION AND THE TEXTURAL PROPERTIES OF MASA AND TORTILLAS.

### 6.1 INTRODUCCIÓN

La nixtamalización es un proceso antiguo mediante el cual el maíz se lleva a cocción en solución de hidróxido de cal ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) en México y Centroamérica. En la actualidad, la cocción del maíz se lleva a cabo a 90 °C en presencia de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , seguido de remojo, durante 10 a 14 h, después se lava y se muele para obtener masa y tortillas (**Martínez-Bustos *et al.*, 2001**). Para mejorar el proceso de nixtamalización, se han realizado un gran número de estudios. **Ramírez-Romero y Ambriz-García (2012)** estudiaron el proceso de nixtamalización bajo diferentes condiciones de temperatura de cocción, concentraciones de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  y tiempos de cocción y de reposo; y encontraron que a temperaturas de cocción de 50-60 °C se obtienen masa y tortillas de buena calidad. Asimismo, **Arámbula-Villa *et al.*, (2000)** estudiaron la producción de masa obtenida mediante extrusión a diferentes temperaturas de cocción (60-100 °C) y se encontró que la masa procesada a 80 °C mostraba una menor tasa de deshidratación y propiedades más favorables relacionadas con la manejabilidad. Durante la nixtamalización, cambios físicos y químicos ocurren en el maíz, los cuales son influenciados por las condiciones de procesamiento, tales como la temperatura de cocción, la concentración de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  y el tiempo de remojo (**Laria *et al.*, 2005; Ruiz-Gutiérrez *et al.*, 2010**). En el transcurso de la cocción y remojo, ocurre la difusión de calcio y agua dentro de los granos. El uso de una solución alcalina contribuye a la degradación del pericarpio, que actúa como barrera física a la difusión de calcio y agua

(Gutiérrez *et al.*, 2007; Gutiérrez-Cortez *et al.*, 2010). Estudios previos han descrito el fenómeno de difusión de agua en el maíz durante el proceso de nixtamalización (Becker 1959, Fan *et al.*, 1963; Ramos *et al.* 2004; Fernández-Muñoz *et al.*, 2011). Estos trabajos han demostrado que la exposición del maíz a una solución alcalina causa degradación y ablandamiento de la pared celular y componentes del pericarpio. Además, la exposición alcalina induce cambios estructurales en el endospermo (que se compone principalmente de almidón), especialmente en lo que se refiere a la formación de redes de amilosa (Valderrama-Bravo *et al.*, 2010). Durante el proceso de nixtamalización, el agua se difunde dentro de los gránulos de almidón, causando la gelatinización parcial de los gránulos de almidón y alterando su estructura cristalina (Laria *et al.*, 2007). Ruiz-Gutiérrez *et al.* (2012) estimaron el coeficiente de difusión del agua durante el proceso de nixtamalización del maíz blanco bajo diferentes temperaturas de cocción y concluyeron que el proceso tiene un efecto significativo sobre la absorción de agua por los granos.

Además, las condiciones de la nixtamalización pueden influir significativamente en las propiedades texturales y sensoriales finales de masa y tortillas. Por ejemplo, se ha establecido que la masa debe mostrar una adhesividad adecuada para adherirse ligeramente a los rodillos laminadores de las máquinas de tortilla industriales y separarse adecuadamente (Ramírez-Wong *et al.*, 1993). En contraste, en tortillas, las principales propiedades texturales que se consideran son rollabilidad y extensibilidad, que describen las propiedades físicas que son importantes durante el manejo del producto.

Dado que las condiciones de nixtamalización pueden cambiar la calidad de masa y tortillas es importante su estudio. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar la hidratación del maíz y las propiedades texturales de masa y tortillas producidas bajo diferentes condiciones de nixtamalización.

## **6.2 MATERIALES Y MÉTODOS**

### **6.2.1 Materiales**

Se utilizó maíz blanco dentado (*Zea mays L.*) Cargill® variedad Sinaloa, cosecha 2014. Para la nixtamalización, se empleó hidróxido de calcio calidad alimentaria (92% de pureza, Grupo Calidra, Michoacán, México).

### **6.2.2 Nixtamalización**

El proceso de nixtamalización se realizó a nivel laboratorio empleando ollas de acero inoxidable de 5 L, según lo reportado por Ramírez-Romero y Ambriz-García (2012), con algunas modificaciones. Se evaluaron tres procesos diferentes de nixtamalización, entre los cuales la diferencia principal fue la temperatura de cocción. En el primer proceso (P1), 1 kg de maíz fue nixtamalizado en 2 litros de agua con 26 g de  $\text{Ca(OH)}_2$ , la cocción se llevó a cabo con adición de agua a 90 °C y se mantuvo en agitación durante 20 minutos y las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente durante 24 h. En el segundo proceso (P2), 1 kg de maíz se nixtamalizó en 2 litros de agua con 13 g de  $\text{Ca(OH)}_2$ , se realizó la cocción con adición de agua a 60 °C y se agitó durante 20 minutos, después de la cocción, la olla se cubrió con un elastómero y finalmente las muestras fueron puestas a reposar a temperatura ambiente durante 24 h. En el tercer proceso (P3), 1 kg de maíz se nixtamalizó en 2,4 L de agua con 23 g de  $\text{Ca(OH)}_2$ ; la cocción fue realizada con agua a 50 °C manteniendo dicha temperatura durante 5 h, después se cubrió la olla con un elastómero y finalmente las muestras se dejaron reposar a temperatura ambiente durante 19 h. Los tratamientos se realizaron por triplicado.

### **6.2.3 Cinética de hidratación**

Se tomaron muestras de maíz cada 30 minutos en el transcurso de las primeras 6 h de nixtamalización (durante esta etapa la hidratación es rápida), después durante las últimas 4 h de remojo, las muestras se tomaron cada 1 h. El contenido de humedad de estos granos se determinó mediante secado en un horno de aire a 130 °C durante 1 h según el método AOAC 925.10 (2012) y los resultados fueron expresados en g/100 g.



Las determinaciones se realizaron por triplicado. Los datos experimentales se ajustaron a los modelos propuestos por Fernández-Muñoz *et al.* (2007) (Ec. 1) y Peleg (1988) (Ec. 2):

$$H(t) = \frac{h_{sat} * t}{k + t} \quad (\text{Ec. 1})$$

donde **H(t)** es la humedad después del tiempo t (g/100 g); **h<sub>sat</sub>** es la humedad de saturación (g/100 g); **t** es el tiempo de hidratación (h); y **k** es la constante de hidratación.

$$H(t) = H_0 \frac{t}{k_1 + k_2 t} \quad (\text{Ec. 2})$$

donde **H(t)** la humedad después del tiempo t (g /100 g); **H<sub>0</sub>** es la humedad inicial (g/100 g); **t** es el tiempo de hidratación (h); **k<sub>1</sub>** es la constante de velocidad de Peleg (h/g/100 g) y **k<sub>2</sub>** es la constante de capacidad de Peleg (g/100g).

Para obtener los valores de velocidad de hidratación (**V<sub>h</sub>**) (g/100 g/min), se derivó la ecuación 1, obteniendo:

$$V_h = \frac{h_{sat} * k}{(k + t)^2} \quad (\text{Ec. 3})$$

El coeficiente de difusión del agua (**D**) se estimó mediante la ecuación 4, reportada por Ramos *et al.* (2004):

$$\sqrt{D} = \frac{\Delta(\Delta M / M_0)}{\Delta(\sqrt{t})} x \frac{1+h}{(h_s - h_0)} x \frac{V}{S} x \frac{\sqrt{\pi}}{2} \quad (\text{Ec. 4})$$

donde **D** es el coeficiente de difusión (m<sup>2</sup>/h); [**Δ(ΔM/M<sub>0</sub>) / Δ(√t)**] es la pendiente obtenida para la parte lineal de la gráfica (ΔM/M<sub>0</sub>) vs (√t), (min<sup>-1/2</sup>); **M<sub>0</sub>** es la masa inicial del grano; **S** es la superficie del grano (cm<sup>2</sup>); **V** es el volumen del grano (cm<sup>3</sup>); **h<sub>0</sub>** es el contenido de humedad inicial. **V** fue calculado como M<sub>0</sub>/densidad. **S** fue evaluado según lo reportado por Becker (1959). **h<sub>s</sub>** es el contenido de humedad en la superficie

del grano y fue calculado de acuerdo a **Charan y Prasad (1996)**, se obtuvieron 64 g/100 g para P1; 60.5 g/100 g para P2 y 59.6 g/100 g para P3.

#### **6.2.4 Producción de Masa y Tortilla**

Se nixtamalizaron lotes de un kilo de maíz de acuerdo a los tres procesos descritos anteriormente. Posteriormente, el nixtamal con humedad entre 42 y 47 g/100 g fue molido empleando un molino de piedras industrial (MN-80, Casa Matus, Tabasco, México), para la preparación de masa se añadió agua hasta alcanzar un contenido de humedad de 55 g/100 g. Se emplearon  $30.73 \pm 0.93$  g de masa para cada tortilla las cuales se elaboraron con una máquina operada manualmente (González TM-G, Nuevo León, México). La cocción de las tortillas se realizó sobre una superficie de hierro caliente a  $260 \pm 10^\circ\text{C}$  durante 40 s en un lado, luego durante 30 s en el lado opuesto y finalmente se voltearon de nuevo durante 20 s para permitir que la tortilla se pudiera inflar. Las tortillas resultantes fueron discos planos con un diámetro de  $12 \pm 0.3$  cm, un grosor de  $1.5 \pm 0.08$  mm y un contenido de humedad de 40 g/100 g. Las tortillas fueron posteriormente envasadas en bolsas de polietileno y almacenados a temperatura ambiente ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ) según lo informado por **Martínez-Bustos et al., (2001)**.

#### **6.2.5 Análisis de Textura**

La adhesividad y cohesividad de la masa y la extensibilidad y rollabilidad de las tortillas fueron medidas utilizando un texturómetro (Brookfield CT3, MA) con celda de carga de 10 kg. Las gráficas obtenidas se analizaron utilizando el software Texture-Pro CT (Brookfield CT3, MA). El análisis del perfil de textura fue realizado para evaluar la adhesividad de la masa según lo reportado por **Ruiz-Gutiérrez et al. (2012)**. En resumen, un cilindro de masa con un diámetro de 12 mm y una altura de 20 mm es comprimido al 90% a una velocidad de 5 mm/s utilizando un cilindro con un diámetro de 26 mm y una altura de 35 mm; una segunda compresión se llevó a cabo 2 s más tarde. La cohesividad de la masa se determinó a una compresión del 40% de acuerdo

con lo reportado por **Gasca-Mancera y Casas-Alencaster (2007)**. Se realizaron diez repeticiones para cada proceso de nixtamalización, y se reportaron los promedios.

La extensibilidad de las tortillas se determinó según **Arámbula-Villa et al., (2004)**, con las tortillas siendo cortadas en forma de probeta (37 mm en los extremos, 15 mm en el centro y 87 mm de largo). La prueba de tensión se realizó con un accesorio TA-DGA, correspondiente a unos clips de retención, en los que la muestra fue colocada y sometida a tensión; el texturómetro se calibró a una velocidad de 2 mm/s y una distancia de 4 mm. La rollabilidad se determinó de acuerdo al método descrito por **Suhendro et al. (1998)**. Esta prueba consiste en rodar la tortilla sobre una plataforma con un cilindro rotatorio y se realizó con una fuerza de tensión de 3 mm/s para 50 mm. Se evaluaron diez tortillas para cada proceso, y se reportaron los valores promedio. Asimismo, las muestras de masa comercial y tortillas fueron analizadas.

#### **6.2.6 Análisis estadístico**

El modelo matemático ajustado para la cinética de hidratación fue obtenido con el software Origin (OriginLab Corporation, MA).

Los datos correspondientes al análisis de textura de masa y tortillas se sometieron a análisis de varianza utilizando el software Statgraphics Centurion XVI (Statpoint Technologies, Inc., VA). Las diferencias de las medias fueron evaluadas utilizando la prueba de Fisher ( $\alpha=0.05$ ).

### **6.3 RESULTADOS Y DISCUSIONES**

#### **6.3.1 Cinética de hidratación del maíz**

La Figura 1 muestra la cinética de hidratación de los granos de maíz obtenidos para los tres procesos de nixtamalización estudiados, a los cuales se ajustaron los modelos reportados por Fernández-Muñoz (**FIG 1A**) y Peleg (**FIG 1B**). Se observa que en ambos modelos se presentó el mismo comportamiento y también el aumento rápido de la hidratación durante un período de 1 h, seguido por un tiempo prolongado con una cinética de hidratación mucho más lenta. Comparando la hidratación durante las primeras 3 h de los procesos de nixtamalización se pudieron observar diferencias entre

los niveles de hidratación del grano utilizando el proceso tradicional (P1) y los modelos propuestos (P2 y P3). Sin embargo, estas diferencias son despreciables después de 24 h. Estas observaciones podrían explicarse por el efecto de las temperaturas de cocción empleadas. Durante P1, la temperatura de cocción fue mayor que en P2 y P3, lo que podría haber causado una liberación más rápida del pericarpio, lo que a su vez favoreció a la absorción rápida del agua por los granos de maíz. Sin embargo, en P2 y P3, después de cierto tiempo, la combinación de las variables de control (concentración de  $\text{Ca(OH)}_2$ , tiempo de cocción y temperatura de cocción) permiten alcanzar valores de hidratación similares a los registrados en P1. Estos resultados coinciden con los reportados por Ruiz-Gutiérrez *et al.* (2010), que obtuvieron una mayor hidratación con una temperatura de cocción de 90° C que 70° C con un tiempo de cocción de 8 h (55 y 45 g/100 g de humedad, respectivamente). De manera similar, Laria *et al.* (2005) reportaron que un aumento en la temperatura de cocción puede resultar en un aumento en la absorción de agua por los granos y que la absorción de agua puede verse afectada por diversos factores, entre ellos la composición y las dimensiones del grano y las variables operativas como la agitación y la temperatura.

Por otra parte, Gutiérrez *et al.* (2007) encontraron que los granos de maíz deben presentar un nivel de humedad de 36 g/100 g (Línea punteada en la FIG 1). Sin embargo, también se ha reportado que los granos deben presentar un nivel de humedad entre 45-50 g/100 g después del tiempo de remojo para obtener masa con características de alta calidad (Fernández-Muñoz *et al.*, 2011). Además, durante el tiempo de remojo, el almidón pierde su estructura cristalina debido a la escisión de los enlaces de hidrógeno intermoleculares presentes en sus zonas amorfas; esta ruptura es causada principalmente por la progresiva e irreversible absorción del agua, lo que resulta en una gelatinización parcial del gránulo de almidón. Algunos investigadores han informado que el tiempo de remojo necesario para obtener masa con alta calidad puede variar de 4 a 5 h (Arámbula-Villa *et al.*, 2000; Fernández-Muñoz *et al.*, 2011). Es importante indicar que, aunque el tiempo de reposo en el proceso de nixtamalización fue 24 h en todos los ensayos del presente trabajo, se observó que el

maíz nixtamalizado tiene el contenido de humedad requerido para obtener masa con características de buena calidad después de 6 h de remojo. Además, en la FIG 1 las líneas continuas corresponden a los modelos ajustados, y se puede ver el típico patrón de hidratación en todos los casos (Trejo-González *et al.*, 1982; Gutiérrez *et al.*, 2007; Fernández-Muñoz *et al.*, 2011).

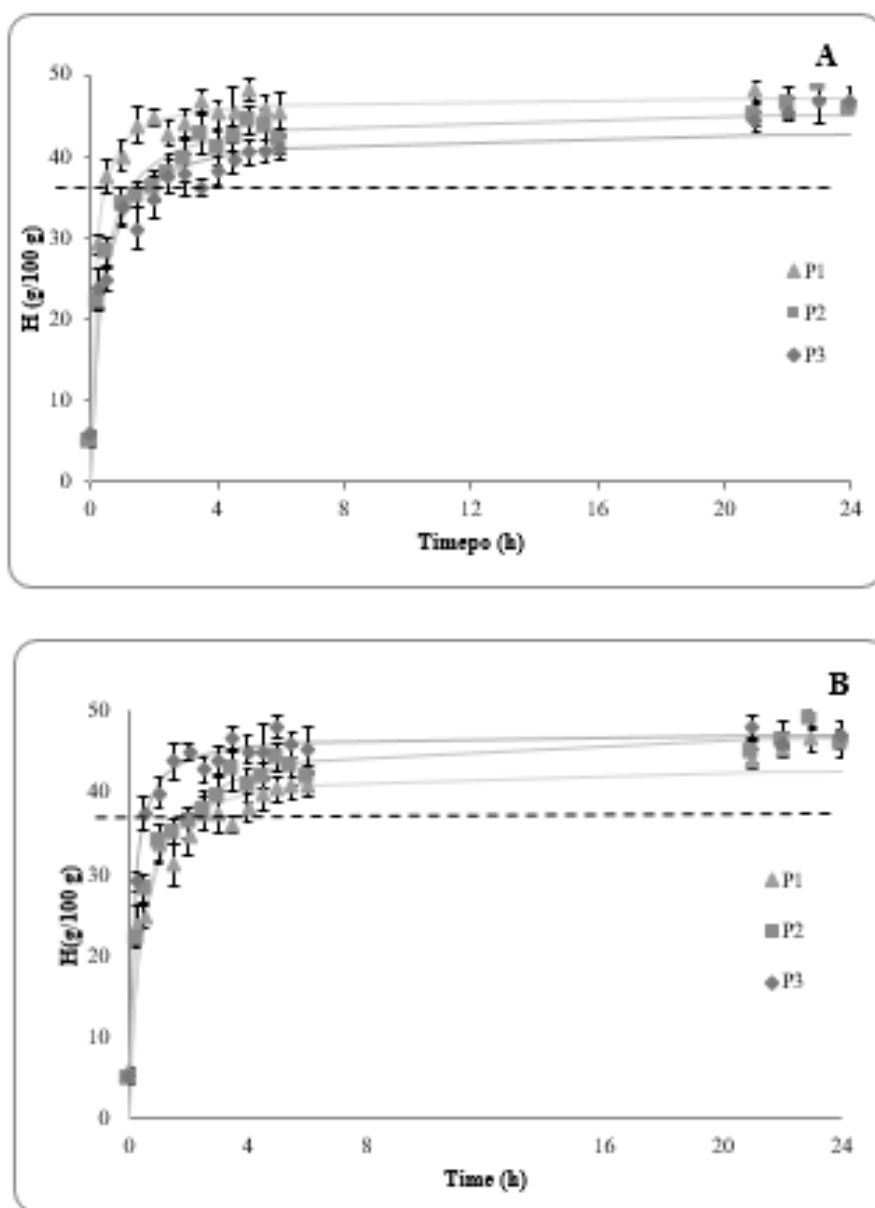


FIG 1. Cinética de hidratación de granos de maíz bajo diferentes procesos de nixtamalización  
A) Modelo Fernández-Muñoz    b) Modelo de Peleg

Para predecir el proceso de hidratación del grano de maíz, los datos de humedad registrados durante cada uno de los procesos de nixtamalización se ajustaron a los modelos de Fernández-Muñoz y Peleg. Los parámetros de los modelos se muestran en la **Tabla 1**. Respecto a los parámetros del modelo Fernández-Muñoz, se puede ver que el modelo propuesto es capaz de predecir la hidratación de los granos de maíz en un 97-99%, bajo las condiciones evaluadas en cada uno de los procesos de nixtamalización. Además, se puede observar que la humedad de saturación ( $h_{sat}$ ) fue significativamente diferente ( $\alpha=0.05$ ) entre el P1 con P2 y P3. Asimismo, la constante de hidratación ( $k$ ), que representa el tiempo necesario para alcanzar la mitad del valor de  $h_{sat}$ , también mostro diferencia significativa ( $\alpha=0.05$ ) entre P1 con P2 y P3. En este caso, la constante más baja fue para el proceso tradicional (P1). Este resultado indicó que el tiempo necesario para hidratar los granos de maíz fue más corto en el proceso tradicional de nixtamalización que en P2 o P3. Por otra parte, analizando los parámetros del modelo de Peleg, se puede ver que es capaz de predecir la hidratación de los granos de maíz en un 99% bajo las condiciones de estudio de los tres procesos de nixtamalización evaluados. Además, se puede observar que el valor de  $k_1$  fue significativamente diferente ( $\alpha=0.05$ ) entre el P1 con P2 y P3; estos resultados concuerdan con lo reportado por **Agarry et al., (2014)**, quienes observaron una disminución en el valor de  $k_1$  con el aumento de la temperatura. Además, el valor de  $k_2$ , que es una constante relacionada con la capacidad máxima de absorción de agua, no hubo diferencia significativa ( $\alpha=0.05$ ) en los tres procesos. Los resultados concuerdan con los reportados por **Sopade y Obekpa (1990)** que observaron que  $k_2$  es independiente de la temperatura del agua de inmersión, lo que representa una característica de sorción de cada producto.

