



64
Zej

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

**MODIFICACION ENZIMATICA DE LA HARINA
NIXTAMALIZADA PARA INCREMENTAR LA
VIDA DE ANAQUEL DE LA TORTILLA**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA**

P R E S E N T A:

ROSA MARTHA LUCIO AGUERREBERE



MEXICO D . F.

1995

FALLA DE ORIGEN'



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

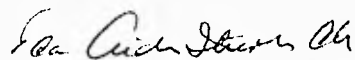
Presidente	Prof. AGUSTIN LOPEZ MUNGUIA CANALES
Vocal	Prof. EDUARDO BARZANA GARCIA
Secretario	Prof. FRANCISCA ITURBE CHIÑAS
1er. Suplente	Prof. HERMILO LEAL LARA
2do. Suplente	Prof. AMANDA GALVEZ MARISCAL

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA: Facultad de Química., Depto. Alimentos y Biotecnología., Edificio E, Lab 323.

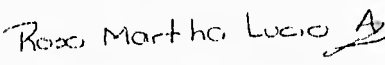
ASESOR:


Dr. AGUSTIN LOPEZ MUNGUIA CANALES

ASESOR TECNICO:


M. en C. FRANCISCA ITURBE CHIÑAS

SUSTENTANTE:


ROSA MARTHA LUCIO AGUERREBERE

A Dios a quien le debo lo que soy.

A mis Padres por ser ejemplo de amor, tenacidad y valor para enfrentar la vida; siempre será un privilegio ser su hija.

A mis hermanos: Gabriel, Ma. del Rosario, Joaquín, Ma. del Carmen y Rafael, quienes me dieron su cariño y apoyo incondicional y desinteresado.

A mis sobrinos: José Jaime, Ma. del Rosario y Ma. del Carmen por su sonrisa.

A Adolfo, por su amor y por ser parte importante en mi vida impulsandome a conquistar mis metas y acompañarme en el camino.

A mis Abuelitos: Ignacio y Josefa su recuerdo es imborrable.

A mis amigos.

Agradecimientos

*** Al Dr. Agustín López-Munguía Canales por la oportunidad de trabajar bajo su dirección, por su amistad y apoyo invaluable.**

*** A la M. en C. Francisca Iturbe Chiñas por compartir conmigo el interés en la elaboración de este trabajo, por transmitirme sus conocimientos y por su amistad.**

*** Al Dr. Eduardo Barzana García por sus atinadas sugerencias que permitieron enriquecer este trabajo.**

- A la M. en C. Angeles Valdivia por su valiosa aportación en la revisión de la tesis.

- Al Dr. Juan de Dios Figueroa Cárdenas y al Centro de Investigación y de Estudios del IPN, Unidad Saltillo, por colaborar en el proyecto.

- Al Departamento de Alimentos y Biotecnología.

- Al programa 127 por el apoyo económico prestado.

- A todas las personas que de una u otra forma participaron en su desarrollo.

INDICE

INTRODUCCION	1
OBJETIVO	3
GENERALIDADES	4
I.1 El Maíz	4
I.2 La Tortilla	7
I.3 Nixtamalización	11
I.4 Harina de Maíz	13
I.5 Estructura del Almidón	15
I.5.a. Amilosa	16
I.5.b. Amilopectina	17
I.6 Gelatinización	19
I.7 Retrogradación	19
I.8 El Endurecimiento en Productos con Alto Contenido de Almidón	21
I.9 Papel del Almidón en el Envejecimiento del Pan	23
I.10 Las Enzimas	25
I.10.A Enzimas Amilolíticas o Amilasas	26
I.11 Enzimas utilizadas en Panificación	28
 METODOLOGIA	 31
 RESULTADOS Y DISCUSION	 38
 CONCLUSIONES	 55
 BIBLIOGRAFIA	 56

INTRODUCCION

En todo el mundo la historia de los alimentos está ligada a la agricultura, en México, esta historia no puede separarse de la domesticación del maíz. Moneda, alimento y religión, el maíz es un elemento asociado a varios siglos de nuestra historia nacional; al igual que en otros países de América Latina, gran parte de las actividades individuales y sociales de sus habitantes dependen de esta planta.

Si bien el maíz representó para la cultura de América su "*modus vivendi*", la tortilla, es el "*modus operandi*" imprescindible de la dieta nacional. El consumo diario promedio de tortilla varía con la edad, pero este consumo alcanza a satisfacer entre el 60 y 75% de sus necesidades de energía, el 60% de las proteínas y el 87% del calcio total de la dieta.

Uno de los problemas que presenta la tortilla es la dificultad de almacenamiento, ya que rápidamente se endurece modificando radicalmente su textura, lo que trae como consecuencia el desperdicio o su consumo en condiciones poco atractivas. A pesar de ser un fenómeno del dominio público, no existen estadísticas sobre las pérdidas que ocasiona.

Se ha demostrado que el almidón es el principal constituyente que influye en las modificaciones físicas del envejecimiento del pan (staling) y otros productos de alto contenido de almidón; este proceso incluye la correosidad, pérdida del sabor, disminución del almidón soluble y eventualmente el endurecimiento, algunos de los cuales pueden ser explicados a través de la retrogradación del almidón. Este fenómeno podría explicar también lo que sucede con la tortilla, aún cuando no se han realizado estudios específicos al respecto.

La aplicación de enzimas es una de las alternativas para retrasar el endurecimiento en el pan, por lo que una hipótesis para este trabajo es partir de esta opción para retrasar el mismo problema en la tortilla. Esto implica que durante el proceso de producción normal de la tortilla se realice una modificación enzimática controlada del almidón, cuyo objetivo sea incrementar la vida de anaquel, y por lo tanto retrasar el tiempo de endurecimiento; con esto no solo se disminuirían las pérdidas debido al endurecimiento, sino que también se favorecería la creciente demanda de productos elaborados a base de maíz, para exportación.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Desarrollar una modificación enzimática del almidón de maíz nixtamalizado, con el fin de mantener suave a la tortilla por períodos más largos de tiempo, sin afectar sus propiedades organolépticas.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Seleccionar una enzima tipo GRAS, es decir, que se pueda usar en alimentos, altamente disponible (comercial) y de bajo costo.
2. Incorporarla en el proceso de elaboración de la tortilla, ajustando la concentración de acuerdo con el tiempo de acción y desactivándola durante el cocimiento.
3. Desarrollar metodologías para estudiar el efecto de la modificación en la estructura del almidón y las propiedades reológicas de las tortillas.
4. Desarrollar un método para estudiar el efecto de la modificación en la velocidad de endurecimiento.
5. Hacer una prueba de evaluación sensorial utilizando como jueces una población heterogénea de consumidores, para evaluar el efecto de la modificación en el producto.

I GENERALIDADES

I.1 EL MAIZ

Se considera que el maíz es originario de América, su edad arqueológica se estima en 7,000 años, según vestigios encontrados en el valle de México. Este cereal tiene una gran capacidad adaptativa, pudiendo llegar a crecer a temperaturas desde 10°C hasta 40°C. Los principales países productores de maíz en el mundo son Estados Unidos, China e India, México ocupa el 5º lugar de producción a nivel mundial (Loaeza, 1991).

Botánicamente se ha clasificado en la familia de las gramíneas, clase monocotiledónea. Se han reportado cerca de 2,000 especies y para propósitos generales todas las especies cultivables han sido clasificadas dentro del género *Zea* y a la especie *mays*; estas se diferencian entre sí por la estructura de las semillas (Cañedo, 1974).

Entre las variedades más importantes se encuentran:

- * Maíz dentado: *Zea mays indentata*. Se caracteriza por una pequeña depresión de las coronas de los granos maduros, en esta depresión se compactan los gránulos de almidón. Es el grupo mayormente cultivado en el mundo.

- * Maíz cristalino: *Zea mays indurata*. Es un maíz con un grano grande, redondeado y de consistencia dura.

- * Maíz palomero: *Zea mays everta*. Su característica principal es que cuando se tuesta, revienta.

- * Maíz dulce: *Zea mays saccharata*. Este tipo contiene un alto contenido de carbohidratos especialmente dextrinas, se usa para consumo directo del elote, para enlatar o congelar.

* Maíz ceroso: *Zea mays cerea*. Este tipo de maíz contiene gran cantidad de amilopectina, se utiliza en la elaboración de gomas y adhesivos (Hawthorn, 1992).

* Maíz harinoso: *Zea mays*. Al desprenderse fácilmente el endospermo es ideal para producir harina (Desrosier, 1983, Kent, 1990).

En la Tabla 1 se presenta la composición promedio para el maíz que se produce en México, en general los valores indican que es un alimento de bajo contenido de proteínas, pero alto en carbohidratos, característica que lo coloca entre las fuentes importantes de energía (Bressani, 1972).

TABLA 1 Composición Promedio del Maíz en México.

COMPONENTE	INTERVALO
PROTEINAS	8.5 - 10 %
CARBOHIDRATOS	68 - 72 %
GRASA	3.5 - 4.5 %
FIBRA	2 - 2.4 %
MINERALES	3.5 - 4.5 %

Fuente: Hernández, 1993 y Hawthorn, 1992.

Las proteínas del maíz son principalmente prolaminas (50-55%) y gluteninas (30-45%). Su proteína principal se denomina *Zeína*, que representa aproximadamente el 50% de la proteína total en el grano entero. Esta proteína presenta deficiencias en lisina y triptófano que son aminoácidos esenciales (Del Angel, 1982).

El principal componente de los carbohidratos del maíz es el almidón (98%) y en menores cantidades contiene: sacarosa, glucosa, fructosa y rafinosa. El gránulo de almidón está formado por moléculas de amilosa y amilopectina.

La mayor parte del almidón de maíz es una mezcla aproximada de 26% de amilosa y 73% de amilopectina; las uniones glucosídicas en la primera son $\alpha(1-4)$, mientras que las de la amilopectina son $\alpha(1-4)$, con ramificaciones en enlaces $\alpha(1-6)$ (Inglett, 1980).

Los principales lípidos que contiene son glicéridos con alto contenido de ácido linoleico, ácido oleico y ácido palmítico; este aceite tiene excelentes propiedades culinarias así como terapéuticas (Hawthorn, 1992).

De las vitaminas liposolubles, el maíz contiene dos de gran importancia: la vitamina A (β -caroteno) y la vitamina E. De las vitaminas hidrosolubles, contiene todas a excepción del ácido fólico y la cianocobalamina; la niacina es solo disponible después del proceso de nixtamalización (Watson, 1987).

El maíz es ampliamente consumido en casi todo el mundo en diferentes formas obtenidas de varios procesos. No existen cifras claras sobre el consumo *per capita*, aunque esta cantidad no debe haber variado significativamente durante los últimos 20 a 25 años, particularmente en áreas rurales de México y algunas ciudades de América Central. El consumo de maíz en áreas rurales proporciona el 70% de las calorías consumidas, mientras que en áreas urbanas sólo es del 25% (Bressani, 1990).

En 1982 se destinaron 13,050 millones de toneladas de maíz (85% de la producción total) para el consumo humano, de las cuales 58% fue captado para la industria de molinos de nixtamal y fabricantes de harina que suministran la materia prima a las empresas elaboradoras de tortillas (Torreblanca, 1984).

En este mismo año los 26,000 establecimientos que fabricaban tortilla en el país producían semanalmente 12,000 toneladas de tortillas de las cuales el Distrito Federal consumía más de 2,000 toneladas (Morales, 1991).

1.2 LA TORTILLA

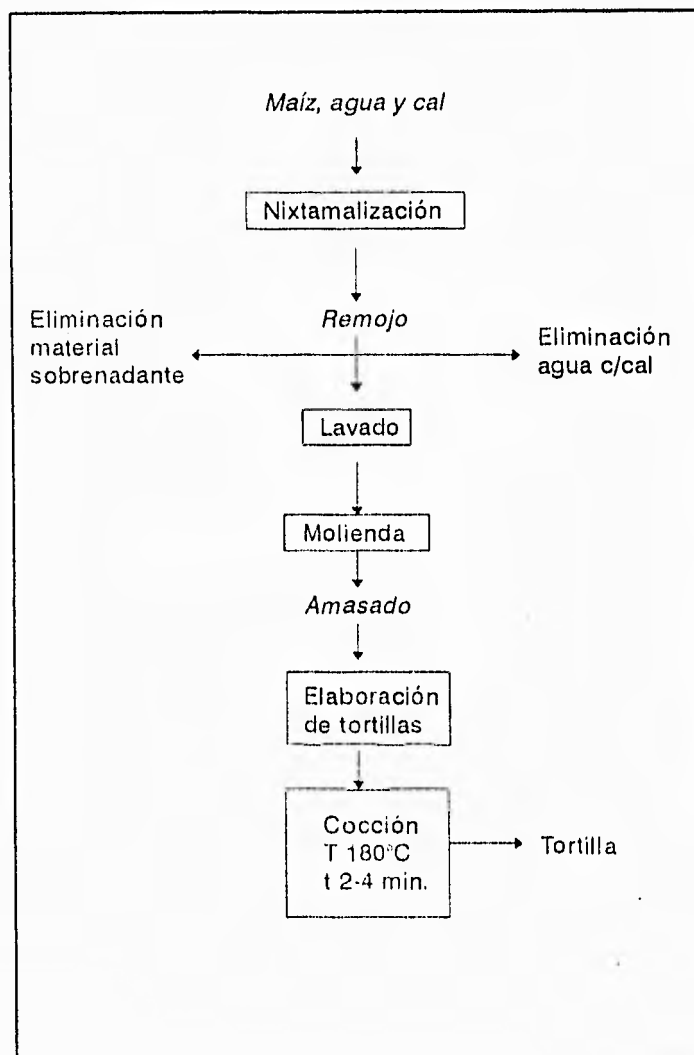
Tortilla proviene de la palabra náhuatl "*tlaxcalli*" (Morales, 1991). La tortilla es considerada como un vehículo, condimento, plato, utensilio, y a veces, el redondo eslabón entre un estómago satisfecho y un hambre voraz (Pérez, 1992). En la Tabla 2 se presenta la composición aproximada de la tortilla; en la cual se observan cambios importantes que están relacionados con el proceso que sufre el maíz hasta obtener el producto final, figura 1 (Bressani, 1958; Gómez, 1989).

El consumo promedio de tortillas varía con la edad y situación de las personas; en un estudio realizado por Chávez en 1973, se reporta que el consumo de tortillas para niños debajo de los 5 años es entre 100 y 200 g, para mujeres embarazadas y lactantes alrededor de 400 g y hombres adultos es de 600 g. Otros estudios (Bressani, et al., 1972) determinan que la importancia del consumo de tortillas en el aporte de proteínas y energía; aumenta con la edad, por ejemplo: en niños de 1 a 2 años la tortilla contribuye con el 27% y 33% de las proteínas y calorías consumidas diariamente, mientras que en niños de 4 a 5 años contribuye con el 33% de la proteínas y el 39% de las calorías diarias.

A pesar de que la tortilla es un alimento básico en la dieta del mexicano y en la de otros países latinoamericanos, la tecnología tradicional aplicada a su elaboración es totalmente empírica y no ha sufrido cambios apreciables en los últimos años. Sin embargo, el proceso se ha mecanizado conservando las bases del procesamiento (Alcántara, 1981).

Uno de los problemas que presenta la tortilla es la dificultad de almacenarla; aunque las características físicas y de textura iniciales de la tortilla de maíz están afectadas por el grado de molido, tiempo de cocción y contenido de humedad (Ramírez-Wong, 1991), con solo un día de almacenamiento en condiciones ambientales se endurece modificando radicalmente su textura.

FIGURA 1. Diagrama General para la Elaboración de Tortillas.



El método más popular para prolongar la vida de anaquel de las tortillas de maíz es producir una tortilla altamente alcalina (pH 9 o mayor), al adicionar cal hidratada (Hidróxido de Calcio); sin embargo, la adición de la cal afecta la apariencia al dar un producto amarillo.

Otro método es conservar las tortillas en refrigeración; sin embargo, esta opción debe justificarse en base a la alta demanda del consumidor, ya que el alto costo de refrigeración, el bajo margen de beneficio de las tortillas de maíz y la capacidad reducida de espacio en los refrigeradores de los supermercados hacen esta opción poco práctica. La adición de antimicrobianos, productos de suero de leche y gomas para prevenir el moho y prolongar la vida de anaquel es otra alternativa, sin embargo, se obtienen mejores resultados sólo en tortillas que han sido acidificadas (0.45 % de ácido fumárico) (Haney, 1989).

Para entender como se lleva acabo el fenómeno de envejecimiento, se revisarán algunos conceptos iniciando con el proceso de nixtamalización que es muy importante para la elaboración de la tortilla así como de otros alimentos importantes.

TABLA 2 Composición Aproximada de la Tortilla.

Componente	g/100 g	Por tortilla (35g)
Humedad	38-45	13.3-15.8
Proteína	5.3-7.2	1.9-2.5
Grasa	0.8-3.8	0.3-1.3
Cenizas	0.9-1.2	0.3-0.4
Fibra dietética	3.4-4.1	1.2-1.4
Fibra cruda	0.7-1.7	0.24-0.6
Carbohidratos	42.8-48	15-17
Energía (Kcal/100g)	205-224	72-78.4
	mg/100g	mg por tortilla (35g)
Fósforo	180-260	64-91
Calcio	90-210	34.3-73.5
Magnesio	60-65	21-23
Hierro	1.2-2.5	0.42-0.87
Zinc	1.1-1.4	0.38-0.49
Cobre	0.13-0.17	0.04-0.06
Manganeso	0.4-0.41	0.14
Sodio	2-17	0.7-6
Potasio	105-185	36.8-64.8
Tiamina	0.7-0.17	0.24-0.06
Riboflavina	0.01-0.12	0.29-0.56
Ac. Fólico	0.006-0.019	0
Ác. Pantoténico	0.163-0.241	0.05-0.08
Vitamina B6	0.118-0.302	0.04-0.1

Las variaciones dependen de la cantidad de humedad y de las variaciones propias de la materia prima.
Fuente: Hernández, M. (1987), Renhotra, G.S. (1985).

1.3 NIXTAMALIZACION

Desde tiempos precolombinos, el desarrollo de México ha estado íntimamente relacionado con el cultivo y consumo del maíz. La preparación de este cereal se hace mediante el proceso conocido en México como "Nixtamalización" (palabra náhuatl derivada de nextly que significa cenizas o cenizas de cal y tamalli que significa masa de maíz); que logra, a través de la cocción del maíz en agua adicionada con cal, la gelatinización de los almidones y la liberación de la niacina (Chávez, 1973).

Probablemente las antiguas culturas latinoamericanas emplearon este método con el único fin de ablandar e hinchar el grano de maíz, para facilitar la molienda; sin embargo se sabe que algunos grupos étnicos, como los purépechas, molían el maíz con bicarbonato para prevenir la constipación y otros grupos lo daban como alimento a los enfermos, con fines terapéuticos. Estudios antropológicos concluyen que los pueblos que practicaron este proceso mostraron un mejor desarrollo (Katz et al., 1974).

En la actualidad se observa que las condiciones del procesamiento para la obtención del nixtamal varían dependiendo del tipo de escala de producción (doméstica, comercial o industrial), del molino o tortilladora, de los hábitos regionales y formas de consumo y de la variedad del grano (Fonseca, 1991).