La Figura 2 muestra los perfiles de las tasas de hidratación de los procesos de nixtamalización, observándose las mayores tasas de hidratación al comienzo del proceso de nixtamalización (1 h), mientras que después de un período prolongado, las tasas de hidratación tienden a cero (saturación). Además, se puede observar que las tasas de hidratación obtenidas en P2 y P3 son muy similares; por el contrario, la tasa de hidratación obtenida en P1 después de un corto período (0.5 h) fue mayor que en P2

y P3. Estos resultados concuerdan con Noorbakhsh *et al.* (2006), quienes encontraron que las altas tasas de hidratación ocurren en un corto plazo debido a que la exposición de los capilares en la superficie de granos de maíz al agua estimula la función de succión, dando lugar a un gradiente de hidratación, causando una rápida hidratación. Por otra parte, Fernández-Muñoz *et al.* (2011) informaron que las tasas de hidratación son mayores cuando se aumenta la temperatura de cocción y la concentración de Ca(OH)<sub>2</sub>. Estos autores obtuvieron tasas de hidratación de 0.5 y 1.2 g/100 g/min ajustando la concentración de Ca(OH)<sub>2</sub> a 1% (p/p) y la temperatura de cocción a 62 o 92 °C, respectivamente. Estos parámetros fueron similares a los registrados en el presente trabajo.

**TABLA 1. Valores estimados de los constantes obtenidos a partir de los modelos de hidratación del grano de maíz en diferentes procesos de nixtamalización**

Procesos	Modelo de Fernández			Modelo de Peleg		
	$h_{sat}$ (%)	k (h)	R	$k_1$ (h/g) x10 <sup>-2</sup>	$k_2$ x10 <sup>-2</sup>	R
1	47.05 <sup>a</sup>	0.15 <sup>a</sup>	0.99	0.41 <sup>a</sup>	2.39 <sup>a</sup>	0.99
2	45.77 <sup>b</sup>	0.35 <sup>b</sup>	0.99	1.40 <sup>b</sup>	2.33 <sup>a</sup>	0.99
3	43.01 <sup>b</sup>	0.33 <sup>b</sup>	0.97	1.84 <sup>b</sup>	2.50 <sup>a</sup>	0.99

$h_{sat}$ , humedad de saturación; k, constante de hidratación; R, coeficiente de correlación;  $k_1$ , constante de velocidad de Peleg;  $k_2$ , constante de capacidad de Peleg.

Columnas con diferentes superíndices muestran diferencias significativas, Prueba de Fisher ( $\alpha=0.05$ ).

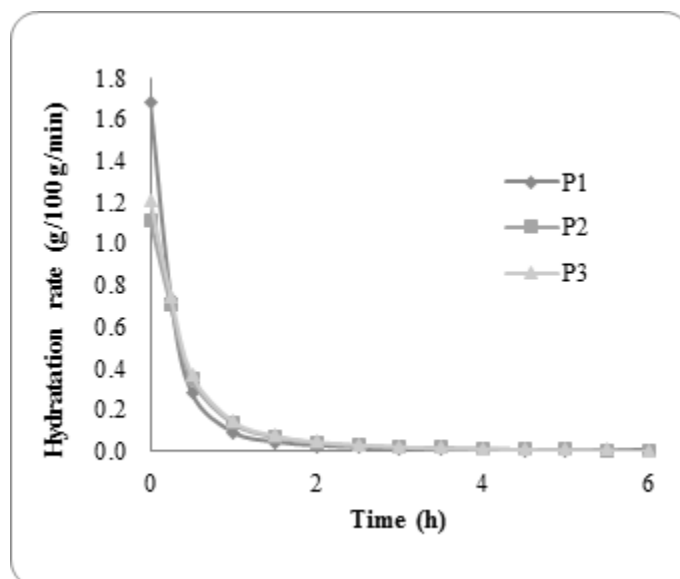


FIG 2. Perfiles de tasas de hidratación de granos de maíz en diferentes procesos nixtamalización

La Tabla 2 se reportan los coeficientes de difusión del agua en los granos de maíz para cada proceso de nixtamalización estudiado. Como puede observarse todos los coeficientes de difusión están en el mismo rango de magnitud, pero el valor más alto se obtuvo para el proceso tradicional de nixtamalización (P1). Esto concuerda con lo reportado por **Agarry *et al.* (2014)**, quienes observaron que el coeficiente de difusión aumenta al incrementar la temperatura de cocción en varios tipos de maíz.

TABLA 2. Coeficiente de difusión de agua en diferentes procesos de nixtamalización

Proceso	D (m <sup>2</sup> /s) x10 <sup>-8</sup>
1	2.71
2	1.82
3	0.93

D, Coeficiente de difusión



### 6.3.2 Propiedades Texturales de Masa y Tortillas

#### 6.3.2.1 Análisis Textural de Masa.

La Tabla 3 muestra las propiedades texturales de la masa producida usando el maíz nixtamalizado obtenido a través de los tres procesos de nixtamalización evaluados y masa comercial. Se puede observar que no hubo diferencias significativas en la cohesión ( $\alpha=0.05$ ), lo que indica que los procesos de nixtamalización propuestos, que involucran menores temperaturas de cocción (P2 y P3), nos permiten obtener masa con las mismas características de calidad que los productos comerciales. Estos resultados coinciden con los resultados de **Ruiz-Gutiérrez et al. (2012)**, quienes analizaron masa de harina de maíz nixtamalizado y masa obtenida después de diferentes procesos de nixtamalización en los que se evaluaron varias sales de calcio y reportaron valores de cohesividad de 0.181 para la masa comercial y 0.132 para la masa nixtamalizada con  $\text{Ca(OH)}_2$ . Respecto a los valores de adhesividad, no hubo diferencias significativas ( $\alpha=0.05$ ) entre la masa preparada utilizando el maíz nixtamalizado por los tres procesos estudiados. Sin embargo, es importante observar que los valores de adhesividad obtenidos en este trabajo fueron ligeramente superiores (-3,94 N) a los reportados por **Ruiz-Gutiérrez et al. (2012)**. Esto puede explicarse debido a las diferencias en las variables operacionales de los procesos de nixtamalización, a diferencia del presente trabajo, estos autores utilizaron una proporción de maíz / agua de 1:3, una temperatura de 80° C, un tiempo de cocción de 1 h y agitación constante. Por el contrario, **Ramírez-Wong et al. (1994)** reportaron que las propiedades texturales (adherencia y firmeza) de la masa dependen de la capacidad de su retención de agua. Es importante conocer las propiedades texturales de la masa porque valores altos o bajos de cohesividad y adhesividad pueden conducir a problemas durante la fabricación de la tortilla.

**TABLA 3. Propiedades texturales de masa de diferentes procesos de nixtamalización**

Proceso	Cohesividad	Adhesividad (N)
1	0.13 ±0.02 <sup>a</sup>	-2.05 ±0.49 <sup>a</sup>

2	0.12 ±0.02 <sup>a</sup>	-2.04 ±0.10 <sup>a</sup>
3	0.12 ±0.01 <sup>a</sup>	-1.99 ±0.41 <sup>a</sup>
<b>Masa comercial</b>	0.13 ±0.02 <sup>a</sup>	-1.93 ±0.20 <sup>a</sup>

Columna con diferente superíndice muestra diferencias significativas, prueba de Fisher ( $\alpha=0.05$ )

### 6.3.2.2 Análisis Textural de Tortillas.

La Tabla 4 muestra las propiedades de textura de las tortillas recién elaboradas (0 h) y almacenadas (24 h) producidas con el maíz nixtamalizado obtenido a través de los tres procesos de nixtamalización y comparada con tortillas comerciales. En cuanto a la extensibilidad, no se observaron diferencias ( $\alpha=0.05$ ) entre las tortillas recién elaboradas. La extensibilidad también se determinó en tortillas almacenadas, y no se detectaron diferencias significativas ( $\alpha=0.05$ ). Sin embargo, cuando estos resultados fueron comparados con los obtenidos para tortillas recién elaboradas, se observó que la extensibilidad es mayor en las tortillas almacenadas que en las tortillas recién elaboradas. Estos resultados indican que, con el paso del tiempo, las tortillas se endurecen debido a la pérdida de agua que se produce durante el tiempo de almacenamiento (sinéresis), resultando en un producto con baja flexibilidad y elasticidad. **Arámbula-Villa et al. (2004)** reportaron un valor promedio de extensibilidad para tortillas producidas con maíz blanco híbrido de 1.49 N en el tiempo cero; este valor es consistente con los obtenidos en el presente trabajo.

Con respecto a la rollabilidad, no se registraron diferencias significativas ( $\alpha=0.05$ ) entre las tortillas comerciales y las preparadas con el maíz nixtamalizado bajo los tres procesos. Además, los resultados obtenidos en todas las pruebas se encuentran en el rango reportado por **Suhendro et al. (1998)**, quien observó valores de rollabilidad entre 0.20 y 1.10 N en tortillas elaboradas en diferentes molinos. En el caso de las tortillas almacenadas durante 24 h, no se detectaron diferencias significativas ( $\alpha=0.05$ ) entre la capacidad de rollabilidad de las tortillas comerciales y las preparadas con el maíz nixtamalizado bajo el proceso tradicional (P1). Sin embargo, en tortillas preparadas con maíz nixtamalizado mediante los métodos propuestos (P2 y P3) si hubo diferencia significativa. Finalmente, los resultados obtenidos para las tortillas almacenadas fueron

comparados con los registrados en tortillas recién elaboradas; observándose que el tiempo de almacenamiento ocasionó un incremento en la rollabilidad, al apreciarse que la fuerza necesaria para enrollar la tortilla en las muestras almacenadas fue mayor que el necesario para las tortillas frescas. Además, el aumento de la capacidad de rollabilidad fue casi dos veces mayor en las tortillas preparadas con maíz nixtamalizado por los procesos P2 y P3 que en las tortillas comerciales y las preparadas con el maíz nixtamalizado del proceso P1. Los cambios en rollabilidad observados en las tortillas preparadas por los procesos P2 y P3 podrían ser el resultado de la retrogradación del almidón, que pudo haber ocurrido más rápidamente en estas tortillas. El proceso de retrogradación depende del contenido de agua de las tortillas, si este es bajo, la amilosa y amilopectina comienzan a experimentar un proceso de reasociación, dando a las tortillas una apariencia rígida (**Román-Brito *et al.*, 2007**). **Suhendro *et al.* (1998)** reportaron un aumento en la retrogradación durante el tiempo de almacenamiento.

Está claro que en la literatura hay un considerable número de informes sobre las propiedades texturales de masa y tortillas, pero sus resultados no pueden compararse con los obtenidos en este estudio por el uso de diferentes metodologías.

**TABLA 4. Propiedades texturales de tortillas de diferentes procesos de nixtamalización**

<b>Almacenamiento</b>	<b>Proceso</b>	<b>Rollabilidad</b>	<b>Extensibilidad</b>
<b>(h)</b>		<b>(N)</b>	<b>(N)</b>
0	1	0.22 ±0.05 <sup>a</sup>	1.03 ±0.05 <sup>a</sup>
	2	0.27 ±0.06 <sup>a</sup>	1.22 ±0.12 <sup>a</sup>
	3	0.29 ±0.07 <sup>a</sup>	1.10 ±0.10 <sup>a</sup>
	Tortilla Comercial	0.26 ±0.03 <sup>a</sup>	1.07 ±0.09 <sup>a</sup>
24	1	0.38 ±0.02 <sup>a</sup>	3.55 ±0.10 <sup>a</sup>
	2	0.47 ±0.05 <sup>b</sup>	3.49 ±0.34 <sup>a</sup>
	3	0.45 ±0.03 <sup>b</sup>	3.51 ±0.23 <sup>a</sup>

---

Tortilla Comercial     $0.36 \pm 0.02^a$      $3.07 \pm 0.88^a$

---

Columna con diferente superíndice muestra diferencias significativas, prueba de Fisher ( $\alpha=0.05$ )

### 6.3.3 Consumo de energía en el proceso de Nixtamalización de maíz

Durante la producción de masa, el consumo de gas en el molino es el segundo gasto de importancia, sólo por debajo del costo del maíz. El consumo promedio de gas en el proceso P1 es 0.009 L/kg de masa, por lo que el costo de producción de 5,400 kg de masa por día es de \$373.25 pesos, como se muestra en la Tabla 5. Sin embargo, en la nixtamalización llevada a cabo en las condiciones establecidas en el proceso P2 y P3 (60 y 50°C), se espera ahorrar un 30 y 20%, respectivamente.

**TABLA 5. Análisis de consumo de gas en diferentes procesos de nixtamalización**

<b>Proceso</b>	<b>Consumo de gas (L/kg masa)</b>	<b>Masa producida (kg masa/día)</b>	<b>Costo gas/día (pesos)</b>	<b>Ahorro (%)</b>
1	0.0090	5,400	373.25	0
2	0.0063	5,400	261.25	30
3	0.0072	5,400	298.59	20

## 6.4 CONCLUSIONES

El proceso de hidratación del grano de maíz fue caracterizado con éxito durante diferentes procesos de nixtamalización. Los resultados mostraron que el proceso de hidratación ocurre más rápidamente bajo las condiciones probadas en P1, pero también mostraron que después de 6 h, los valores de humedad requeridos para obtener masa y tortillas con las mismas propiedades texturales que los productos comerciales también se alcanzaron en los procesos P2 y P3. Las pruebas de textura

indicaron que las condiciones de nixtamalización analizadas en los procesos P2 y P3 son apropiados para obtener masa y tortillas con las mismas propiedades texturales observadas en productos comerciales. Estos resultados demuestran que los procesos de nixtamalización propuestos (P2 y P3) podrían ser aplicados para obtener masa y tortillas con las mismas características de calidad de los productos comerciales, obteniéndose un ahorro energético.

## 6.5 BIBLIOGRAFÍA

- Agarry, S.E., Afalabi, T.J. y Akintunde, T.T.Y. (2014). Modelling the water absorption characteristics of different maize (*Zea Mays L.*) types during soaking. *J Food Process Technol.* 5, 326.
- AOAC. (2012). Official Methods of Analysis of AOAC International, 19th Ed. Methods 925.10. Solids (Total) and Moisture in Flour – Air Oven Method. AOAC International, Gaithersburg, MD. U.S.A.
- Arámbula-Villa, G., Yáñez-Limón, J.M., Vorobiev-Vasilievich, Y. y González-Hernández, J. (2000). Coeficiente efectivo de difusión de agua en masas de maíz nixtamalizado por extrusión. *Agrociencia.* 34, 717-727.
- Arámbula-Villa, G., Méndez-Albores, J.A., González-Hernández, J., Gutiérrez-Arias, E. y Moreno-Martínez, E. (2004). Evaluación de una metodología para determinar características de textura de tortilla d maíz (*Zea mays L.*) *Arch. Latinoam. Nutr.* 54, 216-222.
- Becker, H.A. (1959). A study of diffusion in solids of arbitrary shape, with application to the drying of the wheat grain. *J. Appl. Polym. Sci.* 1, 212-226.
- Charan, R. y Prasad, S. (1996). Moisture diffusion during hydration of maize. *J. Food Sci. Technol.* 33, 384-388.
- Fan, L.T., Chu, P.S. y Shellenberger, J.A. (1963). Diffusion of water in grains of corn and sorghum. *Cereal Chem.* 40, 303-313.
- Fernández-Muñoz, J.L., Gruintal-Santos, M.A, Hernández-Osorio, I., San Martín-Martínez, A., Calderón, A., Díaz-Góngora, J.A. y Aguilar-Méndez, M.A. (2007). Modelo matemático de la cinética y velocidad de hidratación del grano de maíz blanco dentado durante la cocción alcalina. *Superficies y Vacío.* 20, 4-9.
- Fernández-Muñoz, J.L., Acosta-Osorio, A.A. y Gruintal-Santos, M.A. (2011). Kinetics of water diffusion in corn grain during the alkaline cooking at different temperatures and calcium hydroxide concentration. *J. Food Eng.* 106, 60-64.

- Gutiérrez, E., Rojas-Molina, I., Pons-Hernández, J.L., Guzmán, H., Aguas-Angel, B., Arenas, J., Fernández, P., Palacios-Fonseca, A., Herrera, G. y Rodríguez, M. E. (2007). Study of calcium ion diffusion in nixtamalized quality Protein maize as a function of cooking time. *Cereal Chem.* 84, 186–194.
- Laria, J., Meza, E. y Peña, J. (2007). Water and calcium uptake by corn grain during alkaline treatment with different temperature profiles. *J. Food Eng.* 78, 288-295.
- Martínez-Bustos, F., Martínez-Flores, H.E., Sanmartín-Martínez, E., Sánchez-Sinencio, F., Chang, Y. K., Barrera-Arellano, D. y Ríos, E. (2001). Effects of the components of maize on the quality of masa and tortilla during the traditional nixtamalisation process. *J. Sci. Food Agric.* 81, 1455-1462.
- Noorbakhsh, S., Tabil, L. y Ghazanfari, A. (2006). Analysis and modeling of water absorption by yellow dent corn grains before and during gelatinization process. *Asian J. Plant Sci.* 5, 805-810.
- Ramírez-Romero, G. y Ambriz-García, J.J. (2012). Proceso de nixtamalización a bajas temperaturas. Patent Pending DAJ 366.12.DPI
- Ramírez-Wong, B., Steat, V., Torres, P. y Rooney, L. (1993). Development of two instrumental methods for corn masa texture evaluation. *Cereal Chem.* 70, 286-290.
- Ramírez-Wong, B., Steat, V., Torres, P. y Rooney, L. (1994). Cooking time, grinding and moisture content effect on fresh corn masa texture. *Cereal Chem.* 71, 337-343.
- Ramos, G., Pezet-Valdez, M., O'Connor-Sánchez, A., Placencia, C. y Pless, R.C. (2004). Hydration rates for various types of mexican maize based on single-grain measurements. *Cereal Chem.* 81, 308-313.
- Román-Brito, J.A., Agama-Acevedo, E., Méndez-Montealvo, G. y Bello-Pérez, L.A. (2007). Textural studies of stored corn tortillas with added xanthan gum. *Cereal Chem.* 84, 502-505.

- Ruíz-Gutiérrez, M.G., Quintero-Ramos, A., Meléndez-Pizarro, C.O., Lardizábal-Gutiérrez, D., Barnard, J., Márquez-Meléndez, R. y Talamás Abbud, R. (2010). Changes in mass transfer, thermal and physicochemical properties during nixtamalization of corn with and without agitation at different temperatures. *J. Food Eng.* 98, 76-83.
- Ruíz-Gutiérrez, M.G., Quintero-Ramos, A., Meléndez-Pizarro, C.O., Talamás Abbud, R., Barnard, J., Márquez-Meléndez, R. y Lardizábal-Gutiérrez, D. (2012). Nixtamalization in two steps with different calcium salts and the relationship with chemical, texture and thermal properties in masa and tortilla. *J. Food Process Eng.* 35, 772-783.
- Suhendro, E.L., Almeida-Dominguez, H.D., Rooney, L.W. y Waniska, R.D. (1998). Objective rollability method for corn tortilla texture measurement. *Cereal Chem.* 75, 320-324.
- Trejo-González, A., Feria-Morales, A. y Wild-Altamirano, C. (1982). The role of lime in the alkaline treatment of maize for tortilla production. In *Advances in Chemistry*, (Feeney, R. E., and Whitaker, J., eds.) pp. 245-263, Chem. Soc., Washington, DC, U.S.A.



## 7. EFECTO DE LA TEMPERATURA DE NIXTAMALIZACIÓN Y LA ADICIÓN DE SÓLIDOS DE NEJAYOTE EN LAS PROPIEDADES TEXTURALES DE MASA Y TORTILLA

R.A. PEÑA-REYES, G.A. RAMÍREZ-ROMERO, F.J. FERNÁNDEZ-PERRINO and A.E. CRUZ-GUERRERO 2017. EFFECT OF NIXTAMALIZATION TEMPERATURE AND THE ADITION OF SOLIDS FROM NEJAYOTE ON THE TEXTURAL PROPERTIES OF MASA AND TORTILLAS.

### 7.1 INTRODUCCIÓN

Desde la antigüedad en México y en todo Mesoamérica el maíz se somete a un proceso llamado nixtamalización, el cual proviene de la palabra náhuatl “nextli” que significa cenizas, y “tamalli” que significa masa de maíz. Este proceso consiste en la cocción del maíz en agua adicionada con cal para lograr la gelificación de los almidones existentes en él y otorgar a la tortilla su flexibilidad y sabor característico (De Teresa *et al.*, 2009).

El proceso de nixtamalización usa grandes cantidades de agua y produce un efluente, conocido como nejayote. Las aguas residuales de la nixtamalización son consideradas altamente alcalinas y ricas en diversos componentes como: hidróxido de calcio, sólidos solubles, pericarpio y fibra; así como, ingredientes de alto valor agregado como carbohidratos y componentes fenólicos (Acosta-Estrada *et al.*, 2014). Tomando en cuenta la composición fisicoquímica y la alta carga orgánica del nejayote, la obtención de productos nixtamalizados representan una importante fuente de contaminación ambiental, y directamente contaminación del agua (Valderrama-Bravo *et al.*, 2012).

En trabajos recientes realizados por Ramírez-Romero y Ambriz García (2012) se ha probado que es posible obtener masa de maíz con buenas características para hacer tortilla empleando bajas temperaturas de nixtamalización. Se evaluó el proceso tradicional de nixtamalización a varias temperaturas en un rango de 50-90°C con diferentes tiempos de cocción (5, 10 y 15 min) modificando el porcentaje de hidróxido

de calcio (1, 1.5 y 2%) con distintos tiempos de reposo (7, 9 y 12 horas). Al evaluar dichos parámetros se encontró que, a 60 °C, con un tiempo de reposo de 12 horas y con hidróxido de calcio al 2% se logró obtener una masa de buena calidad para la elaboración de tortillas con un rendimiento de entre 1.750 y 1.8 kg de masa por kilogramo de maíz. Dichos cambios no modifican la forma tradicional de hacer masa, pero si ayuda a la economía del molino, pues la temperatura de 60 °C (muy cercana a esta) se puede obtener con energía solar.

El nejayote, que es el agua residual proveniente de la nixtamalización del maíz, se considera como altamente contaminante debido a su alta demanda biológica de oxígeno (2692-7875 mg O<sub>2</sub>/L), alta demanda química de oxígeno (10200-22000 mg O<sub>2</sub>/L) y pH básico (10.5-11.2). Algunos autores reportan que las pérdidas de sólidos en el nejayote van de 8.5 hasta 12.5% (**Rosentrater, 2006; Gutiérrez-Uribe et al., 2010**). Se ha encontrado que aproximadamente el 50% de los sólidos del nejayote están suspendidos; estos contienen 64% de polisacáridos, 20% de almidón y 1.4% de proteína. El otro 50% está compuesto de sólidos solubles a base de proteínas, azúcares, vitaminas y fitoquímicos ricos en polifenoles y carotenoides (**Gutiérrez-Uribe et al., 2010**).

La masa es un material viscoelástico cuya textura puede ser evaluada de forma instrumental por un perfil de textura determinando propiedades como dureza, cohesividad, elasticidad y adhesividad (**Arámbula-Villa et al., 2004**). Mientras que en la tortilla las características texturales que se evalúan son fuerza de rollabilidad y extensibilidad, las cuales describen propiedades físicas importantes al simular la manipulación del producto durante el manejo y transporte. Cuando la masa tiene la textura adecuada, es lo suficientemente adhesiva para adherirse ligeramente a los rodillos laminadores de la máquina tortilladora y separarse adecuadamente (**Gasca-Mancera y Casas-Alencáster, 2007**), si esto no ocurre, la masa se pega a los rodillos y no es posible que la máquina trabaje libremente. Esta característica es controlada con el tiempo de cocción del maíz y el ajuste de las piedras del molino.

En la industria de la masa y tortilla el color es muy importante; su variación depende de cada región y a veces del tipo de consumidor. El color es tan significativo que puede

ser la causa de que el consumidor compre o no la tortilla, es por esto que el color es una característica muy importante y debe ser medido. Entre los distintos sistemas de medición tenemos al CIE  $L^*a^*b^*$ , el cual describe el color en términos de dos coordenadas cromáticas ( $a^*$  y  $b^*$ ) y una de luminosidad ( $L^*$ ) lo que permite inferir el color de una muestra a partir de esos atributos y poder determinar la diferencia de color total entre pares de muestras (**Manresa-González, A. y Vicente, I., 2007**). Cabe mencionar que aparte del tipo de maíz, el color de la masa y de la tortilla está en función de la cantidad de hidróxido de calcio que contenga.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de dos temperaturas de nixtamalización (60 y 90°C) y de la adición de sólidos provenientes del nejayote en las propiedades texturales y físicoquímicas de masa y tortillas.

## **7.2 MATERIALES Y MÉTODOS**

### **7.2.1 Nixtamalización**

La nixtamalización se llevó a cabo a dos temperaturas de cocción (60 y 90 °C), se emplearon ollas de acero inoxidable de 5 L, según lo reportado por **Ramírez-Romero y Ambriz-García (2012)**, con algunas modificaciones. Se emplearon lotes de 1 kg de maíz híbrido blanco dentado el cual fue puesto en cocción a 60 o 90 °C durante 20 min en 2 L de agua con 26 g de hidróxido de calcio [ $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ], posteriormente la olla se tapó y se dejó en reposo por 24 h. Para el tratamiento a 60 °C, la olla fue recubierta con elastómero durante el tiempo de reposo.

### **7.2.2 Elaboración de masa**

Después del tiempo de reposo, el nixtamal fue lavado y posteriormente se molió en un molino de piedras (MN-80, Casa Matus, Tabasco, México) adicionándole el agua necesaria para obtener una masa con una humedad de 55%.

Por otra parte, se elaboró masa adicionada con sólidos provenientes del nejayote, para esto se llevó a cabo la nixtamalización siguiendo las condiciones arriba mencionadas, y se recolectó el nejayote el cual se puso en conos de decantación durante una hora, después de este tiempo se descartó el líquido y la parte que sedimentó se adicionó al

nixtamal durante la molienda para obtener la masa con una humedad de 55%. Los sólidos de nejayote empleados tenían una humedad de 92.8% y 94.5% dependiendo de la temperatura de nixtamalización de 60 °C y 90 °C respectivamente.

### 7.2.3 Elaboración de tortillas

Las tortillas se elaboraron en una tortilladora manual (González TM-G, Nuevo León, México). Se emplearon  $30.73 \pm 0.93$  g de masa para cada tortilla. La cocción de las tortillas se realizó en un comal a  $260 \pm 10$  °C durante 40 s de un lado, después por 30 s en el lado opuesto y finalmente se voltearon de nuevo durante 20 s. Las tortillas resultantes eran discos planos con un diámetro de  $12 \pm 0,3$  cm y un espesor de  $1,5 \pm 0,08$  mm. Posteriormente, fueron colocadas en bolsas de polietileno y almacenadas a temperatura ambiente ( $25 \pm 1$  °C) de acuerdo con lo reportado por **Martínez-Bustos *et al.* (2001)**.

### 7.2.4 Análisis de textura

El análisis de textura para masa y tortillas se realizó en un texturómetro Brookfield CT3. La masa se dejó reposar en bolsas de polietileno con cierre hermético hasta que alcanzaran 25 °C. Después se obtuvieron cilindros de 12 mm de diámetro y 20 mm de altura, los cuales se dejaron reposar por 15 min en un recipiente cerrado, para permitir que la masa se relajara después de la manipulación. Posteriormente, se midió la dureza, resiliencia, índice de elasticidad, fuerza adhesiva y cohesividad según lo reportado por **Ruiz-Gutiérrez *et al.*, (2012)** con algunas modificaciones: el análisis de perfil de textura (TPA) consistió en dos compresiones por ciclo, usando una celda de carga de 10 kg, y una velocidad de 5 mm/s. Se empleó una deformación relativa aparente (DAR) de 40%. Se realizaron diez repeticiones para cada tratamiento y se reportaron los promedios.

En las tortillas se evaluó la fuerza de extensibilidad y de rollabilidad. Para el análisis de extensibilidad, se cortó la tortilla en forma de probeta (3.75 cm en los extremos, 1.5 cm en la parte central, 8.7 cm de largo) y se utilizó una prueba de tensión con una sonda

TA-DGA a una velocidad de 2 mm/s con una distancia de tensión de 4 mm (Arámbula-Villa *et al.*, 2004). Para el análisis de rollabilidad, se empleó un dispositivo que tiene un rodillo giratorio, al cual se fija la tortilla; éste se une al brazo móvil del texturómetro para hacer girar al rodillo, ocasionando que la tortilla se enrolle sobre él. El equipo se trabajó en el modo de tensión, con una velocidad de 3 mm/s, a una distancia de 50 mm. Se realizaron diez repeticiones para cada tratamiento cuando la tortilla alcanzó los 25 °C (Suhendro *et al.*, 1999) y se reportaron los promedios.

Además, se analizaron la masa y la tortilla comercial con los métodos descritos anteriormente, para usarlos como referencia.

### 7.2.5 Determinación de color

El color en las muestras se determinó usando un colorímetro (NH310 Portable, Shenzhen 3NH Technology Co. Ltd., China). Para el grano de maíz se utilizó una apertura de 4 mm, mientras que para masa y tortilla una apertura de 8 mm. Se tomaron medidas con el iluminante C, para obtener los valores para L\*(luminosidad), a\* y b\* (cromaticidad). También se calculó la diferencia de color entre los tratamientos con y sin adición de sólidos con la ecuación 1 reportada por Sánchez-Madrigal *et al* (2013):

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2} \quad (\text{Ec. 1})$$

$\Delta E$ = Diferencia de color entre muestra y muestraSN

$\Delta L$ = Diferencia de luminosidad ( $L_{\text{muestra}} - L_{\text{muestraSN}}$ )

$\Delta a$ =Diferencia de cromaticidad a ( $a_{\text{muestra}} - a_{\text{muestraSN}}$ )

$\Delta b$ = Diferencia de cromaticidad b ( $b_{\text{muestra}} - b_{\text{muestraSN}}$ )

Dónde: “muestra” se refiere a masa o tortilla sin adición de sólidos provenientes del nejayote a las diferentes condiciones de estudio.

“muestraSN” se refiere a masa o tortilla con adición de sólidos provenientes del nejayote a las diferentes condiciones de estudio.

### 7.2.6 Análisis estadístico

Para la determinación de humedad se realizaron las pruebas por quintuplicado y se estimaron las desviaciones estándar empleando el software XLstat (Addinsoft, USA.). En las pruebas de textura de masa y tortilla (dureza, cohesividad, fuerza adhesiva, resiliencia, índice de elasticidad, fuerza de rollabilidad y fuerza de extensibilidad) se realizó un análisis de varianza de una vía empleando el software Statgraphics Centurion XVI (Statpoint Technologies, Inc., USA); las medias de los tratamientos se obtuvieron de 10 muestras y fueron comparados usando una prueba de Fisher con un  $\alpha=0.05$ .

## 7.3 RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 7.3.1 Efecto de la temperatura en nixtamal, masa y tortillas

#### 7.3.1.1 Humedad en nixtamal, masa y tortillas

No se presentó diferencia significativa ( $\alpha=0.05$ ) en la humedad del nixtamal obtenido en las dos temperaturas estudiadas (Tabla 1). Estos resultados concuerdan con lo reportado por **Sierra-Macías *et al.* (2010)** que al evaluar la humedad de nixtamal de distintos granos de maíz encontraron valores entre 45-49% de humedad. Las masas se elaboraron con una humedad de aproximadamente 55%, dado que se reporta que esta humedad es necesaria para elaborar adecuadamente las tortillas (**Jiménez-Contreras *et al.*, 2014**). En las tortillas recién elaboradas no se observó una diferencia significativa ( $\alpha=0.05$ ) en la humedad, obteniéndose un 18% de pérdida con respecto a la masa. Por su parte, **Salinas-Romero y Aguilar-Modesto (2010)** reportaron valores de humedad para tortillas recién elaboradas entre 35-40%. En las tortillas almacenadas durante 24 h si hubo diferencia significativa en la humedad y también podemos observar que hay una pérdida de humedad del 10 y 6% a 60 y 90 °C respectivamente. **Román-Brito (2006)** reporta una pérdida de humedad de alrededor del 5% para tortillas de maíz con tres días de almacenamiento, lo cual se ve reflejado en un endurecimiento de la tortilla, y esto se debe a la formación de una estructura rígida en la tortilla, producto de la pérdida de agua por sinéresis.

**TABLA 1. Humedad de maíz, masa y tortilla elaborados a diferentes temperaturas de nixtamalización**

Muestra	Humedad (%)	
	60 °C	90 °C
Nixtamal	45.85±2.03 <sup>a</sup>	46.97±1.35 <sup>a</sup>
Masa	55±0.85 <sup>a</sup>	56.8±1.76 <sup>a</sup>
Tortilla recién elaborada	37.39±2.35 <sup>a</sup>	37.17±2.59 <sup>a</sup>
Tortilla almacenada durante 24 h	28.37±2.63 <sup>a</sup>	31.92±3.03 <sup>a</sup>

Los valores con el mismo superíndice para una misma fila, resultaron estadísticamente iguales al aplicar la prueba de Fisher con un valor de  $\alpha=0.05$ .

### 7.3.1.2 Propiedades texturales de masa y tortillas

Se reporta el efecto de la temperatura de nixtamalización en la textura de la masa (dureza, adhesividad, resiliencia, cohesividad e índice de elasticidad) y como se puede observar no hubo diferencia significativa ( $\alpha=0.05$ ) en ninguna de las propiedades texturales evaluadas. Por lo que con estos resultados confirmamos que no hay efecto en la textura de la masa elaborada con nixtamal a 60 y 90 °C con la masa comercial lo cual es importante para elaborar tortillas de buena calidad.

**TABLA 2. Propiedades texturales de masas elaboradas a diferentes temperaturas de nixtamalización**

T (°C)	Dureza (N)	Adhesividad (N)	Resiliencia	Cohesividad	Índice elasticidad
60	3.79±0.39 <sup>a</sup>	-0.57±0.12 <sup>a</sup>	0.04±0.01 <sup>a</sup>	0.13±0.02 <sup>a</sup>	0.15±0.01 <sup>a</sup>
90	3.43±0.25 <sup>a</sup>	-0.55±0.06 <sup>a</sup>	0.04±0.02 <sup>a</sup>	0.13±0.03 <sup>a</sup>	0.15±0.01 <sup>a</sup>

<b>Comercial</b>	3.48±0.35 <sup>a</sup>	-0.54±0.08 <sup>a</sup>	0.05±0.02 <sup>a</sup>	0.13±0.01 <sup>a</sup>	0.17±0.02 <sup>a</sup>
------------------	------------------------	-------------------------	------------------------	------------------------	------------------------

Los valores con el mismo superíndice para una misma columna, resultaron estadísticamente iguales al aplicar la prueba de Tuckey con un valor de  $\alpha=0.05$ .

T: Temperatura de nixtamalización

En la Tabla 3 se reportan las propiedades texturales de las tortillas. Como se puede observar no existió diferencia significativa ( $\alpha=0.05$ ) en la fuerza de rollabilidad de las tortillas recién elaboradas, mientras que en las tortillas almacenadas 24 h si se presentó diferencia significativa ( $\alpha=0.05$ ). Cabe aclarara que, aunque se observa que para para las tortillas elaboradas con maíz nixtamalizado a 60 °C se requiere mayor fuerza para poder llevar a cabo la prueba de rollabilidad, en comparación con la tortilla elaborada con maíz nixtamalizado a 90 °C, en ninguno de los casos las tortillas llegan a romperse al realizarse la prueba, lo que nos indica que en ambos casos las tortillas conservaban la flexibilidad suficiente para su consumo. **Suhendro et al. (1998)** reportaron valores de rollabilidad para tortillas frescas de diferentes molinos que van de 0.20 a 0.37 N y se observa que a las 24 h hay un aumento del doble de fuerza para enrollar las tortillas, lo cual concuerda con lo obtenido en esta investigación, siendo esto más evidente en las tortillas elaboradas con maíz nixtamalizado a 60 °C, las cuales tenían menor humedad y esto favorece el proceso de retrogradación, ya que mientras menos agua exista en la tortilla, las cadenas de amilosa y amilopectina comenzarán a reasociarse más rápidamente, adquiriendo una forma rígida (**Román-Brito, 2006**).

En cuanto a la fuerza de extensibilidad, no se observaron diferencias significativas ( $\alpha=0.05$ ) tanto en tortillas recién elaboradas como en tortillas almacenadas durante 24 h. Sin embargo, en estas últimas se registró el doble de fuerza de extensibilidad, lo que indica que con el paso del tiempo las tortillas se van endureciendo y pierden la capacidad de retener el agua, y se vuelven poco flexibles/elásticas (**Román-Brito, 2006**). Los resultados obtenidos coinciden con lo reportado por **Salinas-Moreno et al. (2011)**, ya que observaron la misma tendencia del aumento en la fuerza de extensibilidad de las tortillas almacenadas durante 24 h.