En general, los pasos del proceso son los mismos: primeramente se agrega al maíz agua en una proporción de 1:3 (peso-volumen) y se añade 1-3% de cal alcanzando un pH de 11-13, se calienta durante 20-40 min, sin que la mezcla llegue a hervir (90°C). Después del calentamiento, se deja en reposo de 10 a 14 h. Se elimina el agua de cocción (nejayote) y el maíz se lava con agua para eliminar el exceso de cal, así como el pericarpio y algunas impurezas del grano. El maíz lavado se muele en un molino de piedras (Badui, 1989).

Las variaciones que se reportan se refieren a la proporción del maíz y la cal, las concentraciones utilizadas de esta última, así como diferentes intervalos de tiempo y temperatura (Illescas, 1943; Bressani, 1958).

En relación con la temperatura del proceso se sugiere que no sea menor de 70°C, ya que el grano no se hidrata lo suficiente, resultando duro y dando lugar a una masa granulosa sin la consistencia adecuada. Así mismo, la temperatura máxima sugerida ha sido de 90°C, puesto que si es mayor el grano queda demasiado suave, obteniéndose una masa flácida y chiclosa.

Con respecto a la concentración de la solución de cal, se propone un intervalo de 1-3% ya que por debajo del mínimo el grano no se hidrata lo suficiente, quedando duro y la cascarilla no se desprende, mientras que a mayor concentración el grano toma un color rojo y no se suaviza, aún dejándolo en cocimiento por más tiempo.

Durante la nixtamalización ocurren cambios en la composición del maíz, entre los que se pueden citar:

- a) Incremento en el contenido de minerales debido a la introducción de Ca^{2+} .
- b) Reducción en el contenido de grasa, debido a la hidrólisis alcalina en la que se liberan ácidos grasos.
- c) Disminución en la cantidad de fibra cruda, al eliminarse parte del pericarpio.
- d) Disminución en el contenido de proteínas ya que se solubilizan e hidrolizan algunas fracciones proteínicas (gluteninas) que se pierden en el nejayote. Sin embargo, la calidad de la proteína mejora debido a la mayor disponibilidad de los aminoácidos.
- e) Gelatinización parcial de los gránulos del almidón, lo que ocasiona el rompimiento de los gránulos y la liberación de la amilosa y amilopectina.
- f) Pérdida de las vitaminas hidrosolubles.
- g) Mayor disponibilidad de niacina, con lo cual se evita la pelagra, ya que esta se hace disponible después del proceso. También se evita el raquitismo ya que aumenta considerablemente el contenido de calcio (Pérez, 1992; Trejo-González, 1982; Machorro, 1984).

1.4 HARINA DE MAÍZ

El proceso de producción de harina de maíz es semejante al que se emplea en los molinos de nixtamal, sólo que a distinta escala con un proceso adicional de secado. La industria de la harina de maíz en México tuvo su origen a principios de la década de los cincuentas (Judifman, 1992 y 1993).

Buscando mejorar las operaciones tradicionales de la industria de las harinas, se han desarrollado diferentes procesos, tales como el de extrusión y el de cocción por tambores (Bazua, 1979).

La harina de maíz para tortillas es un polvo fino, seco, de color blanco o blanco-amarillento, con el color característico de la masa de maíz. Este polvo mezclado con agua produce una masa adecuada para hacer tortillas, tamales y atoles entre otros productos (Matz, 1987).

El color, pH, la absorción de agua, distribución del tamaño de partícula y la viscosidad de la harina de maíz varían considerablemente. En general la distribución del tamaño de partícula se define según el producto que se requiera elaborar. Para la tortilla se requiere un tamaño de partícula pequeño, para que el vapor producido durante el cocimiento sea retenido y esponje; sin embargo para la elaboración de tacos y tostadas se requiere de un tamaño de partícula más grueso para que el vapor producido escape durante el freído (Watson, 1987).

El pH es otro factor que requiere de atención: por ejemplo en la harina para elaborar tortillas en la cual el lavado del grano no fue lo suficientemente exhaustivo, se obtendrá una tortilla con una vida de anaquel de 6 a 8 días, pero con un sabor desagradable. Por lo tanto, el control de calidad en estos productos es muy importante.

La harina de maíz hecha en México tiene una regulación de calidad oficial expedida por el Departamento de Regulaciones y Estándares de la Secretaría de Industria y Comercio, según se muestra en la siguiente Tabla 3 (Del Valle, 1972).

TABLA 3 Regulaciones de Calidad emitida por el Gobierno Mexicano para la Harina de Maíz Nixtamalizada.

REGULACIONES DE CALIDAD EMITIDAS POR EL GOBIERNO MEXICANO PARA LA HARINA DE MAIZ NIXTAMALIZADA

ESPECIFICACIONES QUIMICAS

Humedad Máx.	10.0 % (en el momento de empacar)
Minerales	2.0 %
Proteína Mín.	7.5 %
Fibra cruda Máx.	3.0 %
Extracto etéreo	5.0 %

ESPECIFICACIONES FISICAS

1. Las tortillas deben pasar la prueba del doblado.
2. La harina debe tener un porcentaje del 85% mín, al pasar por malla 60.

Cuando la harina tiene un contenido de humedad de 10-12% es estable a la contaminación microbiológica, pero si el contenido de humedad esta por arriba del 12% es más susceptible al ataque de hongos y levaduras. Es difícil evitar el ataque microbiológico ya que no se observaría el daño sino hasta que se reconstituye la harina.

Otro problema relacionado con la estabilidad de la harina es la rancidez, la cual no es normal que se presente a menos que la harina sea empacada a altas temperaturas. El mínimo de tiempo que requiere la harina para su descomposición es de 4 a 6 meses durante el invierno y 3 meses durante el verano. En promedio, la harina es consumida 15 días después de ser introducida al mercado, mientras que su vida de anaquel es de 1 mes (Bressani, 1990).

1.5 ESTRUCTURA DEL ALMIDON

El almidón sirve como reserva energética en las plantas; las fuentes principales de almidón en América son el maíz y otros cereales, mientras que en Europa es la papa. El almidón es probablemente el polisacárido más abundante e importante desde el punto de vista comercial y alimenticio (Baduí, 1989).

Químicamente el almidón es una mezcla de dos polisacáridos: amilosa y amilopectina, el cual se almacena en partículas muy pequeñas llamadas gránulos. Los gránulos de almidón están formados por capas concéntricas de estos polisacáridos que se encuentran radialmente distribuidas por lo que es una estructura rígida; los gránulos de almidón para diferentes fuentes tienen tamaño y formas característicos; en el caso específico del maíz, miden de 12 a 25 micras y son redondos o poligonales (Charley, 1991).

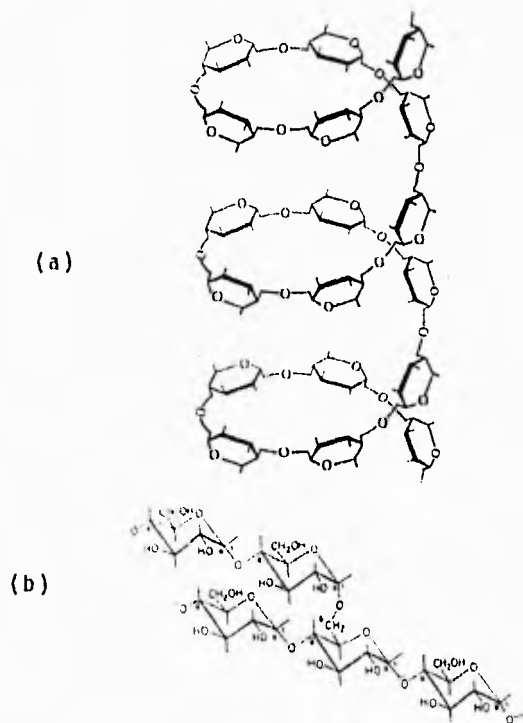
La propiedad de birrefringencia de los gránulos se debe a la formación de zonas cristalinas producidas por la unión de moléculas lineales a través de puentes de hidrógeno, por lo que la presencia de moléculas ramificadas impide este arreglo cristalino, y existen zonas de estructura amorfa que no cuentan con esta característica. Otra manera de diferenciar dichas zonas es por su comportamiento ante el ataque enzimático, es decir, la zona cristalina es difícil de atacar; mientras que en la zona amorfa es más fácil este proceso (Hoseney, 1992; Coultate, 1990; Hodje, 1985; Greenwood, 1979).

1.5.a. AMILOSA.

La amilosa es un producto de la condensación de hexosas (D-glucopiranosas), que forma cadenas largas lineales que pueden tener 200 - 2,500 unidades, con pesos moleculares que van desde 1.6×10^5 a 7.1×10^5 (generalmente de 10^5 a 10^6). Esta variación está en función de la planta de la que se extrajo. Los monosacáridos están unidos a través de enlaces glucosídicos α -D-(1 $\rightarrow$ 4), siendo la α -maltosa la unidad repetitiva, aunque ocasionalmente presenta enlaces α -D-(1 $\rightarrow$ 6).

Una propiedad de la amilosa es su facilidad para adquirir una conformación tridimensional helicoidal como se puede observar en la figura 1 (a). En términos generales representa el 17-27% del total del almidón. El Yodo interactúa con la amilosa produciendo un fuerte color azul característico debido al complejo que forma entre una molécula de este elemento con cada 7-8 moléculas de D-glucosa; este complejo se desarrolla aparentemente por la inclusión de una molécula de iodo en hélice la de amilosa (Coultate, 1990; Greenwood, 1979; Baduí, 1989; Memorias, 1992).

FIGURA 2. (a) Enrollamiento helicoidal de la Amilosa.
(b) Estructura química de la Amilopectina.



1.5.b. AMILOPECTINA.

Es otro α -D-Glucano, que tiene ramificaciones cortas de 17 a 36 residuos (promedio 20-25). La mayoría de los enlaces entre las unidades de D-glucosa de la amilopectina son del tipo α (1-4), como en la amilosa. Además, un 4-5% de las unidades de glucosa están unidas por enlaces α -(1-6) y dan una estructura ramificada creciente como se observa en la figura 1 (b); la iso-maltosa es el disacárido que contiene el enlace de ramificación. La amilopectina es la responsable de la estructura del gránulo de almidón ya que al eliminar la amilosa (p.e.agua) el gránulo no pierde forma ni tamaño. Su peso molecular aproximado es de 10^8 .

En términos generales, el almidón contiene 17-27% de amilosa y el resto de amilopectina (Badui, 1989). En la Tabla 4 se presentan algunas propiedades de la amilosa y amilopectina.

TABLA 4 Propiedades de la Amilosa y la Amilopectina.

PROPIEDADES	AMILOSA	AMILOPECTINA
ESTRUCTURA MOLECULAR	Lineal	Ramificada
SOL	No Estable	Estable
PELICULA	Forma	No forma
FORMACION DE COMPLEJOS	Favorable	No tan favorable
COLOR IODO/IODURO	Azul	Rojo-púrpura
DIGESTIBILIDAD	90%	50%
GRADO DE POLIMERIZACION	1500-600	$3 \times 10^5 - 3 \times 10^8$
SUSCEPTIBILIDAD A LA RETROGRADACION	Alta	Baja

Fuente: Hodge 1985, Memorias 1992.

1.6. GELATINIZACION

El gránulo de almidón, en presencia de agua fría, puede hincharse y aumentar de tamaño (Davidek, 1990), siendo los grupos hidrófilos de la molécula los responsables de este fenómeno. Cuando se calienta una suspensión de almidón a temperaturas de 50-55°C, en las zonas amorfas se producen cambios importantes, ya que al reformarse los puentes de hidrógeno se absorbe una mayor cantidad de agua; a este fenómeno se le llama gelatinización y va paralelo a la pérdida de birrefringencia, ya que se rompe el arreglo radial de los polímeros; como se observa en la figura 3. A medida que aumenta la temperatura también aumentará el agua absorbida; parte de las moléculas de bajo peso molecular de la amilosa se disuelven y difunden.

Almidones de orígenes diversos, contienen un diferente grado de cristalización y por lo tanto se hinchan y gelatinizan en diferentes condiciones de temperatura (Pomeranz 1991; Yuan 1993).

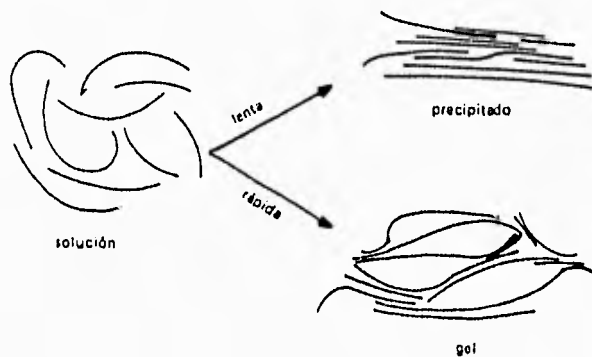
1.7. RETROGRADACION

El fenómeno de retrogradación se define como la insolubilización y precipitación de las moléculas de amilosa, debido a que las cadenas lineales se orientan paralelamente e interaccionan entre ellas por puentes de hidrógeno a través de sus hidroxilos (Badui, 1989).

Cabe considerar a la retrogradación como una progresión normal hacia la solidificación de un gel de almidón, figura 3. La temperatura, tamaño, grosor y concentración de las moléculas del almidón y la presencia de otros componentes influyen en la velocidad y grado de la retrogradación. En un principio, parece ser que este fenómeno ocurre más rápidamente a temperaturas próximas a los 0°C.

La retrogradación de la amilopectina se invierte por calentamiento. No obstante, no es posible volver atrás la amilosa retrogradada con los métodos de calentamiento ordinario (Hodge, 1985).

FIGURA 3. Mecanismos de retrogradación del Almidón.



Un problema desde el punto de vista nutritivo, es el hecho de que las zonas cristalinas que se forman durante la retrogradación del almidón son difícilmente atacadas por las enzimas amilolíticas del sistema digestivo del ser humano, por lo que se reduce el valor nutritivo y energético.

Los cambios físicos que suceden durante la gelatinización y retrogradación se pueden resumir de la siguiente manera: El gránulo se hincha y pierde birrefringencia, la viscosidad de la solución se incrementa y las pequeñas moléculas lineales (si están presentes) se disuelven y se reasocian para formar un gel irreversible; lo anterior se presenta en la Tabla 5.

TABLA 5 Cambios físicos durante la gelatinización y retrogradación del almidón.

ESTADIO	CAMBIO
Hidratación	Pérdida de birrefringencia del gránulo.
Gelatinización	Alta hidratación, hinchamiento del gránulo.
Liberación de las moléculas lineales	Disolución y difusión de la amilosa fuera del gránulo.
Suspensión	Incremento rápido de la viscosidad.
Retrogradación	Se forma un gel irreversible o una red cristalina.

1.8. EL ENDURECIMIENTO EN PRODUCTOS CON ALTO CONTENIDO DE ALMIDON

Es bien sabido que el almidón es el responsable del endurecimiento de este tipo de productos, pero la mayoría de los estudios se han enfocado al endurecimiento del pan; por lo que revisaremos esta información como fundamento de este trabajo.

Aproximadamente del 8 al 10 % de todo el pan es recogido en un lapso de dos días, de no haber sido vendido. Debido a que todo el pan se vende a consignación, los panaderos tienen que absorber el costo de los panes devueltos. De acuerdo con esta política cualquier producto que no pueda ser vendido con un descuento en una tienda de precios económicos, representa ingresos perdidos.

La distribución representa uno de los costos más altos de la industria de panificación. La prolongación del tiempo de durabilidad antes de la venta a más de los cinco o seis días típicamente normales, permitiría a las compañías extender su radio de distribución y consolidar las operaciones.

Todos los intentos por impedir el endurecimiento y prolongar el tiempo de durabilidad de los productos de panificación, tienen relación con la modificación de tres factores químicos: almidón, proteína y agua.

Se ha propuesto que la cantidad de agua en un producto de panificación contribuye considerablemente en la dureza o firmeza de la miga en el producto horneado. Por otro lado, la función de algunos agentes químicos contra la dureza, como las grasas y aceites parecen ser independientes de la concentración de agua. Agentes químicos, contra la dureza típicamente usados en la industria de panadería incluyen:

*** Grasas y emulsiones.** Estos tienen un efecto inhibidor de la retrogradación porque interaccionan con la amilosa dentro del gránulo y evitando su difusión (Badui, 1990). Al agregar 0.5% a 1.0% peso-harina de mono- y digliceridos, prolonga la vida de anaquel entre uno y tres días.

*** Humectantes.** El jarabe de maíz, la fructosa de maíz, frutas concentradas, miel o pastas de dátiles, higos y pasas, ayudan a prolongar el tiempo de durabilidad antes de la venta, contribuyendo a conservar la humedad y suavidad además de conferir sabor y color a estos productos. Al aumentar el contenido de sólidos y disminuir la actividad acuosa se retrasa el crecimiento microbiano.

* **Aglutinantes.** Consisten en cristales de fécula hidratada (almidón modificado); su mecanismo parece ser el de inmovilizar el agua y tal vez prevenir la interacción de la fécula y las proteínas en los productos. Pueden aumentar la vida de anaquel por un mínimo de tres semanas.

* **Enzimas.** Hay dos teorías en relación con el mecanismo de acción: una es que las enzimas previenen la retrogradación de almidón; la otra es que modifican la estructura del almidón.

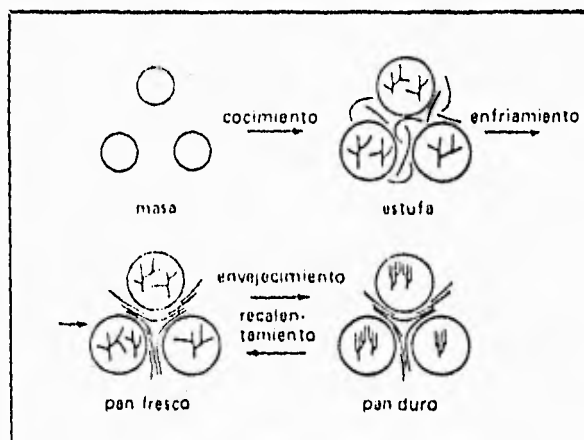
I.9. PAPEL DEL ALMIDON EN EL ENVEJECIMIENTO DEL PAN

Se ha considerado que el almidón es el principal constituyente que influye en las modificaciones físicas del envejecimiento del pan (staling). El envejecimiento provoca la correosidad de la corteza, el grado de compactación y aumento de opacidad de la miga, la pérdida del sabor y la disminución del almidón soluble (Osman, 1975).

La correosidad de la corteza, parece estar relacionada principalmente con la migración de agua desde la miga hasta la corteza. Cuando el pan es reciente, la corteza es quebradiza y apetecible; contiene 2 al 5 % de humedad. Al difundirse el agua hacia la corteza esta pierde su fiabilidad y se vuelve correosa (Martín, 1991).

Las alteraciones que se producen en la miga, son mucho más complicadas. Originalmente se pensaba que este fenómeno se debía a la susceptibilidad de la amilosa para retrogradar y formar zonas cristalinas, pero posteriormente se encontró que la rigidez del pan se desarrollaba paralelamente con la retrogradación y cristalización de la amilopectina (Pomeranz, 1991). La unión de cadenas de amilopectina produce la expulsión de las moléculas de agua, con la consecuente deshidratación y envejecimiento del pan, como se observa en la figura 4. Esta reacción puede hacerse reversible con calor húmedo, puesto que los cristales de amilopectina funden a 60°C; esto se puede hacer siempre y cuando el proceso de retrogradación no este muy avanzado.