**TABLA 3. Propiedades texturales de tortillas elaboradas a diferentes temperaturas de nixtamalización**

Almacenami	T (°C)	Fuerza de rollabilidad (N)	Fuerza de extensibilidad (N)
0 h	60	0.27±0.06 <sup>a</sup>	1.22±0.12 <sup>a</sup>
	90	0.22±0.05 <sup>a</sup>	1.03±0.05 <sup>a</sup>
	Comercial	0.261±0.03 <sup>a</sup>	1.07±0.09 <sup>a</sup>
24 h	60	0.47±0.05 <sup>b</sup>	3.5±0.34 <sup>a</sup>
	90	0.38±0.02 <sup>a</sup>	3.55±0.1 <sup>a</sup>
	Comercial	0.36±0.02 <sup>a</sup>	3.07±0.88 <sup>a</sup>

Los valores con el mismo superíndice para una misma columna, resultaron estadísticamente iguales al aplicar la prueba de Tuckey con un valor de  $\alpha=0.05$ .

T: Temperatura de nixtamalización: NR: no realizado

### 7.3.1.3 Análisis de color en masa y tortillas

En la tabla 4 se reportan las variables ( $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ) del análisis de color de masa y tortillas elaboradas. No se observaron diferencias significativas ( $\alpha=0.05$ ) en la luminosidad ni en la cromaticidad tanto en masa como en tortilla. Comparado estos resultados con lo reportado por **Ruíz-Gutiérrez et al. (2012)**, se observa que la luminosidad ( $L^*$ ) y la cromaticidad ( $b^*$ ) se encuentran en los mismos rangos; sin embargo, para la cromaticidad ( $a^*$ ) no ocurre lo mismo, ya que reportan un valor de -0.545. Esta diferencia puede atribuirse a las distintas condiciones de nixtamalización, como temperatura (80 °C), agitación y tiempo de cocción (60 min). Esto indica, que sus muestras presentan una tonalidad que está en la gama de los verdes, mientras que en este estudio la tonalidad está en la gama de los rojos. **Sánchez-Madrigal et al. (2015)** reportan resultados parecidos en las variables  $L^*$  y  $b^*$  pero en la variable  $a^*$  los

valores son negativos, lo que indica una tonalidad en la gama de verde y lo cual puede atribuirse al tipo de maíz empleado en esa investigación.

**TABLA 4. Color de masa y tortillas elaboradas a diferentes temperaturas de nixtamalización**

Muestra	T (°C)	L*	a*	b*
Masa	60	84.89±1.07 <sup>a</sup>	1.80±0.15 <sup>a</sup>	13.99±0.67 <sup>a</sup>
Masa	90	82.61±1.46 <sup>a</sup>	1.91±0.27 <sup>a</sup>	15.54±1.07 <sup>a</sup>
Tortilla	60	61.46±1.64 <sup>a</sup>	5.12±0.64 <sup>a</sup>	19.77±0.98 <sup>a</sup>
Tortilla	90	60.70±2.11 <sup>a</sup>	7.08±0.88 <sup>a</sup>	24.51±1.22 <sup>a</sup>

T: temperatura de nixtamalización. L\*:luminosidad, a\*: cromaticidad verde-rojo, b\*: cromaticidad azul-amarillo. Los valores con el mismo superíndice para la muestras de una misma columna, resultaron estadísticamente iguales al aplicar la prueba de Tukey con un valor de  $\alpha=0.05$

### 7.3.2 Efecto de la adición de sólidos de nejayote en masa y tortilla

#### 7.3.2.1 Humedad en masa y tortillas

En tabla 5 se puede observar el efecto que tiene la adición de los sólidos del nejayote en la masa y las tortillas. Las masas se elaboraron con una humedad de aproximadamente 55% y esto se estandarizó con la adición de la suspensión de sólidos de nejayote. En las tortillas recién elaboradas si se observó una diferencia significativa ( $\alpha=0.05$ ) en la humedad, siendo mayor la pérdida de agua (20%) en las tortillas elaboradas con el nixtamal de 60 °C. Mientras que en las tortillas almacenadas durante 24 h no hubo una diferencia significativa ( $\alpha=0.05$ ) en la humedad.

Por otra parte, comparando la humedad de las tortillas con y sin adición de sólidos de nejayote (Tabla 1 y 5), podemos observar que para las tortillas tanto recién elaboradas como almacenadas durante 24 h, no hay cambios significativos ( $\alpha=0.05$ ), lo cual nos indica que la adición de sólidos no tiene algún efecto en la humedad de masa y tortilla de maíz nixtamalizado.

**TABLA 5. Humedad de maíz, masa y tortilla elaborados a diferentes temperaturas de nixtamalización y adicionados con sólidos del nejayote**

Muestra	Humedad (%)	
	60 °C	90 °C
Masa	55±0.59 <sup>a</sup>	55±0.34 <sup>a</sup>
Tortilla recién Elaborada	35.70±1.90 <sup>a</sup>	40.86±1.61 <sup>b</sup>
Tortilla almacenada durante 24 h	30.33±3.23 <sup>a</sup>	30.56±2.39 <sup>a</sup>

Los valores con el mismo superíndice para una misma fila, resultaron estadísticamente iguales al aplicar la prueba de Fisher con un valor de  $\alpha=0.05$ .

### 7.3.2.2 Propiedades texturales de masa y tortillas

En la Tabla 6 podemos observar el efecto de la adición de sólidos del nejayote en la textura de masa. De igual forma que en las masas sin adición de sólidos (**Tabla 2**), no hubo diferencia significativa ( $\alpha=0.05$ ) en ninguna de las propiedades texturales estudiadas. Con esto comprobamos que no se modificó la textura de la masa al adicionar los sólidos del nejayote. **Valderrama-Bravo et al. (2015)** estudiaron las propiedades texturales de masa con la adición de diferentes porcentajes de sólidos de nejayote, reportando que la cohesividad, la resiliencia y el índice de elasticidad no presentaron diferencias; sin embargo, en la dureza, sí se presentó diferencia, que atribuyeron al carbonato de calcio presente en el nejayote.

**TABLA 6. Propiedades texturales de masas elaboradas a diferentes temperaturas de nixtamalización y adicionadas con sólidos del nejayote**

<b>T</b> <b>(°C)</b>	<b>Dureza</b> <b>(N)</b>	<b>Adhesividad</b> <b>(N)</b>	<b>Resiliencia</b>	<b>Cohesividad</b>	<b>Índice</b> <b>Elasticidad</b>
<b>90</b>	3.01±0.39 <sup>a</sup>	-0.54±0.09 <sup>a</sup>	0.04±0.01 <sup>a</sup>	0.14±0.02 <sup>a</sup>	0.16±0.01 <sup>a</sup>
<b>60</b>	3.06±0.37 <sup>a</sup>	-0.52±0.08 <sup>a</sup>	0.05±0.02 <sup>a</sup>	0.14±0.01 <sup>a</sup>	0.17±0.02 <sup>a</sup>

Los valores con el mismo superíndice para una misma columna, resultaron estadísticamente iguales al aplicar la prueba de Tuckey con un valor de  $\alpha=0.05$ .

T: Temperatura de nixtamalización

Al comparar los resultados de las propiedades texturales de las masas elaboradas a las diferentes temperaturas con y sin adición de sólidos provenientes del nejayote (**ANEXO**), se puede observar que, para el caso de fuerza adhesiva, resiliencia, cohesividad e índice de elasticidad no se observan diferencias significativas ( $\alpha=0.05$ ). Para el caso de la dureza se observan diferencias significativas ( $\alpha=0.05$ ) para el caso de los tratamientos a 60 °C, que en el caso con adición de sólidos se requiere menor fuerza en comparación con la masa sin sólidos.

En la Tabla 7 se reportan las propiedades texturales de las tortillas elaboradas con adición de sólidos. Como se puede observar, no existió diferencia significativa ( $\alpha=0.05$ )

en la fuerza de rollabilidad y en la fuerza de extensibilidad tanto en tortillas recién elaboradas como en tortillas almacenadas durante 24 h en las dos temperaturas de nixtamalización.

**TABLA 7. Propiedades texturales de tortillas elaboradas a diferentes temperaturas de nixtamalización y adicionadas con sólidos del nejayote**

Almacenami	T	Fuerza de rollabilidad	Fuerza de extensibilidad
	(°C)	(N)	(N)
<b>0 h</b>	<b>90</b>	0.22±0.03 <sup>a</sup>	1.31±0.13 <sup>a</sup>
	<b>60</b>	0.21±0.03 <sup>a</sup>	1.22±0.34 <sup>a</sup>
<b>24 h</b>	<b>90</b>	0.45±0.06 <sup>a</sup>	2.99±0.33 <sup>a</sup>
	<b>60</b>	0.41±0.07 <sup>a</sup>	2.72±0.52 <sup>a</sup>

Los valores con el mismo superíndice para una misma columna, resultaron estadísticamente iguales al aplicar la prueba de Tuckey con un valor de  $\alpha=0.05$ .

T: Temperatura de nixtamalización: NR: no realizado

Al comparar las propiedades texturales de tortillas elaboradas con y sin adición de sólidos provenientes del nejayote (**ANEXO**) podemos observar que para el caso de la extensibilidad al tiempo cero se aprecian diferencias significativas ( $\alpha=0.05$ ) ya que para las tortillas elaboradas con masa de maíz nixtamalizado a 90 °C y sin adición de sólidos provenientes del nejayote se necesita una menor fuerza que las elaboradas a 90 °C con la adición de los sólidos. Para esta misma propiedad, pero evaluada a las 24 horas se vuelve a observar diferencias significativas ( $\alpha=0.05$ ) para las tortillas elaboradas a 90 °C, pero ahora al revés, siendo el tratamiento adicionado con sólidos provenientes del nejayote el que necesita una menor fuerza para llevar a cabo la prueba de extensibilidad. Por lo que podemos decir que la adición de sólidos afecta a la extensibilidad, pero solo para las tortillas de 90 °C.

Para el caso de la rollabilidad no se observan diferencias significativas ( $\alpha=0.05$ ) con la adición de los sólidos provenientes del nejayote.

### 7.3.3 Análisis de color en masa y tortillas

En la Tabla 8 se reportan las variables del análisis de color de masa y tortillas elaboradas con adición de sólidos del nejayote. No se observó diferencia significativa ( $\alpha=0.05$ ) en las tres variables estudiadas ( $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ) tanto en masa como en tortilla. Al comparar con los valores de las muestras sin adición de sólidos de nejayote (Tabla 4), tampoco se observaron diferencias significativas ( $\alpha=0.05$ ), por lo que podemos decir que la adición de sólidos no afecta el color de los productos obtenidos.

**TABLA 8. Color de masa y tortillas elaboradas a diferentes temperaturas de nixtamalización y adicionadas con sólidos del nejayote**

Muestra	T (°C)	$L^*$	$a^*$	$b^*$
Masa	90	80.30±1.36 <sup>a</sup>	1.97±0.25 <sup>a</sup>	14.51±0.78 <sup>a</sup>
Masa	60	82.69±1.03 <sup>a</sup>	2.18±0.18 <sup>a</sup>	14.62±0.57 <sup>a</sup>
Tortilla	90	58.84±1.88 <sup>a</sup>	6.29±0.87 <sup>a</sup>	20.39±1.29 <sup>a</sup>
Tortilla	60	57.25±2.03 <sup>a</sup>	7.02±0.51 <sup>a</sup>	21.48±0.53 <sup>a</sup>

T: temperatura de nixtamalización.  $L^*$ :luminosidad,  $a^*$ : cromaticidad verde-rojo,  $b^*$ : cromaticidad azul-amarillo. Los valores con el mismo superíndice para las muestras de una misma columna, resultaron estadísticamente iguales al aplicar la prueba de Tukey con un valor de  $\alpha=0.05$

En la Tabla 9 se reporta la diferencia de color ( $\Delta E$ ) entre los tratamientos con y sin adición de sólidos provenientes del nejayote a una misma temperatura de nixtamalización. Se puede observar que tanto para masa como para tortillas se muestra variación en el color, debido a la adición de sólidos de nejayote, siendo esta más notoria para las tortillas. Sin embargo, tanto en masa como en tortillas se cumplen con las normas de aceptación (**ISO 12647-2**), la cual nos dice que para valores de  $\Delta E$  superiores a 2 la diferencia de color será cada vez más apreciable, un  $\Delta E$  entre 2 y 3 resulta apreciable pero gusta, un  $\Delta E$  entre 3 y 4 supone una diferencia de color evidente pero no perjudica al trabajo, un  $\Delta E$  entre 4 y 5 está al límite de la aceptación y un  $\Delta E$  superior a 5 resulta inaceptable. Los resultados anteriores nos indican que a pesar de que la adición de sólidos ocasiona variación en el color, esta es aceptable,

siendo considerada para el caso de las masas una variación normal y para el caso de las tortillas la calidad es suficiente para lograr una aceptación en el color según lo reportado por **Manresa-González y Vicente (2007)**. Dicha variación puede ser explicada por la presencia de hidróxido de calcio, los pigmentos carotenoides y flavonoides presentes en el nejayote, los cuales le dan una coloración amarilla.

**TABLA 9. Diferencia de color en masa y tortillas elaboradas a diferentes temperaturas de nixtamalización y adicionadas con sólidos del nejayote**

<b>Muestra</b>	<b>T</b>	<b><math>\Delta E</math></b>
	<b>(°C)</b>	
<b>Masa</b>	90	2.5
<b>Masa</b>	60	2.3
<b>Tortilla</b>	90	4.6
<b>Tortilla</b>	60	4.9

T: temperatura de nixtamalización

## 7.4 CONCLUSIONES

La temperatura de nixtamalización no afectó las propiedades texturales de masa y tortillas, logrando obtener productos con características similares a los productos comerciales.

En cuanto a la adición de sólidos provenientes del nejayote, se observó que tiene un efecto positivo al disminuir la dureza en la masa de 60°C; para el caso de las tortillas afecta a la extensibilidad a 90 °C y no modifica la rollabilidad, ni de la masa ni de tortillas obteniéndose productos con las mismas características que el producto comercial.

Con estos resultados se puede proponer un proceso integral de elaboración de masa y tortilla, en el cual se recuperarían los sólidos del nejayote disminuyendo la contaminación que este efluente ocasiona y se obtendría masa y tortillas fortificada con calcio y fibra.

## 7.5 BIBLIOGRAFIA

- Acosta-Estrada, B., Lazo-Vélez, M., Nava-Valdez, Y., Gutiérrez- Uribe, J., & Serna-Saldivar, S. (2014). Improvement of dietary fiber ferulic acid and calcium contents in pan bread enriched with nejayote food additive from white maize (*Zea mays*). *Journal of Cereal Science*. 60, 264-269.
- Arámbula-Villa, G., Méndez-Albores, J.A., González-Hernández, J., Gutiérrez-Arias, E. y Moreno-Martínez, E. (2004). Evaluación de una metodología para determinar características de textura de tortilla de maíz (*Zea mays* L.) Arch. Latinoam. Nutr. 54, 216-222.
- De Teresa O, Viniegra G. (2009). Temas selectos de la cadena Maíz-Tortilla, Un enfoque multidisciplinario. Ed. Universidad Autónoma Metropolitana, México. Pág.143-170.
- ISO 12.647-2
- Gasca-Mancera J, N Casas-Alencáster (2007) Adición de harina de maíz nixtamalizado a masa fresca de maíz nixtamalizado. Efecto en las propiedades texturales de masa y tortilla. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 6(3):317-328.
- Jiménez- Contreras, B., Morales-Sánchez, E., Reyes-Vega, M. L. y Gaytán-Martínez, M. (2014) Propiedades funcionales de harinas de maíz nixtamalizado obtenidas por extrusión a baja temperatura, *CyTA - Journal of Food*. 12(3), 263-270.
- Manresa-González, A. y Vicente, I. (2007). Color en la industria del color. Ed. Universitaria, La Habana, Cuba. Pág. 33-39.
- Martínez-Bustos, F., Martínez-Flores, H.E., Sanmartin-Martinez, E., Sanchez-Sinencio, F., Chang, Y. K., Barrera-Arellano, D. y Ríos, E. (2001). Effects of the components of maize on the quality of masa and tortilla during the traditional nixtamalisation process. *J. Sci. Food Agric*. 81, 1455-1462.



- Ramírez-Romero, G. and Ambriz-Garcia, J.J. (2012). Proceso de nixtamalización a bajas temperaturas. Patent Pending DAJ 366.12.DPI.
- Román-Brito, J. A. (2006). Determinación del perfil viscoelástico y de textura en tortillas de maíz adicionadas con goma xantana. Tesis maestría. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, IPN, Morelos, México.
- Rosentrater, K. A. (2006). A review of corn masa processing residues: Generation, properties, and potential utilization. *Waste Management*. 26, 284-292.
- Ruiz-Gutiérrez M. G., Quintero-Ramos, A., Méendez-Pizarro, C. O., Talamás-Abbud, R., Barnard, J., Márquez-Melendez, R. y Lardizábal-Gutiérrez, D. (2012). Nixtamalization in two steps with different calcium salts and the relationship with chemical, texture and thermal properties in masa and tortilla. *Journal of Food Engineering*. 35:772-783.
- Salinas-Moreno, Y. y Aguilar-Modesto, L. (2010). Effect of maize (*Zea mays L.*) grain hardness on yield and quality of tortilla. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas*. 2(1), 5-11.
- Sánchez-Madriral, M. A., Melendez-Pizarro, C. O., Martínez-Bustos, F., Ruiz-Gutiérrez, M. G., Quintero-Ramos, A., Márquez-Melendez, R., Lardizabal-Gutiérrez, D. y Campos-Venegas, K. (2013). Structural, functional, thermal and rheological properties of nixtamalized and extruded blue maize (*Zea mays L.*) flour with different calcium sources. *International Journal of Food Science and Technology*. 1-9.
- Sierra-Macías, M., Palafox-Caballero, A., Vázquez-Carrillo, G., Rodríguez-Montalvo, F. y Espinosa-Calderón, A. (2010). Caracterización agronómica, calidad industrial y nutricional de maíz para el trópico mexicano. *Agronomía mesoamericana*. 21(1), 21-29.
- Suhendro, E.L., Almeida-Dominguez, H.D., Rooney, L.W. y Waniska, R.D. (1998). Objective rollability method for corn tortilla texture measurement. *Cereal Chem*. 75, 320-324.

- Suhendro E, Almeida L, Rooney K, Waniske R y Moreira R. (1999). Use of extensibility to measure corn tortilla texture. *American Association of Cereal Chemists*. 76:536-540.
- Valderrama-Bravo, C, López-Ramírez, Y., Jiménez-Ambriz, S., Oaxaca-Luna, A., Domínguez-Pacheco, A, Hernández-Aguilar, C. y Moreno-Martínez, E. (2015). Changes in chemical, viscoelastic, and textural properties of nixtamalized dough with nejayote. *Food Science and Technology* 61, 496-502.

## 8. ANÁLISIS POR BIOLOGÍA MOLECULAR DE MICROBIOTA PRESENTE EN EL PROCESO DE NIXTAMALIZACIÓN

### 8.1 INTRODUCCIÓN

La microbiota de la masa de maíz y productos afines puede provenir del suelo, del ambiente del almacén o de la etapa de manipulación y elaboración. Aun así, si están adecuadamente almacenados (y aunque estos productos sean ricos en proteínas y carbohidratos) su baja actividad de agua ( $a_w$ ) restringiría el crecimiento de cualquier microorganismo. Debido al mal almacenamiento y a los tiempos prolongados de éste, el grano de maíz puede ser contaminado con hongos, algunos de los cuales producen aflatoxinas que son tóxicas para el ser humano y los animales (**García *et al.*, 2001**).