FIGURA 4. Proceso de Retrogradación en el Envejecimiento del Pan.



El aumento de opacidad de la miga, es presumiblemente debido al crecimiento de los cristales, lo cual hace cambiar el índice de refracción. Se conocen algunos factores para alterar la velocidad de envejecimiento, o para producir pan más blando que retiene su suavidad durante más tiempo. Por ejemplo, se conoce la capacidad de ciertos surfactantes que forman complejos con la amilosa (Hoseney, 1992) para producir pan blando, presumiblemente porque el almidón en presencia de ellos, no se hincha tanto como en su ausencia. La inclusión de antiaglutinantes en la receta del pan, retrasa la velocidad de envejecimiento. El uso de α -amilasa, que es relativamente termoestable, retrasa el envejecimiento. También parece importante la temperatura a la que se almacena el pan; las temperaturas altas retrasan el envejecimiento y las mas frías (por encima de la congelación) aceleran éste proceso (Hoseney, 1992).

1.10. LAS ENZIMAS

Una enzima es una proteína de origen natural que cataliza reacciones biológicas con un cierto grado de especificidad y sólo acelera la velocidad de aquellas reacciones que termodinámicamente son posibles.

Al hablar de enzimas relacionadas con alimentos es necesario hacer una distinción entre las enzimas naturales (endógenas), las cuales pueden tener una acción favorable o dañina en el producto terminado, y las que son añadidas para lograr una modificación en el producto final. De una manera general, estas últimas, se usan para aumentar la calidad y la utilización de derivados, para conseguir índices y velocidades más altas de extracciones para mejorar el sabor y para estabilizar el producto final (Badu, 1989).

Las ventajas de utilizar enzimas en la elaboración de alimentos son las siguientes:

1. Son sustancias naturales, no tóxicas.
2. Catalizan determinada reacción sin provocar reacciones secundarias indeseables.
3. Son activas en condiciones moderadas de temperatura (T) y pH.
4. Son activas a concentraciones bajas.
5. Es posible controlar la velocidad de reacción ajustando la T, el pH y la cantidad de enzima.
6. Pueden inactivarse cuando la reacción ha avanzado en la medida deseada.

La fuente más común de enzimas comerciales son los microorganismos, ya que presentan la ventaja de crecer rápidamente en diferentes condiciones (Richardson, 1985).

El uso de enzimas comerciales en alimentos se incrementa cada vez más ya que sus aplicaciones son muy amplias y variadas. Actualmente hay enzimas inmovilizadas en electrodos y absorbidas en papel, que se pueden usar repetidamente en las determinaciones. Ya es posible cuantificar muchos hidratos de carbono, como glucosa,

fructosa, lactosa, maltosa, ácido ascórbico, sorbitol, rafinosa y almidón, con el uso de enzimas, así como los ácidos succínico, láctico y cítrico entre otros compuestos; a continuación se presentan ejemplos de enzimas cuya actividad ha sido propuesta como método de control de calidad en el procesamiento de alimentos:

- * Fosfatasa alcalina: pasteurización de la leche.
- * Fosfatasas: pasteurización de jugo de naranja y jamón enlatado.
- * Peroxidasa: escaldado de chícharos.
- * N, acetil- α -D-glucoaminidasa: eliminación de *Salmonella* en pasteurización de huevo.
- * Actividad diastásica (α -amilasa): en relación con sobrecalentamiento de mieles.

En general, las enzimas más empleadas son las que pertenecen al grupo de las hidrolasas. Una de las aplicaciones más importantes es la producción de jarabes fructosados en los E.U.A. El proceso se basa en la extracción de almidón del grano, hidrólisis inicial con una α -amilasa termo-resistente y posteriormente hidrólisis hasta glucosa con amiloglucosidasa y pululanasa. Una vez obtenida la glucosa, ésta se isomeriza a fructosa por medio de la glucosa isomerasa. Otra aplicación de gran importancia es en la industria cervecera donde se utilizan enzimas amilolíticas para hidrolizar el almidón de los adjuntos (arroz, maíz, sorgo, etc).

I.10.A. ENZIMAS AMILOLITICAS O AMILASAS

A este grupo pertenecen cuatro enzimas, que se diferencian entre si por la manera en que hidrolizan los enlaces químicos del almidón; las α y β -amilasas atacan los enlaces glucosídicos α -(1 $\rightarrow$ 4), las glucoamilasas los enlaces α -(1 $\rightarrow$ 4) y α -(1 $\rightarrow$ 6) y finalmente las amilopectina-1,6-glucosidasas, hidrolizan exclusivamente los enlaces α -(1 $\rightarrow$ 6) (Vihimen, 1989). Las más importantes desde el punto de vista comercial son la α -amilasa, la glucoamilasa y la β -amilasa.

La α -amilasa es una endoenzima, que como se mencionó anteriormente, degrada los enlaces glucosídicos $\alpha(1\rightarrow4)$ al azar (Raju, 1991). Como productos se obtienen dextrinas de la amilopectina, mientras que la amilosa puede ser degradada hasta azúcares más pequeños (maltosa, maltotriosa, G_4 , G_5 , G_6) en proporciones que varían con la especificidad de la enzima (origen). Al reducir el tamaño de las moléculas del almidón, se reduce la viscosidad de la solución de almidón o de la suspensión; como consecuencia de ello a esta enzima se le denomina licuefactora; el término propuesto por la Comisión de Enzimas (E. C. 3.2.1.1.) para designar esta categoría de enzimas es α -1,4 glucan y glucanohidrolasas (Belit, 1985).

Probablemente la enzima se sitúa en la hélice de amilosa e hidroliza posiciones vecinas, enlaces glucosídicos alejados entre sí una vuelta de hélice. La amilopectina es atacada en posiciones fijas; los puntos de ramificación son simplemente pasados por alto. La enzima trabaja mucho más rápidamente sobre almidón gelatinizado, que sobre el almidón granular.

La enzima β -amilasa hidroliza el almidón atacándolo únicamente por su extremo reductor y produce moléculas de maltosa y dextrinas básicamente; debido a que no hay una inmediata destrucción de la estructura polimérica del almidón, la viscosidad se reduce muy lentamente (Badui, 19891). El término propuesto por la Comisión de Enzimas (E.C.3.2.1.2.) para esta enzima es alfa- 1,4 -glucanmaltolhidrolasa (Goldstein, 1992).

Es conveniente señalar que los iones calcio actúan como cofactores de estas enzimas estabilizándolas contra la desnaturalización producida por el calor o los álcalis dentro de ciertos límites. Otros iones como el cobre y el mercurio, inhiben la β -amilasa ya que interaccionan con los grupos sulfhidrilos del centro activo de la enzima bloqueando su actividad. Los cereales sanos e intactos tienen bajos niveles de α -amilasa. Sin embargo, en la germinación el nivel de ésta se eleva en la mayoría de los casos.

I.11. ENZIMAS UTILIZADAS EN PANIFICACION

En los últimos años se extendió el uso de las enzimas como coadyudantes tecnológicos en la Industria Alimentaria, pero la utilización en la producción del pan y de los productos horneados es reciente (Quaglia, 1992).

Existen varios sistemas enzimáticos diseñados para retrasar el endurecimiento de los panes horneados y productos dulces. Entre estos tenemos la α -amilasa. Otro está basado en una enzima carbohidrasa derivada de *Aspergillus niger*, la cual se inactiva durante el proceso de horneado.

En panificación se usan generalmente dos tipos de enzimas:

1. PROTEASAS. Al añadir proteasas a la masa para la elaboración del pan, que hidrolizan los enlaces péptidos de las proteínas, se provoca una modificación parcial de estas y se produce una masa más blanda y consecuentemente más fácil de manejar. A la vez, el uso de estas enzimas permite el empleo de harinas de alto contenido en proteínas, otorgando más estabilidad a la masa y una mejor retención del gas, lo que en definitiva permite la obtención de pan con una miga más ligera y con más alvéolos (Quaglia, 1992).

2. AMILASAS. Las amilasas actúan sobre el almidón de modo diferente: mientras la α -amilasa rompe la macromolécula de almidón, formando moléculas de menores dimensiones, la β -amilasa las transforma en maltosa que servirá como sustrato para la fermentación. Las investigaciones han demostrado que el uso de α -amilasa tiene mayor eficiencia que la β -amilasa. Por otra parte, existen 3 fuentes de α -amilasa disponibles: la de los cereales, la que procede de los hongos y la de origen bacteriano. Entre ellas existen diferencias de estabilidad térmica y por lo tanto, diferencias en la actividad que pueden desarrollar antes de ser desactivadas térmicamente (Tabla 6).

TABLA 6 Características de las α -amilasas de diferente origen.

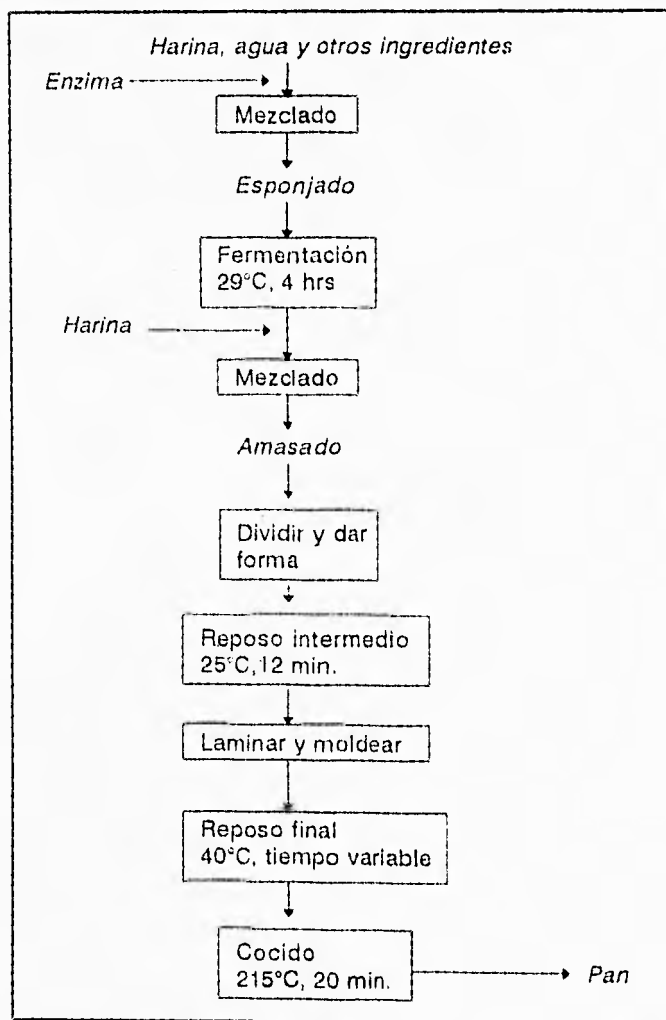
ENZIMA	FUENTE	pH OPTIMO (rango)	TEMPERATURA OPTIMA °C (rango)
Pancreática	<i>Páncreas de porcino</i>	6.0-7.0	40-45
Malta	<i>Malta de trigo o cebada</i>	4.5-7.0	60-70
Fúngica	<i>Aspergillus oryzae</i> <i>Aspergillus niger</i>	5.0-6.0	55-60
Bacteriana	<i>Bacillus subtilis</i>	6.5-7.5	70-85

FUENTE: Goldstein, 1992

La cantidad de azúcares fermentables, monosacáridos y disacáridos en la harina de trigo no excede generalmente del 0.5%. Esta cantidad no es suficiente para obtener un pan con el volumen adecuado; por esto, la calidad del pan depende de la generación de maltosa por la actividad de la α - y β -amilasas de la harina. La acción de estas enzimas también reduce las porciones lineales de la estructura de la amilopectina y previene la formación de las uniones tridimensionales que son características en la retrogradación reduciendo la velocidad de envejecimiento (Hebeda, 1990; Ranum, 1990).

En la figura 5 se presenta un diagrama en el que se describe un proceso general para la elaboración de pan utilizando enzimas.

FIGURA 5. Uso de α -amilasa bacteriana en Panadería.



II MATERIALES Y METODOS

I. SELECCION DE LA PREPARACION COMERCIAL DE ENZIMAS

Se eligieron 3 preparaciones enzimáticas comerciales de α -amilasa de diferente origen:

- 1.- Preparación de origen fungal y bacteriano, (Enzyme Bio-systems), a la que se designó FB.
- 2.- Preparación de origen fungal, (Enzyme Bio-systems), designada como F.
- 3.- Preparación de origen bacteriano, (Novo-Nordisk), designada como B.

Las dos primeras preparaciones enzimáticas se usan en panificación en dosis de 0.125 a 0.2 % en base al peso de la harina.

Todos los reactivos son de grado analítico y el agua es destilada.

A) ACTIVIDAD ENZIMATICA

Con el fin de comparar y estandarizar las preparaciones se definió un método específico que a continuación se describe.

La actividad de las preparaciones comerciales de α -amilasa se reporta frecuentemente en unidades SKB, que se definen como la cantidad de enzima que se necesita para dextrinizar un gramo de almidón en una hora bajo condiciones de ensayo.

Sustrato: Solución de almidón soluble (Merck) al 0.1 % en solución amortiguadora de acetatos 0.1 M a un pH de 6.

Concentración de enzima: Solución 0.1 % en agua.

En los vasos de reacción se colocan 20 ml de la solución de almidón con una cantidad conocida de la solución de enzima con agitación; en diferentes intervalos se toman 0.5 ml de la mezcla de reacción (0, 3, 6, 9, 12 y 15 min). A la muestra tomada se le determinan azúcares reductores por el método de Bernfeld con DNS (Sumner, 1935).

METODOLOGIA:

1. En un tubo de ensaye colocar 1 ml de la solución acuosa al 1 % de la muestra problema.
2. Agregar 1 ml del reactivo de coloración *.
3. Se desarrolla el color colocando los tubos en un baño de agua en ebullición durante exactamente 5 minutos. De preferencia los tubos debe ir tapados, no sellados; con el fin de evitar que se pierda parte de la muestra durante el calentamiento.
4. Los tubos se sumergen en un baño de agua fría y se agregan 10 ml de agua destilada.
5. Se determina la absorbancia a 540 nm. contra un blanco que lleva 1 ml de agua destilada tratado de la misma manera.

*** Reactivo de Coloración:** Se disuelve 1 g de ácido 3,5-dinitrosalicílico en 50 ml de agua destilada y 20 ml de hidróxido de sodio (NaOH) 2 N. Se adicionan 30 g de tartrato doble de sodio y potasio y se afora a 100 ml con agua destilada. Esta solución se guarda en un frasco ámbar y protegido de la luz.

La concentración de azúcares reductores se calcula a partir de una curva patrón de glucosa (Dextrosa anhidra Baker Analyzed), en concentraciones de 0.1 a 2 mg/ml.

Se evaluó el efecto de la temperatura y del pH sobre la actividad de las enzimas comerciales; en la determinación del pH se eligió la temperatura óptima determinada anteriormente, utilizando diferentes soluciones amortiguadoras para preparar el sustrato de almidón:

- * Solución Amortiguadora de Acetatos 0.1 M para pH 3, 4, 5, 6.
- * Solución Amortiguadora de Fosfatos 0.1 M para pH 6, 7, 8.
- * Solución Amortiguadora Trizma HCl 0.1 M para pH 8, 9.

II SELECCION DE LAS ENZIMAS POR SU EFECTO EN LA MASA

Se pesan 25 g de harina de maíz nixtamalizada de la marca MASECA y se elabora la masa con 35 ml de agua y el porcentaje de enzima elegido; en la Tabla 7 se señalan las dosis de uso recomendadas en panadería así como las dosis con las que se inicio el estudio. Se realiza un control que contiene la harina y el agua.

TABLA 7 Dosis recomendadas para uso en Panadería.

ENZIMA COMERCIAL	DOSIFICACION RECOMENDADA EN PANADERIA (% con respecto a la harina)	DOSIFICACION INICIAL ELEGIDA (% con respecto a la harina)
Origen Fungal	0.1 - 0.2 *	0.2
Origen Fungal y Bacteriano	0.125 - 0.2 *	0.2
Origen Bacteriano	No se ha utilizado	0.01 %, 0.1 % y 0.2 %

*Información proporcionada por Enzyme Bio-Systems Ltd.

Se incubó la masa a 37°C durante 10 hrs y se tomaron 0.5 g de muestra al tiempo 0, 5 hrs y 10 hrs. Se considera este tiempo como el tiempo de reposo máximo de la masa en las tortillerías comerciales. Se midió la cantidad de azúcares reductores con el fin de monitorear la actividad de las enzimas sobre la masa durante dicho tiempo.

III ELABORACION DE TORTILLAS

A. Historia Térmica del Proceso de Elaboración.

Se decidió recurrir a la elaboración manual de las tortillas, midiendo las temperaturas en el comal, y la de ambos lados de la tortilla durante el cocimiento. Para esta determinación se utilizaron los indicadores de temperatura irreversibles "Thermax", de Cole Parmer, en intervalos de: 71-100°C, 116-154°C y 204-260°C. Es importante conocer estos datos ya que se podrá evaluar la actividad de la enzima durante el cocimiento y asegurarnos de que con el cocimiento se inactivará a la enzima.

B. Envejecimiento Acelerado.

Se desarrolló una metodología para acelerar el endurecimiento de las tortillas, con el fin de contar con una evaluación rápida de la eficiencia de la adición de enzimas. El método consistió en someter a las tortillas a temperaturas bajas de congelación (-12°C), por períodos controlados. Así mismo, se realizaron ciclos de congelado/descongelado, con el mismo fin.

Se sabe que en el pan la velocidad de "envejecimiento" se incrementa cuando la temperatura de almacenamiento disminuye y en congelamiento se requieren temperaturas menores de -22°C para que el producto conserve características semejantes al pan fresco (Pomeranz, 1992).

Parámetros de Control:

Con el fin de evaluar posibles cambios durante el endurecimiento de la tortilla se midieron:

1. Extracción de Almidón Gelatinizado de la tortilla (Guraya, 1993).

El almidón rara vez existe como gránulos crudos en alimentos procesados, generalmente existen fracciones de almidón crudo y almidón gelatinizado; este último afecta la textura del alimento y provocar su envejecimiento, por lo que, conocer el grado de gelatinización en alimentos nos puede servir para determinar algunos parámetros como: el nivel de aceptación y la vida de anaquel.

Este método se basa en el uso de concentraciones diferentes de Hidróxido de Potasio para extraer las fracciones del almidón en un alimento: utilizando una solución al 0.2 N se puede separar el almidón gelatinizado, mientras para extraer el almidón crudo se requiere de una solución al 0.5 N.

Se pesan 0.2 g de la muestra molida, se agitan durante 15 min con 15 ml de Hidróxido de Potasio 0.2 N. El pH de la mezcla se ajusta a 5.5 utilizando Ácido Fosfórico 2 N y se afora a 100 ml con agua destilada. Se toma una alícuota de 100 μ l, se transfiere a un vaso y se diluye con 5 ml de agua destilada. A la mezcla anterior se le agregan 50 μ l de una solución estándar de Iodo, se mezcla y se lee a 600nm. Se realiza un blanco de reactivos. La absorbancia es constante hasta 15 minutos después de la adición del Iodo.