Hay muy pocos estudios sobre la microbiota tanto del maíz como durante el proceso de nixtamalización (**Chávez *et al.*, 1996; FAO, 1993**). **Sefa *et al.* (2000)**, por ejemplo, reportaron la presencia de bacterias ácido lácticas, mesófilas aerobias y levaduras en la masa de maíz. Los métodos microbiológicos utilizados comúnmente en la detección de estos microorganismos de origen alimentario son laboriosos y consumen mucho tiempo. Esta situación, aunada a la demanda de resultados inmediatos y a los avances tecnológicos, ha conducido al desarrollo de una amplia gama de métodos rápidos en las últimas décadas, siendo las técnicas moleculares las de mayor auge. Estas técnicas se basan en el análisis de los ácidos nucleicos extraídos de los microorganismos, bien en forma directa o de una muestra de alimento que contenga al microorganismo en cuestión (**Rodríguez *et al.*, 2009**).

La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) es una amplificación enzimática *in vitro* de ADN y es la técnica más utilizada en la actualidad para la detección de microorganismos. Se basa en la repetición de ciclos consecutivos de temperaturas para la desnaturalización, unión de cebadores y extensión de la cadena mediante una enzima Taq polimerasa. El proceso permite la amplificación exponencial de una secuencia de ácidos nucleicos rodeada por secuencias homólogas a cebadores sintéticos previamente diseñados.

La electroforesis en gradiente desnaturante (DGGE) permite una rápida visualización de cambios de hasta una sola base en fragmentos de ADN. La técnica se basa en la migración de moléculas de ADN a través de geles de poliacrilamida que contienen concentraciones crecientes de un agente desnaturante. Cuando se combina con PCR, la DGGE es uno de los métodos elegidos para la identificación de comunidades microbianas (**Díaz-Ruíz y Wachter-Rodarte, 2003**).

La mayoría de los métodos de secuenciación automática utilizados actualmente son modificaciones del método desarrollado por Sanger y colaboradores a finales de los años 70. En este método, el ADN que será secuenciado funciona como un molde para la síntesis enzimática de un nuevo ADN que comienza en un sitio definido por la unión de un cebador. En la reacción se utiliza una mezcla de desoxinucleótidos y didesoxinucleótidos a unas concentraciones que crean una probabilidad finita de que un didesoxinucleótido se incorpore en lugar del correspondiente desoxinucleótido en cada posición de la cadena que está siendo sintetizada (**Howe J. y Ward S. 1989**).

## **8.2 MATERIALES Y METODOS**

### **8.2.1 Material**

Se analizaron las muestras de maíz crudo y a diferentes tiempos de nixtamalización, masa y tortilla, para el proceso tradicional (90°C) y el llevado a cabo a 50°C; ambos procesos fueron llevados a cabo en el molino “El Esfuerzo”. A excepción de la masa, todas las demás muestras fueron trituradas con N<sub>2</sub> líquido para obtener un polvo fino y trabajar con él.

### **8.2.2 Extracción DNA**

Se tomaron 0.5 g de cada una de las muestras y se realizó la extracción de ADN total usando el *Ultra Clean soil DNA isolation kit* (MoBio, IECSA, México), bajo las indicaciones del fabricante. Para verificar la calidad del ADN se analizaron las extracciones en un gel de agarosa al 1%. La electroforesis se realizó a 100 V durante 40

minutos. Posteriormente el gel se observó en un fotodocumentador Gel Doc 2000 de Bio-Rad (Bio-Rad, Inc.).

### 8.2.3 PCR

Los fragmentos de 16S rADN son amplificados utilizando los cebadores EUBf933-CG-clamp y EUBr1387, los cuales son específicos para una secuencia conservada del ADNr 16S del dominio Bacteria (Iwamoto *et al.*, 2000). Para prevenir la disociación completa de los fragmentos de ADN durante el análisis por DGGE, una abrazadera (clamp) de 40-pb rica en GC fue incorporada en la posición 5' final del cebador EUBf933 (Myers *et al.*, 1985).

Como las condiciones para llevar a cabo la reacción no estaban completamente definidas, se hizo un gradiente de temperatura para encontrar cuál era en la que se obtenían mejores resultados. De manera general, las condiciones para la amplificación fueron las siguientes: 94°C/5 min, 30 ciclos de 94°C/1 min, 65-55°C/1 min y 72°C/3 min y finalmente un ciclo de 72°C/7 min. Cada reacción contenía 1x *Taq* Pol buffer, 3 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM dNTPs, 100 pmol de oligonucleótidos, 200 ng ADN y 2 U *Taq* Pol (GoFlex *Taq*Pol A, Promega), en un volumen final de 50 µL. Nuevamente, se realizó un gel de agarosa, pero ahora al 2% para verificar la calidad del ADN amplificado, en las mismas condiciones descritas anteriormente.

### 8.2.4 DGGE

Se tomaron 20 µL de las reacciones de PCR y se cargaron en geles de poliacrilamida al 8 %, urea 7 M, 40% formamida TAE 0.5x. Se hizo un gradiente desnaturalizante de 20°C a 55°C (Iwamoto *et al.*, 2000) y la electroforesis se realizó a 85 V durante 16 horas. El gel se reveló durante 3 horas con nitrato de plata y se analizó en un fotodocumentador Gel Doc 2000 de Bio-Rad.

### 8.2.5 Purificación y secuenciación

Se analizaron los geles de DGGE con gradiente 35-45 y 45-55%, se cortaron las bandas presentes, se dejaron en refrigeración toda una noche en agua destilada y se hizo una PCR para su re-amplificación y posterior secuenciación.

Utilizando el ADN previamente amplificado (PCR), se llevó a cabo una etapa de purificación, utilizando el kit *Montage PCR Centrifugal Filter Device*, al cual se adicionaron 380  $\mu\text{L}$  de agua más 20  $\mu\text{L}$  de la muestra de ADN y se centrifugó a 1000 x G durante 15 minutos. Pasado este tiempo, se cambió de vial y se invirtió la columna; se agregaron 20  $\mu\text{L}$  de agua y se centrifugó nuevamente a 1000 x G durante dos minutos. Posteriormente se realizó un gel de agarosa (1%) para comprobar que durante el proceso de purificación el ADN no hubiera sufrido algún daño.

Para la secuenciación se utilizó el kit Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing (Applied Biosystems). Se emplearon dos cebadores (PdH y PdL) con la finalidad de obtener la secuencia de ambas cadenas, productos de PCR de aproximadamente 700 pb y un reactivo (Big Dye), el cual contiene ya los cuatro ddNTPs, cada uno de ellos marcados con fluorocromos distintos, como terminadores de la reacción; para tener un volumen total de 10  $\mu\text{L}$ . La mezcla de reacción fue la siguiente: Big Dye, 2  $\mu\text{L}$ ; Buffer de secuenciación (5x), 2  $\mu\text{L}$ ; cebador, 1  $\mu\text{L}$ ; AND, 3  $\mu\text{L}$  y agua (nuclease-free), 2  $\mu\text{L}$ . Se corrió la reacción de secuenciación en un termociclador siguiendo el siguiente programa: 96°C/1 min, 27 ciclos de 96°C/10 segundos, 50°C/5 segundos y 60°C/4 segundos.

Antes de llevar a cabo la secuenciación, se llevó a cabo una etapa de purificación, esta con el fin de eliminar los ddNTPs. Se empleó el kit DyeEx 96 de Qiagen, el cual consta de una placa con 96 pozos la cual tiene columnas de Sephadex. Las muestras diluidas al 50% (agua) fueron centrifugadas a 3100 rpm durante 3 minutos (cuidando no perforar las columnas); después se agregaron 10  $\mu\text{L}$  de formamida a cada pozo.

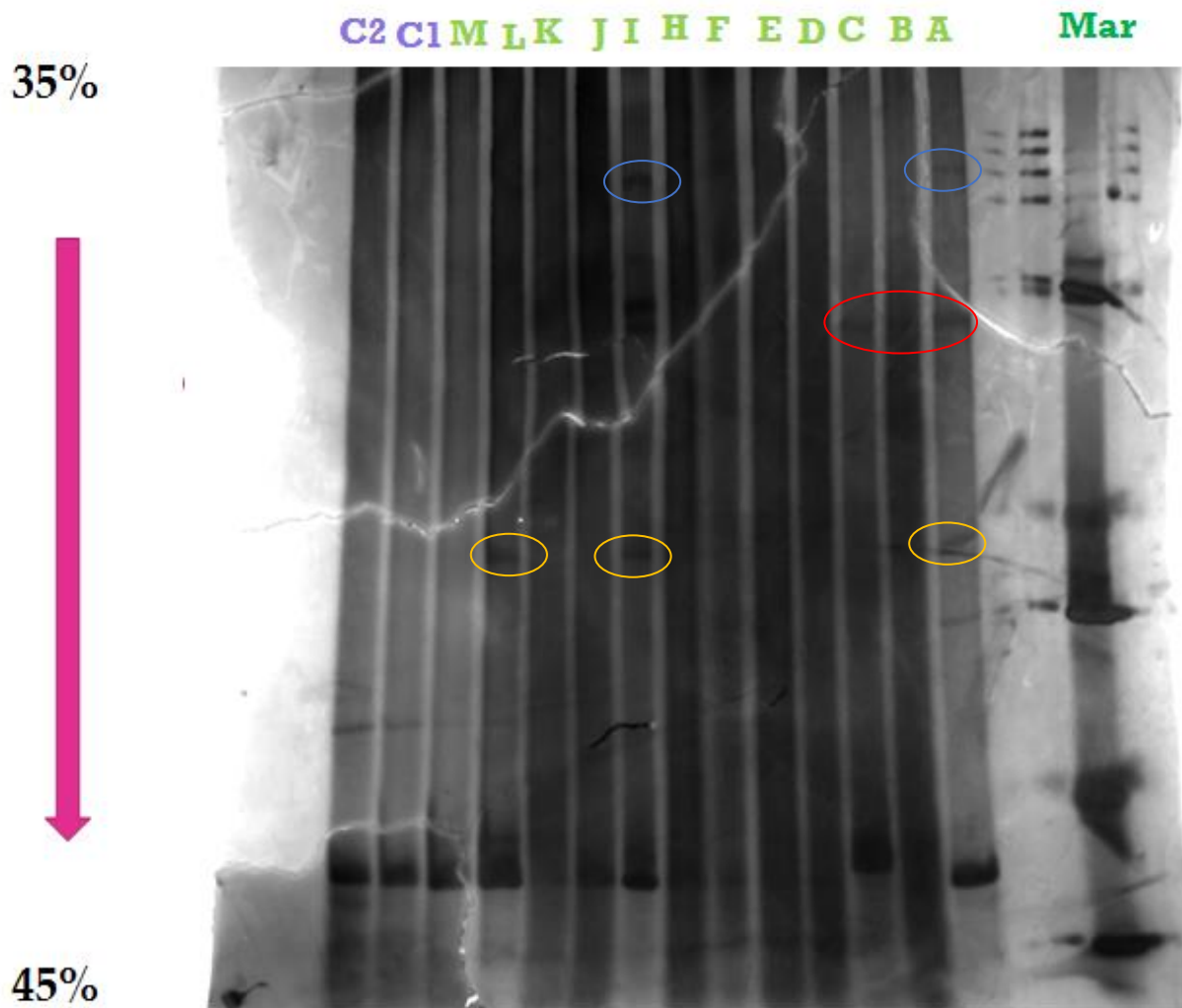
Se utilizó un secuenciador 3130XI Genetic Analyzer (Applied Biosystems), el cual tiene como fundamento la electroforesis capilar, que puede tomar 16 muestras simultáneamente. Después de haber colocado la placa en el equipo, se abrió en la

computadora el software del equipo (Data Collection Version 3.1.0) en el cual se cargaron los datos de las muestras y se colocaron las indicaciones de la corrida.

Para llevar a cabo el análisis de las secuencias obtenidas, se empleó el programa Chromas lite 2.01, con el cual exportas los datos a la página de NCBI, a la sección Blast Nucleotide y se lleva la comparación buscando similitudes con otros organismos.

### **8.3 RESULTADOS Y DISCUSIONES**

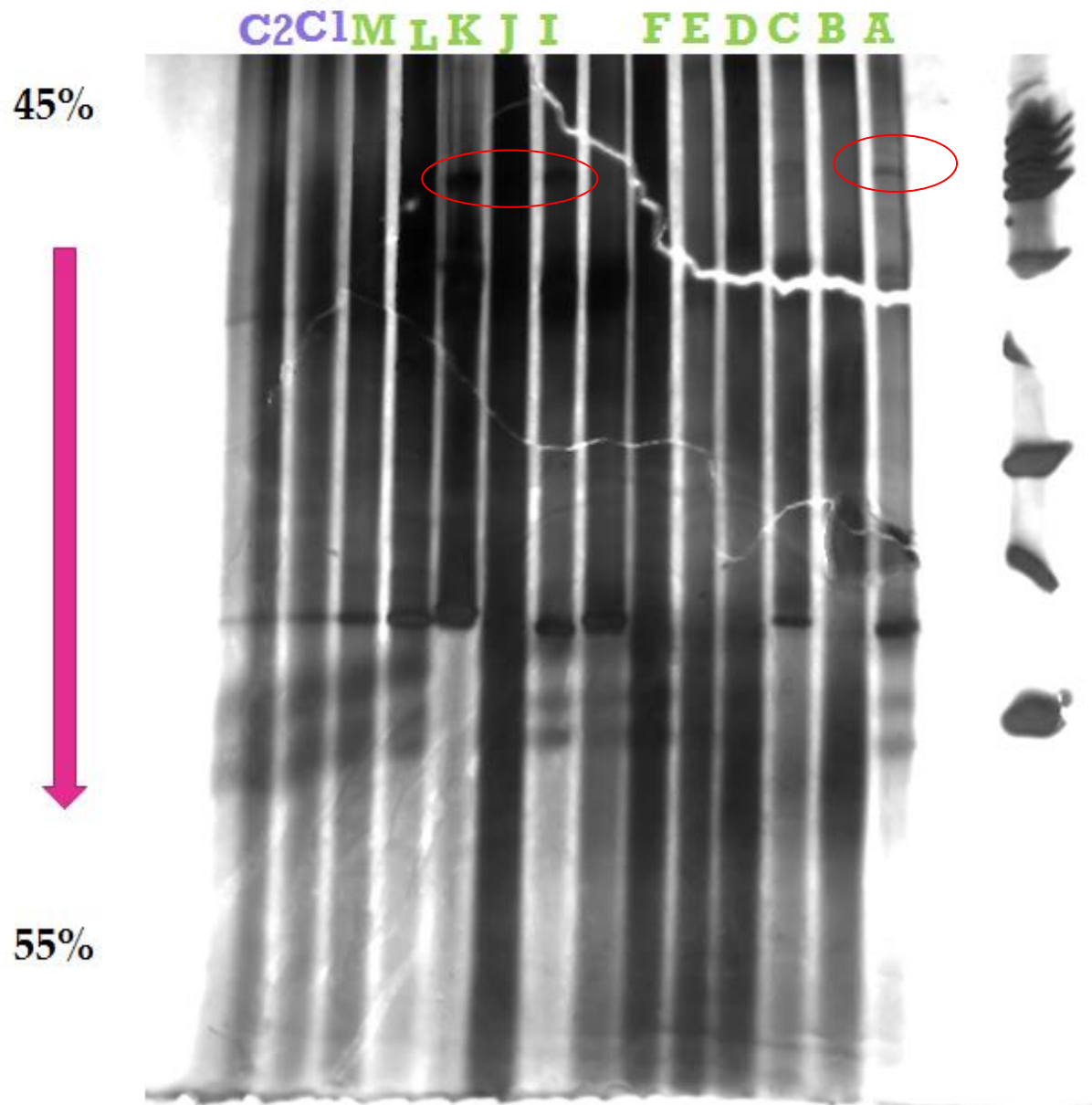
Se analizaron los geles obtenidos por DGGE con dos gradientes, 35-45% (FIG 1) y 45-55% (FIG 2), obteniéndose un total de 130 bandas (Tabla 1).



**FIG 1.** Gel de acrilamida al 8%, con gradiente desnaturante 35-45%, con muestras de maíz crudo, nixtamalizado, masa y tortilla a 90 y 50°C.

Mar: Marcador de peso molecular, C1 y C2 muestra control, que contiene seis bacterias distintas.





**FIG 2.** Gel de acrilamida al 8%, con gradiente desnaturalizante 45-55%, con muestras de maíz crudo, nixtamalizado, masa y tortilla a 90 y 50°C.

Mar: Marcador de peso molecular, C1 y C2 muestra control, que contiene seis bacterias distintas.

En la tabla 1 se puede observar que en el maíz crudo hay una mayor presencia de bandas, las cuales disminuyen a la mitad después del tiempo 0 en las dos condiciones (10 min de cocción en ambas temperaturas). En el caso de las muestras de maíz nixtamalizado a 90°C, a pesar de que a las tres horas se observa una disminución en el número de bandas, al término del tiempo de reposo (24 h) se conserva el número de bandas, el cual se mantiene igual durante el proceso de obtención de masa y tortillas. Para el caso de las muestras de maíz nixtamalizado a 50°C, se observa una disminución en el número de bandas hasta las tres horas, pero a las 4 horas de reposo, el número de bandas aumenta casi el doble, para después disminuir y terminar el tiempo de reposo con el mismo número de bandas que las obtenidas con la temperatura de 90°C; manteniéndose el mismo número al obtener masa y tortillas.

**TABLA 1. Bandas obtenidas en los geles DGGE**

<b>Muestra</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Tiempo (horas)</b>	<b>Gel 35-45</b>	<b>Gel 45-55</b>	<b>Total Bandas</b>
<b>A</b>		Maíz crudo	7	5	12
<b>B</b>	90	0	6	0	6
<b>C</b>	90	3	1	3	4
<b>D</b>	90	22 h	5	1	6
<b>E</b>	90	Masa	6	-	6
<b>F</b>	90	Tortilla	6	-	6
<b>G</b>	50	0 h	5	-	5
<b>H</b>	50	3 h	4	1	5
<b>I</b>	50	4 h	5	4	9
<b>J</b>	50	6 h	5	-	5
<b>K</b>	50	24 h	4	2	6
<b>L</b>	50	Masa	8	3	11
<b>M</b>	50	Tortilla	7	3	10

Hay que aclarar en este punto que, aunque el número de bandas es igual, sí se modifica el patrón de las bandas obtenidas. Para las muestras de maíz crudo y tiempo 0 y 3 h a 90°C se observa que una banda se conserva, desapareciendo a las 24 h.

Para el caso de las muestras del proceso a 50°C, se observa la presencia de una banda que aparece desde el maíz crudo, y vuelve a aparecer a las 4 y 24 h de reposo, pero que ya no se encuentra presente en la masa. También en este mismo proceso, existe otra banda que aparece en el maíz crudo y vuelve a aparecer a las 4 h de reposo y posteriormente en la masa.

Al analizar los resultados obtenidos de la secuenciación, se observó que algunas muestras de ADN no tenían la calidad suficiente y no pudo obtenerse su secuencia de nucleótidos. Para el resto, al compararlas en la base de datos de NCBI se encontró que ninguna alcanzaba el porcentaje de similitud adecuada para permitir su identificación. Esto pudo deberse a un mal almacenamiento de las muestras durante el tratamiento o, más probablemente, a que las bandas purificadas no pertenecían a un solo microorganismo.

#### **8.4 CONCLUSIONES**

A pesar de que no se pudieron obtener resultados concluyentes con las secuencias de ADN obtenidas de las muestras, los resultados de la DGGE indicarían que durante el proceso de nixtamalización se disminuye el número de bacterias procedentes del maíz crudo.

También se observa que a 90°C el número de bacterias presentes en el nixtamal es menor que a 50°C, aunque al término del tiempo de reposo, y con la posterior elaboración de masa y tortillas, el número de bacterias vuelve a disminuir.