2. Flexibilidad de la tortilla (Pintauro, 1974).

Esta determinación se realizó utilizando varillas de vidrio de diferentes diámetros (0.5, 1, 1.6, 1.8, 2, 2.2, 3 cm).

Cada tortilla se enrolla sobre la varilla de vidrio de diámetro mayor; si no se presenta ruptura, se enrolla en la siguiente, hasta que se observe una ruptura. Se reporta dicho diámetro como "Diámetro de Ruptura". La determinación se realiza con la tortilla fría o caliente (calentamiento en horno de microondas en High durante 20 seg).

3. Mediciones de textura en tortilla.

Se midieron 3 parámetros reológicos (dureza, masticabilidad, esfuerzo inicial), tanto en las tortillas frescas como en las almacenadas en congelación 96 hs y las sometidas a 6 ciclos de congelado/descongelado. Las determinaciones se realizaron tanto en las tortillas control, como en las obtenidas con modificación enzimática, realizando las determinaciones a varias tortillas de cada lote en 4 puntos de cada una de ellas.

Las determinaciones se realizaron en un Texture Analyzer TX-2; este equipo determina directamente la fuerza en la compresión o módulo de tensión mediante programación automática de una sonda que perfora la muestra a una cierta distancia y velocidad. La fuerza de compresión (hacia abajo) o de tensión (hacia arriba) son detectadas automáticamente en el aparato. Del resultado (gráfica de fuerza vs Tiempo) se derivan parámetros reológicos tales como dureza, gomosidad, adhesividad, elasticidad, masticabilidad y esfuerzo inicial (Anónimo, 1993)

4. Prueba sensorial de las tortillas.

Se realizó una prueba de preferencia con jueces afectivos. La población elegida fueron 75 consumidores de tortilla.

Muestras: Se eligieron 4 muestras de tortillas con base en los cambios físicos que presentaron las tortillas después de que se les sometió a diferentes tratamientos como se especifican posteriormente. Se preparó un lote importante de tortillas para esta prueba (10 Kg).

Codificación de las Muestras: Se eligieron tres números al azar para designar cada una de las muestras: 354-fresca control; 746-fresca con enzima; 905-con 96 hrs de congelación control y 112- con 96 hrs de congelación con enzima.

Se sometió 1 Kg de cada una de las muestras a los procesos antes mencionados y se presentaron a los jueces a la temperatura a la que se consume normalmente.

Diseño de la hoja de Respuestas:

INSTRUCCIONES: Por favor, ordene del 1 al 4 las siguientes muestras de acuerdo a su preferencia, considerando 1 como la mejor. No es válido asignar empates. Gracias.

MUESTRAS	746	112	905	359
-----------------	------------	------------	------------	------------

PREFERENCIA	----	----	----	----
--------------------	------	------	------	------

¿Por qué elegiste la uno como la mejor?

Análisis Estadístico de los Resultados: Se realizó un análisis de varianza de los resultados obtenidos. Las calificaciones fueron analizadas de acuerdo a la prueba de Kramer por rangos (O'Mahony, 1986).

III RESULTADOS Y DISCUSION

I SELECCION DE LA PREPARACION COMERCIAL DE ENZIMAS

Es evidente que para el objetivo buscado la enzima α -amilasa es la alternativa más adecuada ya que tiene la propiedad de catalizar la hidrólisis del almidón, específicamente en los enlaces $\alpha(1-4)$ y al ser una endo enzima puede hidrolizar las cadenas de amilosa y amilopectina, cambiando radicalmente su estructura (Peso Molecular).

La ventaja es que existen preparaciones comerciales de esta enzima de diversas fuentes y proveedores lo que facilita la disponibilidad. Por otro lado, este tipo de preparaciones se usan en panificación para aumentar el valor maltoso y así mejorar la fermentabilidad de la harina.

Para elegir las enzimas comerciales se consideraron los siguientes criterios:

1. *La enzima debe ser considerada como segura para uso alimenticio (GRAS)*
2. *Disponibilidad.* Esta es una ventaja de usar preparaciones comerciales, ya que eventualmente el proceso de producción de la tortilla no debe verse afectado por la disponibilidad del aditivo.
3. *Características químicas y físicas.* La enzima seleccionada no debe alterar el sabor, color u olor característico de la masa y mucho menos de la tortilla.

En cuanto a este punto es importante también elegir una preparación que sea fácilmente incorporada a la harina de maíz nixtamalizada premezclada directamente durante su producción, o bien, pudiendo ser incorporada en el agua de hidratación previo a la elaboración de las tortilas.

4. *Características cinéticas.* Las preparaciones seleccionadas deben trabajar en ciertos rangos de temperatura y pH, fijados con base en las características de la harina de maíz nixtamalizada y en las condiciones del proceso.

5. *Características de estabilidad.* La enzima seleccionada debe inactivarse durante la cocción con el fin de evitar una degradación excesiva del almidón. La cocción debe ser entonces la vía de control de la actividad enzimática.

A) ACTIVIDAD ENZIMATICA

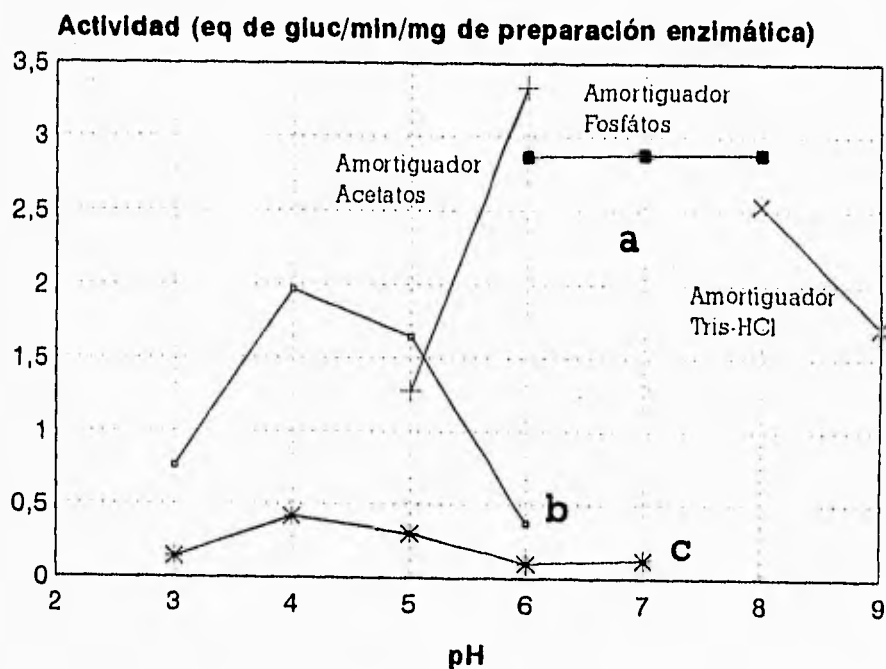
Aunque para las preparaciones comerciales se han definido los rangos óptimos de temperatura y pH, se analizó la actividad en función de estos parámetros con el fin de verificar la información y adaptarla en los métodos de ensayo usados en este proyecto.

A.1. Efecto del pH

En la Figura 6 se observa que las enzimas fungal y la mezcla bacteriana y fungal tienen intervalos de pH muy parecidos que van desde pH 3.0 a pH 6.0 siendo su óptimo en pH 4. También se observa que la actividad de la enzima fungal es más alta que la actividad de la mezcla de enzimas.

FIGURA 6. Efecto del pH en la Actividad Enzimática de las Preparaciones Comerciales.

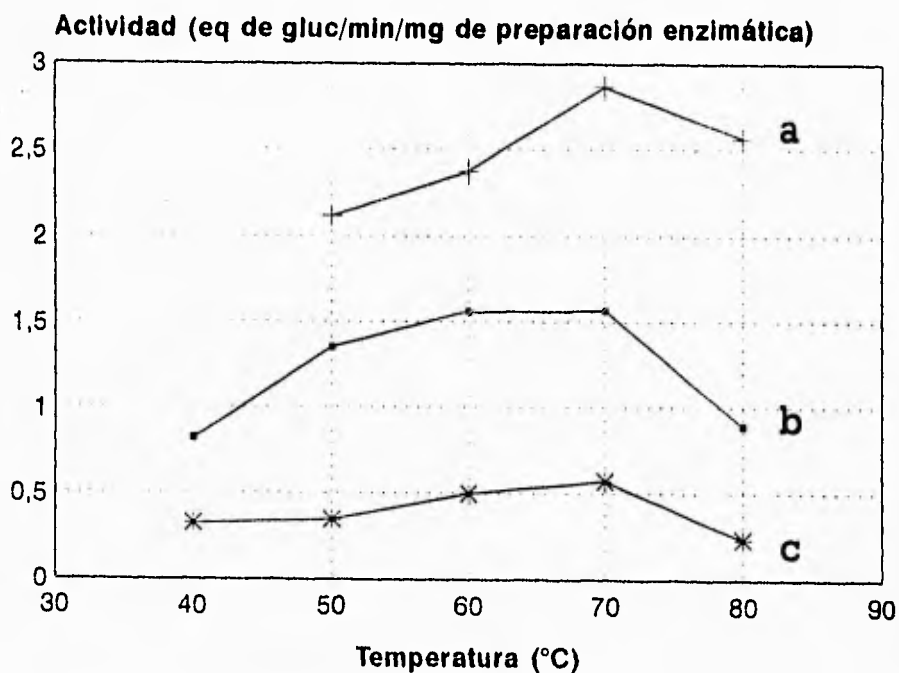
EFFECTO DEL pH EN LA ACTIVIDAD DE α -AMILASAS DE DIFERENTES FUENTES



NOTA: Temperatura 70°C.