## 8.5 BIBLIOGRAFÍA

- Chávez H. (1996). Determinación y caracterización de microorganismos presentes en la masa para tortilla de maíz en tortillerías de Saltillo, Coahuila. Facultad de Ciencias Químicas de la UA de C.
- Díaz-Ruíz, Gloria y Wachter-Rodarte, Carmen. (2003). Métodos para el estudio de comunidades microbianas en alimentos fermentados. *Rev Latinoam Microbiol.* 45(1-2), 30-40.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). (1993). El maíz en la nutrición humana.
- García G, Martínez R y Melgarejo J. (2001). Inspección para aflatoxinas en el maíz almacenado o transportado en Sonora, 1998: Informe técnico. Anales del Instituto de Biología, UNAM, Serie Botánica. 72(2), 187-1993.
- Howe J. y Ward S. (1989). Nucleic Acids sequencing: a practical Approach. IRL Press. Oxford University.
- Iwamoto, Tomotada, Tani, Katsuji, Nakamura, Kanji, Suzuki, Yoshihiko, Kitagawa, Masayoshi, Eguchi, Masahiro y Nasu, Masao. (2000). Monitoring impact of in situ biostimulation treatment on groundwater bacterial community by DGGE. *FEMS Microbiology Ecology.* 32, 129-141.
- Myers, R.M., Fischer, S.G., Lerman, L.S. and Maniatis, T. (1985). Nearly all single base substitutions in DNA fragments joined to a GC-clamp can be detected by denaturing gradient gel electrophoresis. *Nucleic Acids Res.* 13, 3131-3145.
- Rodríguez R, Aguilar C, Ayala L, Rocha J, Padilla V y Espinosa T. (2009). Detección de microorganismos mediante métodos moleculares. *Acta Química Mexicana.* 1(1), 85-92.
- Sefa-Dedeh, S., Cornelius, B., Sakyi-Dawson, E., y Ohene-Afoakwa, E. (2000). Effect of nixtamalization on the chemical and functional properties of maize. *Food Chemistry.* 86, 317-324.

## **9 CONCLUSIONES GENERALES**

Las condiciones propuestas para los nuevos procesos de nixtamalización, las cuales incluyen el uso de bajas temperaturas, tiempos de cocción y adición de sólidos provenientes del nejayote, dan como resultado productos (masa, maíz y tortillas) con la misma calidad que los productos comerciales; por lo que dichos procesos podrían ser utilizados a nivel comercial, y un ahorro de hasta 30% en el consumo de gas, lo que se vería reflejado en un beneficio para el productor.

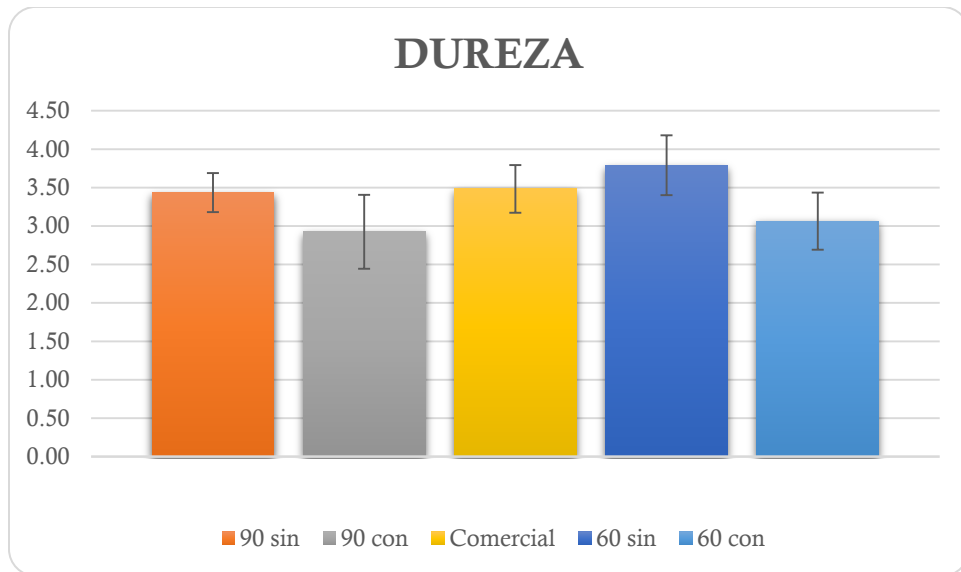
## 10 PERSPECTIVAS

- Llevar a cabo la secuenciación de las bandas obtenidas en el DGGE y así poder identificar la microbiota presente en los distintos procesos de nixtamalización, para poder caracterizarlos y encontrar las diferencias, y saber si en alguno de ellos existe la presencia de algún microorganismo patógeno.
- Hacer un análisis nutricional a las tortillas obtenidas en los procesos propuestos, para saber con exactitud su composición y así conocer cuál es el aporte adicional con respecto a la tortilla tradicional.
- Hacer un análisis sensorial, para saber la aceptación que la gente tiene con el nuevo producto, ya que, aunque hasta el momento los procesos propuestos presentan varias ventajas, si el consumidor no acepta el producto, no sería algo deseable por el molinero.

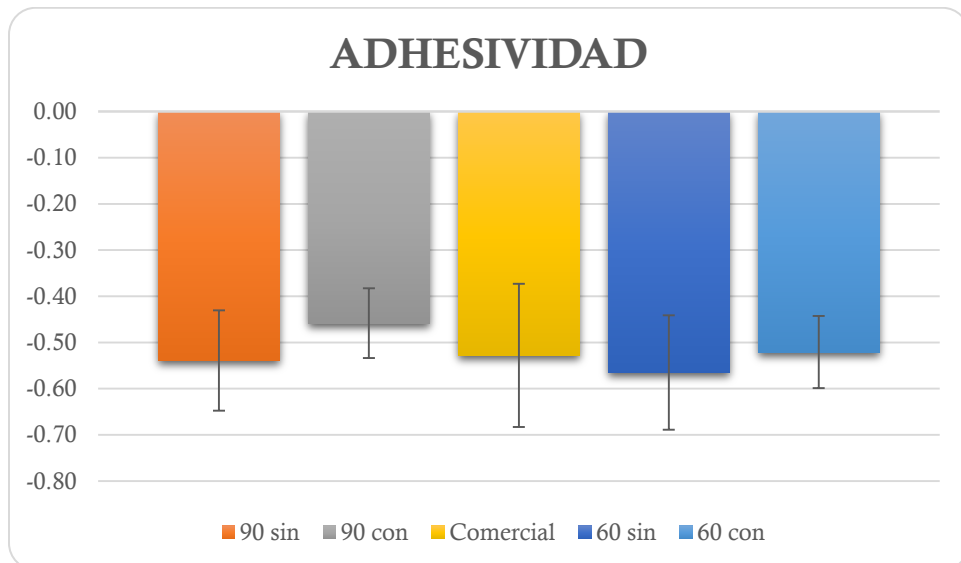
## ANEXO

### EFFECTO ADICIÓN DE SÓLIDOS PROVENIENTES DEL NEJAYOTE

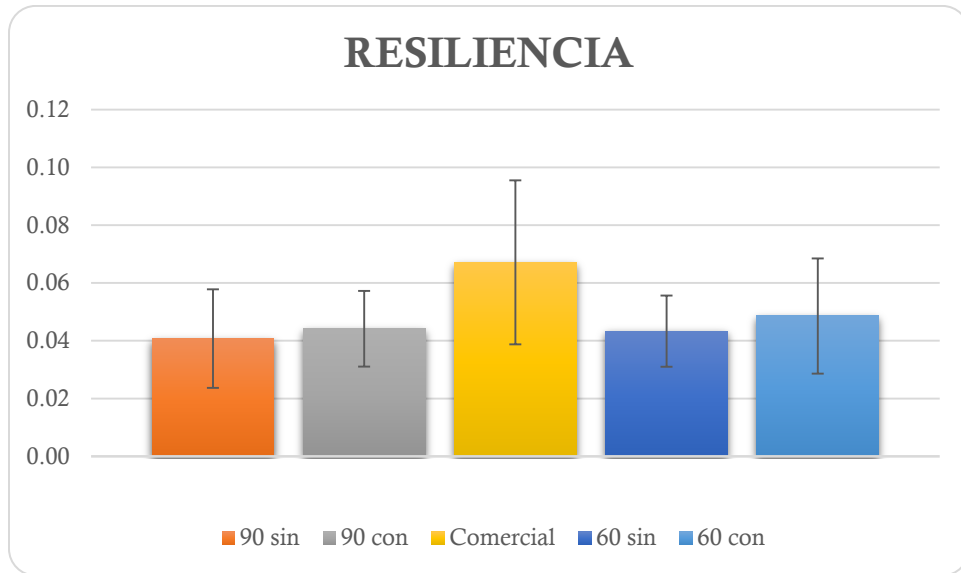
#### PROPIEDADES TEXTURALES DE MASA SIN Y CON ADICIÓN DE SÓLIDOS



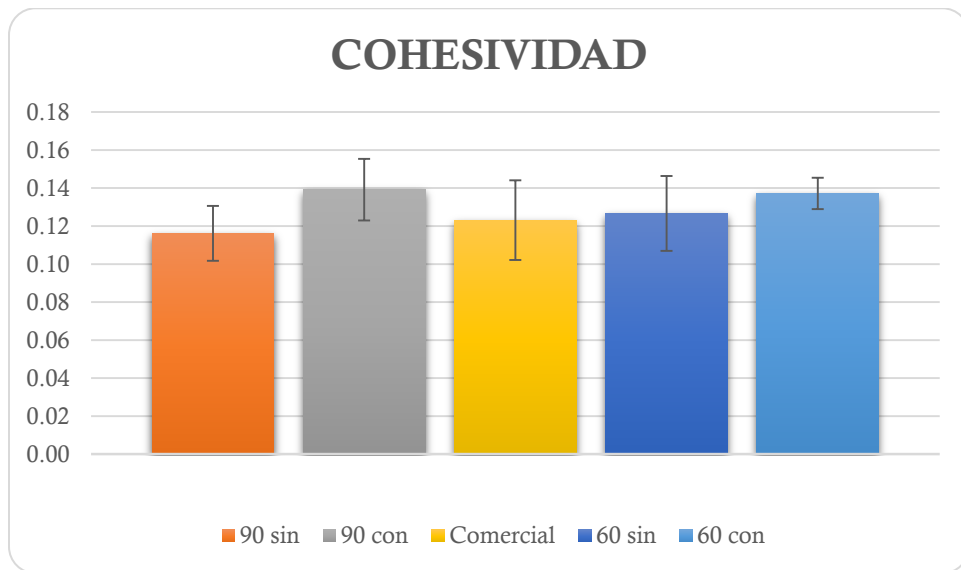
**FIG 1.** Comparativo dureza de masa con y sin adición de sólidos (Comercial, 60 y 90 °C)



**FIG 2.** Comparativo adhesividad de masa con y sin adición de sólidos (Comercial, 60 y 90 °C)

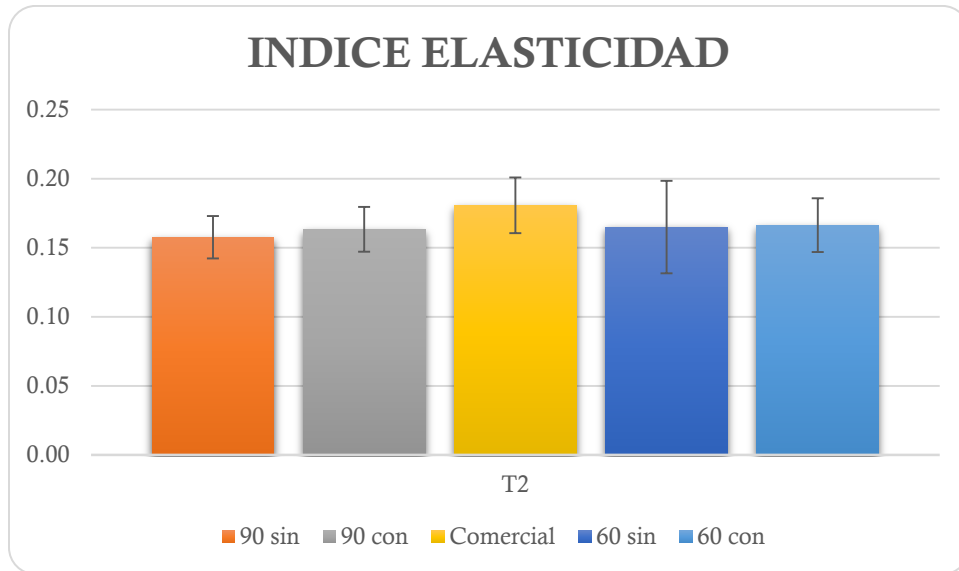


**FIG 3.** Comparativo Resiliencia de masa con y sin adición de sólidos (Comercial, 60 y 90 °C)



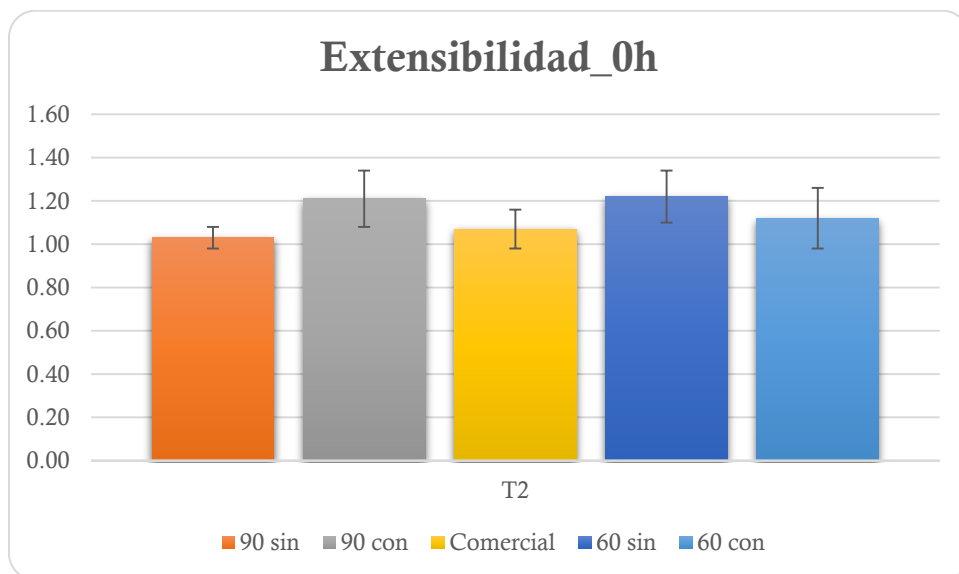
**FIG 4.** Comparativo Cohesividad de masa con y sin adición de sólidos (Comercial, 60 y 90 °C)



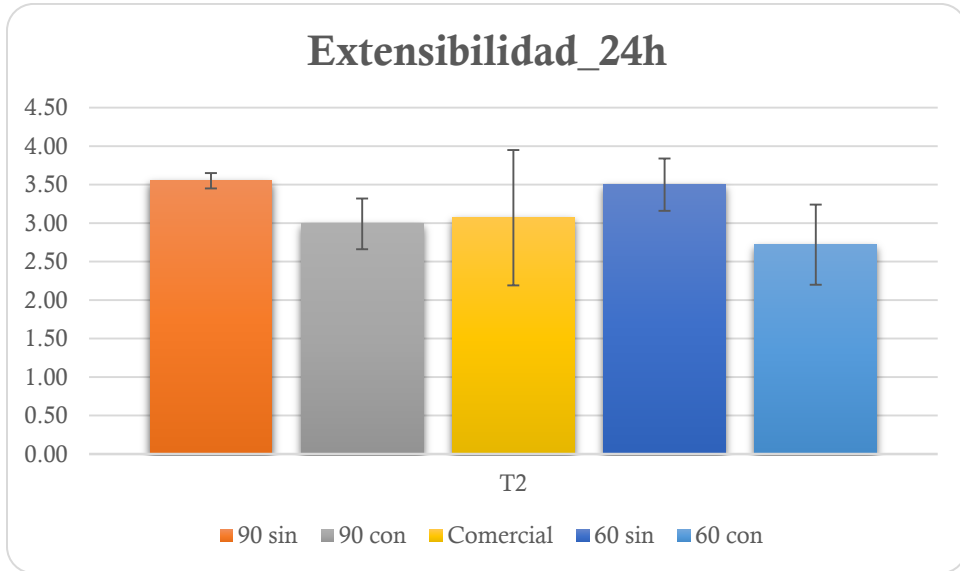


**FIG 5.** Comparativo Índice de elasticidad de masa con y sin adición de sólidos (Comercial, 60 y 90 °C)

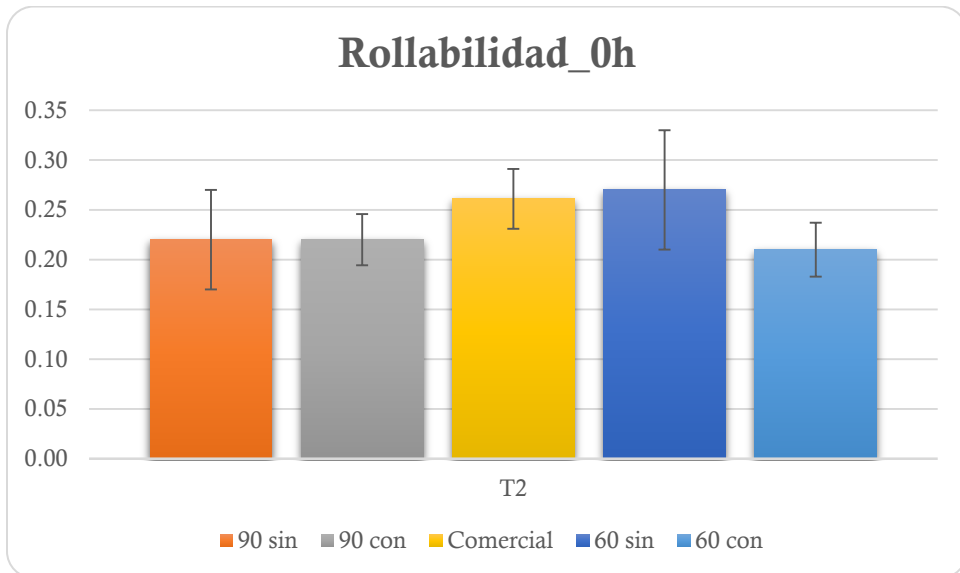
**PROPIEDADES TEXTURALES DE TORTILLA SIN Y CON ADICIÓN DE SÓLIDOS**



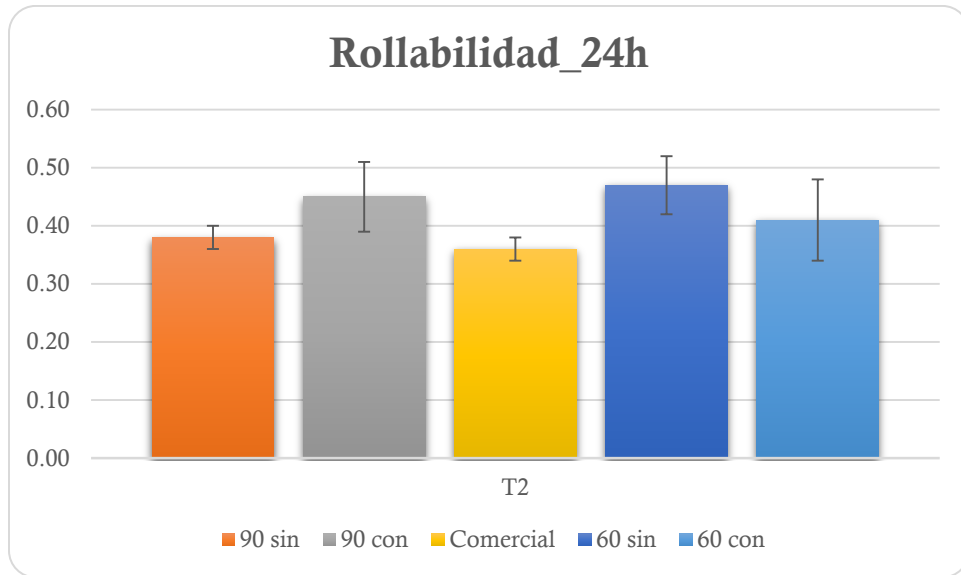
**FIG 6.** Comparativo extensibilidad de tortillas recién elaboradas con y sin adición de sólidos (Comercial, 60 y 90 °C)



**FIG 7.** Comparativo extensibilidad de tortillas con almacenamiento de 24 horas con y sin adición de sólidos (Comercial, 60 y 90 °C)



**FIG 8.** Comparativo rollabilidad de tortillas recién elaboradas con y sin adición de sólidos (Comercial, 60 y 90 °C)



**FIG 9.** Comparativo rollabilidad de tortillas con almacenamiento de 24 horas con y sin adición de sólidos (Comercial, 60 y 90 °C)

# EFFECT OF NIXTAMALIZATION PROCESSING TEMPERATURE ON MAIZE HYDRATION AND THE TEXTURAL PROPERTIES OF MASA AND TORTILLAS

R.A. PEÑA-REYES, G.A. RAMÍREZ-ROMERO, F.J. FERNÁNDEZ-PERRINO and A.E. CRUZ-GUERRERO<sup>1</sup>

Departamento De Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco No. 186 Col. Vicentina, México D.F. C.P. 09340, México

<sup>1</sup>Corresponding author.

TEL: +52-55-5804-4720;

FAX: +52-55-5804-4712;

EMAIL: aec@xanum.uam.mx

Received for Publication October 21, 2015

Accepted for Publication June 6, 2016

doi:10.1111/jfpp.13136

## ABSTRACT

The traditional process of nixtamalization to elaborate tortillas involves cooking in ash-lime the maize to produce masa. The aim of this work was to evaluate the hydration of maize and the textural properties of masa and tortillas produced under different nixtamalization conditions. The main variable that was studied was cooking temperature, comparing temperatures of 60C and 50C with 90C, which is traditionally used. The estimated water diffusion coefficients were  $2.71 \times 10^{-8}$  (90C),  $1.82 \times 10^{-8}$  (60C) and  $0.93 \times 10^{-8}$  m<sup>2</sup>/s (50C). The textural properties, adhesiveness (−2.05 to −1.93 N) and cohesiveness (0.12 to 0.13) of the masa did not show significant differences. Likewise, fresh tortillas did not exhibit significant differences in extensibility (1.03 to 1.22 N) or rollability (0.22 to 0.29 N). Employing the proposed nixtamalization process (low temperature), masa and tortillas with a similar quality to commercial products can be obtained.

## PRACTICAL APPLICATIONS

This research will have practical applications in the industrial production of masa and tortillas. The results indicate that the hydration of maize in the two proposed processes results in masa with the necessary characteristics to achieve hydration. In addition, the textural properties of the masa and tortillas are similar to those of commercial products. This study will contribute to the reduction of energy costs during the preparation of masa and tortillas.

## INTRODUCTION

Nixtamalization is an ancient process through which maize is cooked in lime solution in Mexico and Central America. Currently, it involves cooking maize at 90C in a Ca(OH)<sub>2</sub> solution, followed by steeping for 10 h to 14 h, then washing and grinding to obtain masa and tortillas (Martínez-Bustos *et al.* 2001). To improve the nixtamalization process, a number of studies have been conducted. Ramírez-Romero and Ambriz-García (2012) studied the nixtamalization process under different conditions regarding cooking temperatures, Ca(OH)<sub>2</sub> concentrations, cooking times and steeping and found that at cooking temperatures of 50–60C masa and tortillas of good quality were obtained. Likewise, Arámbula-Villa *et al.* (2000) studied the production of masa obtained through extrusion cooking at different temperatures (60–

100C) and found that the masa processed at 80C showed a lower dehydration rate and more favorable properties related to machinability. During nixtamalization, physical and chemical changes occur in maize, which are influenced by the processing conditions, such as the cooking temperature, the concentration of Ca(OH)<sub>2</sub> and steeping time (Laria *et al.* 2005; Ruiz-Gutiérrez *et al.* 2010). In the course of cooking and steeping, diffusion of calcium and water into grains occurs. The use of an alkaline solution contributes to the degradation of the pericarp, which acts as a physical barrier to calcium and water diffusion (Gutiérrez *et al.* 2007; Gutiérrez-Cortez *et al.* 2010). Previous studies have described the water diffusion phenomenon in maize during the nixtamalization process (Becker 1959; Fan *et al.* 1963; Ramos *et al.* 2004; Fernández-Muñoz *et al.* 2011). These

works have shown that the exposure of maize to an alkaline solution causes degradation and softening of the cell wall components of the pericarp. In addition, alkaline exposure induces structural changes in the endosperm (which is composed mainly of starch), particularly regarding the formation of amylose networks (Valderrama-Bravo *et al.* 2010). During the nixtamalization process, water diffuses into starch granules, causing partial gelatinization of the starch granules and disruption of their crystalline structure (Laria *et al.* 2007). Ruiz-Gutiérrez *et al.* (2012) estimated the water diffusion coefficient during the nixtamalization process of white maize at different cooking temperatures and concluded that the process has a significant effect on water absorption by the grains.

In addition, the conditions of the nixtamalization can significantly influence the final textural and sensorial properties of masa and tortillas. For example, it has been established that masa must show an adequate adhesiveness to adhere lightly to the sheeting rollers of industrial tortilla machines and to separate properly (Ramírez-Wong *et al.* 1993). In contrast, in tortillas, the main textural properties that are considered rollability and extensibility, both of which describe physical properties that are important during product handling.

Since conditions of nixtamalization can change the quality of dough and tortillas it is important to study. Therefore, the aim of this work was to evaluate the hydration of maize and the textural properties of masa and tortillas produced under different nixtamalization conditions.

## MATERIALS AND METHODS

### Materials

The white dent maize (*Zea mays* L.) cultivar Cargill® Sinaloa variety, harvest 2014 was used. For nixtamalization, food-grade calcium hydroxide (92% purity, Grupo Calidra, Michoacán, Mexico) was used.

### Nixtamalization

The nixtamalization process was carried out at a laboratory scale using 5 L stainless steel kettles, according to Ramírez-Romero and Ambriz-García (2012), with some modifications. Three different nixtamalization processes were evaluated, among which the principal difference was the cooking temperature. In the first process (P1), 1 kg of maize was nixtamalized in 2 L of water with 26 g of Ca(OH)<sub>2</sub>, the cooking was performed with adding water at 90°C and stirred for 20 min and finally the samples were allowed to stand at room temperature for 24 h. In the second process (P2), 1 kg of maize was nixtamalized in 2 L of water with 26 g of Ca(OH)<sub>2</sub>, the cooking was performed with adding

water at 60°C and stirred for 20 min, after cooking, the kettle was covered with an elastomer and finally the samples were allowed to stand at room temperature for 24 h. In the third process (P3), 1 kg of maize was nixtamalized in 2.4 L of water with 23 g of Ca(OH)<sub>2</sub>; the cooking was performed with adding water at 50°C and was heat intermittently to maintain the temperature at 50°C for 5 h, after cooking, the kettle was covered with an elastomer and finally the samples were allowed to stand at room temperature for 19 h. Treatments were performed in triplicate.

### Hydration Kinetics

Maize samples were taken every 30 min in the course of the first 6 h of nixtamalización (during this stage the hydration is fast), later throughout the last 4 h of steeping, samples were taken every 1 h. The moisture content of these grain was determined by drying in an air oven at 130°C for 1 h according to AOAC method 925.10 (2012) and results were expressed in g/100g. The determinations were performed in triplicate. The experimental data were fitted to the models proposed by Fernández-Muñoz *et al.* (2007) (Eq. 1) and Peleg (1988) (Eq. 2):

$$M(t) = \frac{h_{\text{sat}} * t}{k + t} \quad (1)$$

where  $M(t)$  is the moisture after time  $t$  (g/100 g);  $h_{\text{sat}}$  is the moisture saturation (g/100 g);  $t$  is the hydration time (h); and  $k$  is the hydration constant.

$$M(t) = M_0 \frac{t}{k_1 + k_2 t} \quad (2)$$

where  $M(t)$  is the moisture after time  $t$  (g/100 g);  $M_0$  is the initial moisture (g/100 g);  $t$  is the hydration time (h);  $k_1$  is the Peleg rate constant (h/g/100 g) and  $k_2$  is the Peleg capacity constant (g/100g).

To obtain the hydration rate parameter ( $V_h$ ) (g/100 g/min), the first derivative of the Eq. (1) was calculated (Eq. 3):

$$V_h = \frac{h_{\text{sat}} * k}{(k + t)^2} \quad (3)$$

The water diffusion coefficient ( $D$ ) was calculated using Eq. (3), as reported by Ramos *et al.* (2004):

$$\sqrt{D} = \frac{\Delta(\Delta M/M_0)}{\Delta(\sqrt{t})} * \frac{1+h}{(h_s-h_0)} * \frac{V}{S} * \frac{\sqrt{\pi}}{2} \quad (4)$$

where  $D$  is the diffusion coefficient (m<sup>2</sup>/h);  $[\Delta(\Delta M/M_0)/\Delta(\sqrt{t})]$  is the slope obtained for the linear section of the curve  $(\Delta M/M_0)$  vs.  $(\sqrt{t})$  (min<sup>-1/2</sup>);  $M_0$  is the initial mass of the grain;  $S$  is the surface of the grain (cm<sup>2</sup>);  $V$  is the volume

of the grain ( $\text{cm}^3$ );  $h_0$  is the initial moisture content.  $V$  was calculated as  $M_0/\text{density}$ .  $S$  was evaluated as reported by Becker (1959).  $h_s$  is the moisture content at the grain surface were calculated as reported by Charan and Prasad (1996) it were obtained 64 g/100g to P1, 60.5 g/100g to P2 and 59.6 g/100g to P3.

### Masa and Tortilla Production

One-kilogram lots of maize were nixtamalized using the three processes described above. Then, the nixtamal with moisture between 42 and 47 g/100g was milled using an industrial stone grinder (MN-80, Casa Matus, Tabasco, Mexico) for masa preparation and water was added until a 55 g/100g moisture content was achieved. Using the obtained masa, tortillas ( $30.73 \pm 0.93$  g) were produced with a manually operated machine (González TM-G, Nuevo León, Mexico). The tortillas were cooked on a hot iron surface at  $260 \pm 10\text{C}$  for 40 s on one side, then for 30 s on the opposite side and were finally turned again to allow puffing for 20 s. The resultant tortillas were flat disks with a diameter of  $12 \pm 0.3$  cm, a thickness of  $1.5 \pm 0.08$  mm and a 40 g/100g moisture content. The tortillas were subsequently packed in polyethylene bags and stored at room temperature ( $25 \pm 1\text{C}$ ) according to reported by Martínez-Bustos *et al.* (2001).

### Texture Analysis

The adhesiveness and cohesiveness of the masa and the extensibility and rollability of the tortillas were measured using a texturometer (Brookfield CT3, MA) with load cell of 10 kg. The graphs obtained were analyzed using the Texture-Pro CT software (Brookfield CT3, MA). Texture profile analysis was performed to evaluate the adhesiveness of the masa according to Ruiz-Gutiérrez *et al.* (2012). Briefly, a cylinder of masa with a diameter of 12 mm and height of 20 mm was compressed 90% at a speed of 5 mm/s using a cylinder with a diameter of 26 mm and height of 35 mm; a second compression was carried out 2 s later. Cohesiveness of the masa was determined at 40% compression according to Gasca-Mancera and Casas-Alencaster (2007). Ten replicates were performed for each nixtamalization process, and the average values were reported.

The extensibility of the tortillas was determined according to Arámbula-Villa *et al.* (2004), with the tortillas being cut in a briquette form (37 mm at the ends, 15 mm in the center and 87 mm long). The tension test was performed with an TA-DGA accessory, corresponding to a retaining clips in which the sample was placed and subjected to tension; the texturometer was calibrated at a speed of 2 mm/s and a distance of 4 mm. Rollability was determined according to the method reported by Suhendro *et al.* (1998). This

test involved rolling the tortilla on a platform with a rotatory cylinder and was performed with tension force of 3 mm/s for 50 mm. Ten tortillas obtained using each process were evaluated, and the average values were reported. Likewise, samples of commercial masa and tortillas were analyzed.

### Statistical Analysis

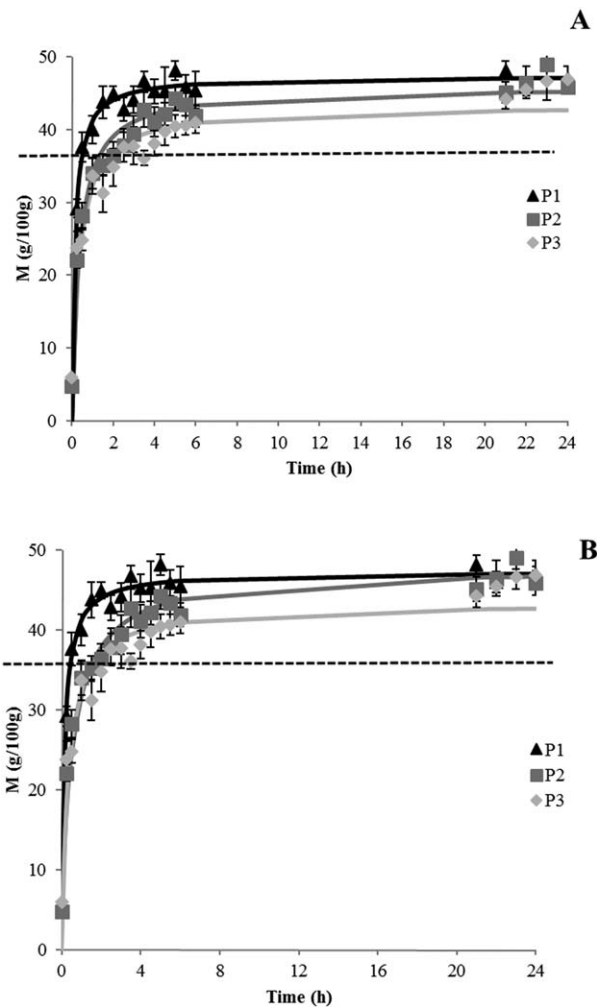
The mathematical model fitted for the hydration kinetics was obtained with the software Origin (OriginLab Corporation, MA).

The data corresponding to the texture analysis of the masa and tortillas were subjected to analysis of variance using Statgraphics Centurion XVI software (Statpoint Technologies, Inc., VA). Differences between the means were evaluated using the Fisher test at  $\alpha = 0.05$ .

## RESULTS AND DISCUSSION

### Hydration Kinetics of Maize

Figure 1 shows the hydration kinetics of the maize grains obtained for the three studied nixtamalization processes, which were fitted to the models reported by Fernández-Muñoz (Fig. 1A) and Peleg (Fig. 1B). It is observed that in both models the same behavior was exhibited and also the rapid rise in hydration over a period of 1 h, followed by a long time regime with much slower hydration kinetics. A comparison between the hydration values recorded in the first 3 h of the nixtamalization processes showed that there were differences between the levels of grain hydration registered using the traditional process (P1) and the proposed process (P2 and P3). However, these differences became negligible after 24 h. These observations could be explained by the effect of the adopted cooking temperatures. During P1, the cooking temperature was higher than in P2 and P3, which could have caused faster pericarp release, which may in turn have favored faster absorption of water by the maize grains. However, in P2 and P3, after a certain time, the proposed arrangement of the control variables ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$  concentration, cooking time and cooking temperature) allowed us to achieve hydration values similar to those registered in P1. These results are in accordance with those reported by Ruiz-Gutiérrez *et al.* (2010), who obtained higher hydration levels working with a cooking temperature of 90C than at 70C with a cooking time of 8 h (55 and 45 g/100g moisture, respectively). Similarly, Laria *et al.* (2005) reported that an increase in the cooking temperature can result in an increase in the absorption of water by grains and that water absorption may be affected by various factors, including the composition and dimensions of the grain and operational variables such as agitation and temperature.



**FIG. 1.** MAIZE GRAINS HYDRATION KINETICS TO DIFFERENT PROCESSES NIXTAMALIZATION (A) Fernández-Muñoz's Model. (B) Peleg's Model

In contrast, Gutiérrez *et al.* (2007) found that maize grains must exhibit a moisture level of 36 g/100g after the cooking period (dotted line in Fig. 1). However, it has also been reported that the grains must exhibit a moisture level between 45–50 g/100g after the steeping time to obtain masa with high-quality characteristics (Fernández-Muñoz *et al.*

2011). Moreover, during the steeping time, the starch loses its crystalline structure due to the cleavage of the intermolecular hydrogen bonds present in its amorphous zones; this cleavage is mainly caused by the progressive and irreversible absorption of water, which results in partial gelatinization of the starch granule. Some researchers have reported that the steeping time required to obtain masa with high-quality characteristics may vary from 4 to 5 h (Arámbula-Villa *et al.* 2000; Fernández-Muñoz *et al.* 2011). It is important to indicate that even though the nixtamalization process time was 24 h in all assays of the present work, it was observed that the nixtamalized maize have the required moisture content to obtain masa with good-quality characteristics after only 6 h. Additionally the continuous lines in Fig. 1 correspond to the adjusted models, and it can be seen that the typical hydration pattern was observed in all cases (Trejo-González *et al.* 1982; Gutiérrez *et al.* 2007; Fernández-Muñoz *et al.* 2011). To predict the hydration process of the maize grain, the moisture data recorded during each of the nixtamalization processes were fitted to Fernández-Muñoz's and Peleg's models. The models parameters are shown in Table 1. Based on the Fernández-Muñoz's model parameters, it can be seen that the proposed model is able to predict the hydration process of the maize grains by 97–99%, under the conditions tested in each of the nixtamalization processes. Additionally, it can be observed that the moisture saturation ( $h_{\text{sat}}$ ) was significantly different ( $\alpha = 0.05$ ) between the P1 with P2 and P3. In addition, the hydration constant ( $k$ ), which represents the time needed to reach half the value of  $h_{\text{sat}}$ , also showed significant differences ( $\alpha = 0.05$ ) between the P1 with P2 and P3. In this case, the lowest constant was registered for the traditional process (P1). This result indicated that the time needed to hydrate the maize grains was shorter in the traditional nixtamalization process than in P2 or P3. Even though based on the Peleg's model parameters, it can be seen that is able to predict the hydration of maize grains by 99% under the three nixtamalization processes evaluated. Moreover, it can be observed that the  $k_1$  was significantly different ( $\alpha = 0.05$ ) between the P1 with P2 and P3; these results are agreement with Agarry *et al.* (2014), who observed a decrease in the value of  $k_1$  with increasing temperature. In addition, the  $k_2$ , which is a constant related to

**TABLE 1.** ESTIMATED VALUES OF CONSTANTS OBTAINED FROM THE MODELS OF HYDRATION OF MAIZE GRAIN IN DIFFERENT NIXTAMALIZATION

Processes	Fernández-Muñoz's model			Peleg's model		
	$h_{\text{sat}}$ (g/100g)	$K$ (h)	$R$	$k_1 \times 10^{-2}$ (h/g/100g)	$k_2 \times 10^{-2}$ (g/100g)	$R$
1	47.05 <sup>a</sup>	0.15 <sup>a</sup>	0.99	0.41 <sup>a</sup>	2.39 <sup>a</sup>	0.99
2	45.77 <sup>b</sup>	0.35 <sup>b</sup>	0.99	1.40 <sup>b</sup>	2.33 <sup>a</sup>	0.99
3	43.01 <sup>b</sup>	0.33 <sup>b</sup>	0.97	1.84 <sup>b</sup>	2.50 <sup>a</sup>	0.99

$h_{\text{sat}}$ , moisture saturation;  $k$ , hydration constant;  $R$ , correlation coefficient;  $k_1$ , Peleg rate constant;  $k_2$ , Peleg capacity constant. Column with different superscript show significant differences, Fisher's-test ( $\alpha = 0.05$ ).

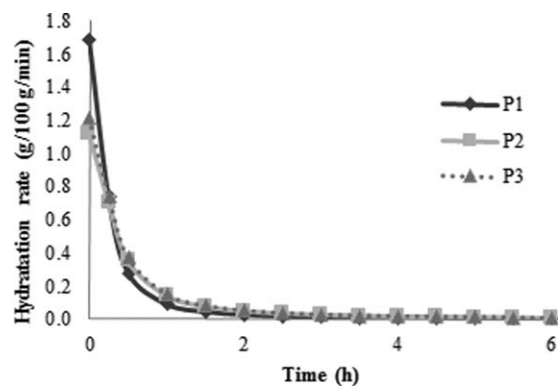


FIG. 2. MAIZE GRAINS HYDRATION RATE PROFILES AT DIFFERENT PROCESSES NIXTAMALIZATION

the maximum capacity of water absorption, no significant difference ( $\alpha = 0.05$ ) were observed in the three processes. The results are agreement with that reported by Sopade and Obekpa (1990) who observed that  $k_2$  is often separate from the soaking water temperature, representing a characteristic sorption of each product.

Figure 2 shows the hydration rates profiles of the studied nixtamalization processes, with the highest hydration rates being observed at the beginning of the nixtamalization process (1 h), while after a prolonged period, the hydration rates tended toward zero (saturation). Additionally, it can be observed that the hydration rates obtained in P2 and P3 were very similar; on the contrary, the hydration rate obtained in P1 after a short period (0.5 h) was higher than in P2 and P3. These results are agreement with Noorbakhsh *et al.* (2006), who found that high hydration rates occur in a short period because the exposure of the capillaries at the surface of maize grains to water stimulates the suction function, giving rise to a hydration gradient, causing rapid hydration. More recently, Fernández-Muñoz *et al.* (2011) reported that hydration rates can be increased by increasing the cooking temperature and the  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  concentration. These authors obtained hydration rates of 0.5 and 1.2 g/100g/min by adjusting the  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  concentration to 1% (w/w) and the cooking temperature to 62C or 92C, respectively. These parameters were similar to those recorded in the present work. Table 2 shows the results regarding water diffusion into the maize grains for each of

TABLE 2. WATER DIFFUSION COEFFICIENT IN DIFFERENT NIXTAMALIZATION PROCESSES

Process	$D \times 10^{-8}(\text{m}^2/\text{s})$
1	2.71
2	1.82
3	0.93

$D$ , diffusion coefficient.

TABLE 3. MASA TEXTURE PROPERTIES OBTAINED BY DIFFERENT NIXTAMALIZATION PROCESSES

Process	Cohesiveness	Adhesiveness (N)
1	$0.13 \pm 0.02^a$	$-2.05 \pm 0.49^a$
2	$0.12 \pm 0.02^a$	$-2.04 \pm 0.10^a$
3	$0.12 \pm 0.01^a$	$-1.99 \pm 0.41^a$
Commercial masa	$0.13 \pm 0.02^a$	$-1.93 \pm 0.20^a$

Column with different superscript show significant differences, Fisher's-test ( $\alpha = 0.05$ ).

the studied nixtamalization processes. It can be seen that all of the diffusion coefficients were in the same range of magnitude, but the highest value was obtained for the traditional nixtamalization process (P1). This agrees with the results reported by Agarry *et al.* (2014), who observed that the diffusion coefficient increases with an increasing cooking temperature in various types of grains.

### Textural Properties of Masa and Tortillas

**Textural Analysis of Masa.** Table 3 shows the textural properties of the masa produced using the nixtamalized maize obtained through the three nixtamalization processes compared with a commercial masa. It can be observed that there were no significant differences in cohesiveness ( $\alpha = 0.05$ ) between the evaluated processes, which indicated that the proposed nixtamalization processes, involving low cooking temperatures (P2 and P3), allowed us to obtain masa with the same quality characteristics as actual commercial products. These observations are consistent with the results of Ruiz-Gutiérrez *et al.* (2012), who analyzed commercial masa from nixtamalized maize flour and masa obtained after different nixtamalization processes in which various calcium salts were evaluated and they reported a cohesiveness values of 0.181 for the commercial masa and 0.132 for masa nixtamalized with  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ . Regarding adhesiveness, no significant differences ( $\alpha = 0.05$ ) between the masa prepared using the maize nixtamalized via the three studied processes were found. However, it is important to note that the adhesiveness values obtained in this work were slightly higher ( $-3.94$  N) than those reported by Ruiz-Gutiérrez *et al.* (2012). This finding can be explained on the basis of the differences in the operational variables fixed during the nixtamalization processes, as unlike the present work, these authors used a maize/water ratio of 1:3, a cooking temperature of 80C, a cooking time of 1 h and constant agitation. Conversely, Ramírez-Wong *et al.* (1994) reported that the textural properties (adhesiveness and firmness) of masa depend on the water retention capacity of the masa itself. It is important to know the textural properties of masa because masa with high or low cohesiveness and adhesiveness can lead to problems during tortilla manufacturing.



**TABLE 4.** EFFECT OF THE STORAGE ON TORTILLAS TEXTURE PROPERTIES OF DIFFERENT NIXTAMALIZATION PROCESSES

Storage (h)	Process	Rollability (N)	Extensibility (N)
0	1	0.22 ± 0.05 <sup>a</sup>	1.03 ± 0.05 <sup>a</sup>
	2	0.27 ± 0.06 <sup>a</sup>	1.22 ± 0.12 <sup>a</sup>
	3	0.29 ± 0.07 <sup>a</sup>	1.10 ± 0.10 <sup>a</sup>
	Commercial tortilla	0.26 ± 0.03 <sup>a</sup>	1.07 ± 0.09 <sup>a</sup>
24	1	0.38 ± 0.02 <sup>a</sup>	3.55 ± 0.10 <sup>a</sup>
	2	0.47 ± 0.05 <sup>b</sup>	3.49 ± 0.34 <sup>a</sup>
	3	0.45 ± 0.03 <sup>b</sup>	3.51 ± 0.23 <sup>a</sup>
	Commercial tortilla	0.36 ± 0.02 <sup>a</sup>	3.07 ± 0.88 <sup>a</sup>

Column with different superscript show significant differences, Fisher's-test ( $\alpha = 0.05$ ).

**Textural Analysis of Tortillas.** Table 4 shows the textural properties of the fresh (0 h) and stored tortillas (storage time 24 h) produced using the nixtamalized maize obtained via the three nixtamalization processes compared with commercial tortillas. Regarding extensibility, no significant differences ( $\alpha = 0.05$ ) were observed among the fresh tortillas. Extensibility was also tested in stored tortillas, and no significant differences ( $\alpha = 0.05$ ) were detected. However, when these results were compared with those obtained for fresh tortillas, it was observed that extensibility was greater in the stored tortillas than in the fresh tortillas. These results indicated that with the passage of time, the tortillas become harder due to the loss of water that occurs during the storage time (syneresis), resulting in a product with low flexibility and elasticity. Arámbula-Villa *et al.* (2004) reported an average value of extensibility for tortillas produced with a white maize hybrid of 1.49 N at time zero; this value is consistent with those obtained in the present work.

Regarding rollability, no significant differences were registered ( $\alpha = 0.05$ ) between the commercial tortillas and those prepared with the maize nixtamalized under the three tested process. Moreover, the results obtained during all tests were in the range reported by Suhendro *et al.* (1998), who observed rollability values between 0.20 and 1.10 N in fresh tortillas prepared in different mills. In the case of the tortillas stored for 24 h, no significant differences were detected ( $\alpha = 0.05$ ) between the rollability of the commercial tortillas and those prepared with the maize nixtamalized under the traditional process (P1). However, the values obtained for these types of tortillas were significantly different from those recorded in tortillas prepared with maize nixtamalized through the proposed methods (P2 and P3). Finally, the results obtained for stored tortillas were compared with those recorded in fresh tortillas; in this case, it was observed that the storage time caused an increase in this parameter, as the rollability of stored tortillas was higher than that of the fresh ones. In addition, the increase in rollability was almost

**TABLE 5.** ANALYSIS OF GAS CONSUMPTION IN DIFFERENTS NIXTAMALIZATION PROCESS

Process	Cooking gas consumption (L/kg masa)	Masa produced (kg masa/day)	Gas cost/day (Pesos)	Saving (%)
1	0.0090	5,400	373.25	0
2	0.0063	5,400	261.27	30
3	0.0072	5,400	298.59	20

two times higher in the tortillas prepared with maize nixtamalized by processes P2 and P3 than in the commercial tortillas and those prepared with the maize nixtamalized using P1. The changes in rollability observed in the tortillas prepared by processes P2 and P3 could be due to the retrogradation process, which may have occurred more rapidly in these tortillas. The retrogradation process depends on the water content of tortillas; if the water content is low, the amylose and amylopectin chains begin to undergo a reassociation process, giving the tortillas a rigid appearance (Román-Brito *et al.* 2007). Suhendro *et al.* (1998) reported an increase in this variable during storage time.

It is clear that in the literature, there are a considerable number of reports on the textural properties of masa and tortillas, but their results cannot be compared with the results obtained in this study because of the use of different methodologies.

### Energy Consumption in the Process of Maize Nixtamalization

During the masa production, the gas consumption by the grinder is the second largest cost, only just below the cost of maize. The gas average consumption in the P1 is 0.009 L/kg masa, thus the cost for produced of 5,400 kg of masa per day is 373.25 pesos, as shown in Table 5. However, carrying out the nixtamalization under the conditions established in the P2 and P3 (60C and 50C), it is expected to save 30% and 20%, respectively

## CONCLUSIONS

The process of maize grain hydration was successfully characterized during different nixtamalization processes. The results showed that the hydration process occurs more rapidly under the conditions tested in P1, but they also showed that after 6 h, the moisture values required for obtaining masa and tortillas with the same properties textural as commercial products were also reached in P2 and P3. The texture tests indicated that the nixtamalization conditions analyzed in processes 2 and 3 are appropriate for obtaining masa and tortillas with the same textural properties observed in commercial products. These results demonstrated that the proposed

nixtamalization processes (P2 and P3) could be applied to obtain masa and tortillas with the same quality characteristics as commercial products.

## ACKNOWLEDGMENT

The authors would like to thank the National Council of Science and Technology (CONACyT) of Mexico for financial support to undertake this work.

## REFERENCES

- AGARRY, S.E., AFALABI, T.J. and AKINTUNDE, T.T.Y. 2014. Modelling the water absorption characteristics of different maize (*Zea mays* L.) types during soaking. *J. Food Process. Technol.* 5, 326.
- AOAC. 2012. Official methods of analysis of AOAC International, 19th ed. In *Methods 925.10. Solids (Total) and Moisture in Flour—Air Oven Method*, AOAC International, Gaithersburg, MD.
- ARÁMBULA-VILLA, G., YÁÑEZ-LIMÓN, J.M., VOROBIEV-VASILIEVICH, Y. and GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ, J. 2000. Coeficiente efectivo de difusión de agua en masas de maíz nixtamalizado por extrusión. *Agrociencia* 34, 717–727.
- ARÁMBULA-VILLA, G., MÉNDEZ-ALBORES, J.A., GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ, J., GUTIÉRREZ-ARIAS, E. and MORENO-MARTÍNEZ, E. 2004. Evaluación de una metodología para determinar características de textura de tortilla de maíz (*Zea mays* L.) *Arch. Latinoam. Nutr.* 54, 216–222.
- BECKER, H.A. 1959. A study of diffusion in solids of arbitrary shape, with application to the drying of the wheat grain. *J. Appl. Polym. Sci.* 1, 212–226.
- CHARAN, R. and PRASAD, S. 1996. Moisture diffusion during hydration of maize. *J. Food Sci. Technol.* 33, 384–388.
- FAN, L.T., CHU, P.S. and SHELLENBERGER, J.A. 1963. Diffusion of water in grains of corn and sorghum. *Cereal Chem.* 40, 303–313.
- FERNÁNDEZ-MUÑOZ, J.L., GRUINAL-SANTOS, M.A., HERNÁNDEZ-OSORIO, I., SAN MARTIN-MARTÍNEZ, A., CALDERÓN, A., DÍAZ-GÓNGORA, J.A. and AGUILAR-MÉNDEZ, M.A. 2007. Modelo matemático de la cinética y velocidad de hidratación del grano de maíz blanco dentado durante la cocción alcalina. *Superficies Y Vacío* 20, 4–9.
- FERNÁNDEZ-MUÑOZ, J.L., ACOSTA-OSORIO, A.A. and GRUINAL-SANTOS, M.A. 2011. Kinetics of water diffusion in corn grain during the alkaline cooking at different temperatures and calcium hydroxide concentration. *J. Food Eng.* 106, 60–64.
- GASCA-MANCERA, J.C. and CASAS-ALENCASER, N.B. 2007. Addition of nixtamalized corn flour to fresh nixtamalized corn masa. Effect on the textural properties of masa and tortilla. *Rev. Mex. Ing. Quim.* 6, 317–328.
- GUTIÉRREZ, E., ROJAS-MOLINA, I., PONS-HERNÁNDEZ, J.L., GUZMÁN, H., AGUAS-ANGEL, B., ARENAS, J., FERNÁNDEZ, P., PALACIOS-FONSECA, A., HERRERA, G. and RODRÍGUEZ, M. E. 2007. Study of calcium ion diffusion in nixtamalized quality protein maize as a function of cooking time. *Cereal Chem.* 84, 186–194.
- GUTIÉRREZ-CORTEZ, E., ROJAS-MOLINA, I., ROJAS, A., ARJONA, J.L., CORNEJO-VILLEGAS, M.A., ZEPEDA-BENÍTEZ, Y., VELÁZQUEZ-HERNÁNDEZ, R., IBARRA-ALVARADO, C. and RODRÍGUEZ-GARCÍA, M.E. 2010. Microstructural changes in the maize kernel pericarp during cooking stage in nixtamalization process. *J. Cereal Sci.* 51, 81–88.
- LARIA, J., MEZA, E., MONDRAGÓN, M., SILVA, R. and PEÑA, J. 2005. Comparison of overall water uptake by corn kernel with and without dissolved calcium hydroxide at room temperature. *J. Food Eng.* 67, 451–456.
- LARIA, J., MEZA, E. and PEÑA, J. 2007. Water and calcium uptake by corn grain during alkaline treatment with different temperature profiles. *J. Food Eng.* 78, 288–295.
- MARTÍNEZ-BUSTOS, F., MARTÍNEZ-FLORES, H.E., SANMARTÍN-MARTÍNEZ, E., SÁNCHEZ-SINENCIO, F., CHANG, Y. K., BARRERA-ARELLANO, D. and RÍOS, E. 2001. Effect of the components of maize on the quality of masa and tortilla during the traditional nixtamalisation process. *J. Sci. Food Agric.* 81, 1455–1462.
- NOORBAKHSI, S., TABIL, L. and GHAZANFARI, A. 2006. Analysis and modeling of water absorption by yellow dent corn grains before and during gelatinization process. *Asian J. Plant Sci.* 5, 805–810.
- PELEG, M. 1988. An empirical model for the description of moisture sorption curves. *J. Food Sci.* 53, 1216–1219.
- RAMÍREZ-ROMERO, G. and AMBRIZ-GARCÍA, J.J. 2012. Proceso de nixtamalización a bajas temperaturas. Patent MX2012008729.
- RAMÍREZ-WONG, B., STEAT, V., TORRES, P. and ROONEY, L. 1993. Development of two instrumental methods for corn masa texture evaluation. *Cereal Chem.* 70, 286–290.
- RAMÍREZ-WONG, B., STEAT, V., TORRES, P. and ROONEY, L. 1994. Cooking time, grinding and moisture content effect on fresh corn masa texture. *Cereal Chem.* 71, 337–343.
- RAMOS, G., PEZET-VALDEZ, M., O'CONNOR-SÁNCHEZ, A., PLACENCIA, C. and PLESS, R.C. 2004. Hydration rates for various types of Mexican maize based on single-grain measurements. *Cereal Chem.* 81, 308–313.
- ROMÁN-BRITO, J.A., AGAMA-ACEVEDO, E., MÉNDEZ-MONTEALVO, G. and BELLO-PÉREZ, L.A. 2007. Textural studies of stored corn tortillas with added xanthan gum. *Cereal Chem.* 84, 502–505.
- RUIZ-GUTIÉRREZ, M.G., QUINTERO-RAMOS, A., MÉLENDEZ-PIZARRO, C.O., LARDIZÁBAL-GUTIÉRREZ, D., BARNARD, J., MÁRQUEZ-MELENDEZ, R. and TALAMÁS ABBUD, R. 2010. Changes in mass transfer, thermal and physicochemical properties during nixtamalization of corn with and without agitation at different temperatures. *J. Food Eng.* 98, 76–83.

- RUIZ-GUTIÉRREZ, M.G., QUINTERO-RAMOS, A., MÉLENDEZ-PIZARRO, C.O., TALAMÁS-ABBUD, R., BARNARD, J., MÁRQUEZ-MELENDEZ, R. and LARDIZÁBAL-GUTIÉRREZ, D. 2012. Nixtamalization in two steps with different calcium salts and the relationship with chemical, texture and thermal properties in masa and tortilla. *J. Food Process. Eng.* 35, 772–783.
- SOPADE, P.A. and OBEKPA, J.A. 1990. Modelling water absorption in soybean cowpea and peanuts at three temperatures using peleg's equation. *J Food Sci.* 55, 1084–1087.
- SUHENDRO, E.L., ALMEIDA-DOMINGUEZ, H.D., ROONEY, L.W. and WANISKA, R.D. 1998. Objective rollability method for corn tortilla texture measurement. *Cereal Chem.* 75, 320–324.
- TREJO-GONZÁLEZ, A., FERIA-MORALES, A. and WILD-ALTAMIRANO, C. 1982. The role of lime in the alkaline treatment of maize for tortilla production. In *Advances in Chemistry* (R. E. Feeney and J. Whitaker, eds.) pp. 245–263, Chem. Soc., Washington, DC.
- VALDERRAMA-BRAVO, C., ROJAS-MOLINA, A., GUTIÉRREZ-CORTEZ, E., ROJAS-MOLINA, I., OAXACA-LUNA, A., DE LA ROSA-RINCÓN, E. and RODRÍGUEZ-GARCÍA, M.E. 2010. Mechanism of calcium uptake in corn kernels during the traditional nixtamalization process: Diffusion, accumulation and percolation. *J. Food Eng.* 98, 126–132.