FIGURA 7. Efecto de la Temperatura en la Actividad Enzimática de las Preparaciones Comerciales.

EFFECTO DE LA TEMPERATURA EN LA ACTIVIDAD DE α -AMILASAS DE DIFERENTES FUENTES



a) Bacteriana

b) Fungal

c) Mezcla Fungal y Bacteriana

Nota: En todos los casos se utiliza solución amortiguadora de Acetatos 0.1 M a un pH de 6.

Por otro lado la enzima bacteriana es más activa que las otras dos y además presenta un rango de pH más amplio que va desde pH ácido hasta pH básico; esto resulta ser muy importante ya que la harina de maíz nixtamalizada cuenta con un intervalo de pH de 6.0 a 6.3.

A.2. Efecto de la Temperatura.

La Figura 7 muestra que la enzima bacteriana sigue siendo la más activa, y aunque su rango de temperatura es adecuado para que actúe durante el cocimiento de la tortilla, es muy estable, lo que dificulta su degradación durante la cocción.

Una vez más la enzima fungal presenta mayor actividad que la mezcla de enzimas. También se observa como disminuye la actividad conforme aumenta la temperatura lo que nos puede dar una idea aproximada de la temperatura a la cual cesará la actividad de las enzimas, que es importante conocer para poder asegurar que no se encontrará actividad después del cocimiento de la tortilla ni durante su almacenamiento lo que sería confirmado elaborando curvas de estabilidad.

De lo anterior se puede comentar que el uso de una enzima bacteriana podría no ser la opción más adecuada dada la temperatura requerida para su inactivación; también vemos que una actividad baja como la de la mezcla de enzimas nos repercutirá en el aumento en la dosis o en ampliar el tiempo de reposo de la masa, que no es una variable que podamos controlar fácilmente. Aparentemente el uso de la enzima fungal es la opción más adecuada primero por su intervalo de pH y segundo por los valores de actividad que presenta.

II SELECCION DE LAS ENZIMAS POR SU EFECTO EN LA MASA

Como el almidón juega un papel central en la textura de la tortilla cualquier modificación estructural puede alterar las propiedades del producto final, un tratamiento enzimático encaminado a retrasar la retrogradación debe entonces ser definido entre los límites de hidrólisis suficiente para observar un efecto en las tortillas almacenadas mientras mantienen sus propiedades de textura. Por esta razón es importante seleccionar el tipo y dosis de enzima. Para lograr este objetivo también fue necesario considerar otros elementos:

* El proceso tradicional para producir tortilla ha sido modificado por un método más conveniente de producción, distribución y control. Cada vez un mayor número de tortillerías utiliza harina de maíz (nixtamalizada), con la cual produce su propia masa por rehidratación en lugar de utilizar masa fresca de molinos locales; por lo tanto, se decidió trabajar con harina de maíz (nixtamalizada). La harina de maíz sufre un daño mecánico más intenso comparado con el maíz remojado debido al proceso de desecación. Esto tiene un efecto negativo en las propiedades reológicas de la harina de maíz rehidratada; específicamente el almidón es más soluble en comparación con el almidón de la masa que no a pasado por el proceso de desecación (Gómez, 1990), esto nos sugiere que el proceso de retrogradación se ve afectado; con esto se podría explicar el que las tortillas hechas con harina se endurecen más rápido.

Por lo anterior, se consideró que ese proceso hace al almidón de maíz más susceptible a hidrólisis por α -amilasa, por lo tanto, la dosis de enzima debe ser inferior a la actualmente utilizada en el pan.

* Entre otros factores que afectan la actividad de α -amilasa, se encuentra el efecto del calcio que es adicionado durante el proceso de nixtamalización ya que resulta estabilizante. También se observa que el pH de la masa se reduce a neutro debido al proceso de lavado después del tratamiento con cal. Una vez hidratada la masa es

almacenada cierto tiempo antes de cocerse para hacer tortillas. Es necesario considerar que la enzima puede ser activa durante ese tiempo y verificar si se inactiva con la cocción.

Teniendo en mente estos elementos las pruebas iniciales se llevaron a cabo adicionando a la masa diferentes enzimas a dosis variables que se eligieron al azar.

En la Tabla 8 se puede observar el efecto de la actividad de la enzima durante el tiempo que actúa sobre la masa en la producción de azúcares reductores y en algunas propiedades organolépticas de la misma. Se eligieron dos momentos para llevar a cabo la medición con base en el tiempo que se deja reposar comúnmente la masa en las tortillerías, a las 5 hrs y a las 10 hrs. Primeramente se observa que la acción de las preparaciones bacteriana y fúngica, en las dosis utilizadas, es semejante. Sin embargo, las características organolépticas de las masas, en relación con la textura después de 10 hrs de reposo muestran diferencias notables.

La preparación con la mezcla de enzimas a pesar de ser comercial, fue descartada hasta no conocer con detalle el efecto individual. Con base en estos resultados, se disminuyó la dosis de las enzimas fungal y bacteriana, hasta llegar a 0.005% con un tiempo de reposo de 5 hrs. Con esta masa se elaboraron tortillas, las cuales fueron analizadas en su contenido de azúcares reductores a las 24 y 48 hrs de almacenamiento a temperatura ambiente, con el objetivo principal de detectar si el tratamiento térmico durante la cocción afectaba la actividad enzimática, especialmente en la inactivación de la enzima bacteriana.

Tabla 8 Efecto de la adición de α -amilasa sobre masa de maíz nixtamalizado durante reposo a Temperatura Ambiente.

Enzima / Dosis	Tiempo = 5 hrs		Tiempo = 10 hrs	
	Reductores mg gluc / g	Características Organolépticas	Reductores mg gluc / g	Características organolépticas
Control (s/enzima)	1.54	Agrietada, sabor característico	1.54	Muy agrietada, sabor característico
Fungal 0.2 %	43.33	Agrietada, sabor ligeramente dulce	51.41	Agrietada, sabor dulce
Bacteriana 0.2 %	30.39	Agrietada y sabor ligeramente dulce	55.54	Superficie tersa, húmedas, pegajosa y sabor dulce
0.1 %	25.54		44.87	
0.01 %	16.49		28.70	
Mezcla 0.2 %	10.99	Agrietada, sabor característico	11.28	Muy agrietada, sabor característico

NOTA: Todas las masas recientemente preparadas (tiempo 0 hrs), presentan un contenido de 0.89 mg gluc/g y características organolépticas normales.

En la Tabla 9, se observa que el contenido de azúcares reductores extraídos de la tortilla producida con la amilasa bacteriana se incrementa con el tiempo de almacenamiento a 8°C (refrigeración), indicando que la actividad enzimática no ha sido completamente eliminada.

Es importante aclarar que todas las masas tuvieron un tiempo de reposo de 5 hrs; cuando se reducía este tiempo no aumentaba significativamente la cantidad de azúcares reductores, por lo que la acción de la enzima a las dosis empleadas es mayor durante el cocimiento.

Tabla 9. Evolución de la actividad en tortillas almacenadas a 8°C (la enzima se agregó a la masa).

Muestra Tortilla	Azúcares reductores (mg gluc/g)		
	t = 0 días	t = 1 día	t = 2 días
Control	5.2	5.96	5.73
Fungal (0.005 %)	6.49	6.57	6.52
Bacteriana (0.005 %)	7.76	8.30	9.70 *

Por otro lado se observó que una actividad en exceso da como resultado una tortilla muy frágil independientemente del origen de la amilasa ya que al alterar el almidón modificamos la estructura fundamental.

Por lo antes expuesto se decidió continuar únicamente con la enzima de origen fungal, en una dosis de 0.005 % para continuar con las evaluaciones sensoriales y de textura.

III ELABORACION DE TORTILLAS

A. Historia Térmica del Proceso de Elaboración.

Para conocer el comportamiento de la enzima durante el cocimiento de la tortilla fue necesario obtener un perfil de temperatura de las dos caras de la tortilla durante el cocimiento. Esta prueba fue llevada a cabo en tortillas hechas a mano que se elaboran en forma de disco de 10 a 16 cm de diámetro y de 2 a 3 mm de espesor con masa de nixtamal.

Este perfil de tiempo-temperatura resulta fundamental ya que la actividad enzimática que se desarrolle durante el tiempo de cocimiento debe ser suficiente para modificar el almidón de maíz sólo hasta el límite deseado, y después ser inactivada.

En promedio, la tortilla se cuece en un comal calentado a 182°C durante 45 segundos por el primer lado expuesto. El lado en contacto con el aire alcanza 88°C. Después de otros 45 seg, una vez volteada, el lado ahora expuesto alcanza 93°C para entonces regresar a la cara original y continuar el cocimiento. El proceso termina cuando el vapor producido dentro de la tortilla logre inflarla. En esta última etapa, la temperatura de la cara expuesta al aire baja a 88°C. Este estudio se realizó en una tortillería y no se observaron diferencias en las temperaturas antes mencionadas.

B. Envejecimiento Acelerado.

1. Almidón Gelatinizado.

En la Tabla 10, se muestran los resultados obtenidos al cuantificar el almidón retrogradado. En está podemos comparar los resultados obtenidos tanto para las tortillas control como para aquellas que tienen el tratamiento enzimático previo a su elaboración.

Cuando las tortillas son congeladas durante 24 hrs a -12°C , se observa que en el almidón sin modificar se inicia un proceso de retrogradación, que se ve reflejado en una disminución en flexibilidad de las tortillas., las cuales se rompen cuando son enrolladas en una varilla de 0.5 cm de diámetro. En el mismo tiempo, las tortillas preparadas con masa tratada enzimáticamente, no modifican su comportamiento.

Se observa también que al incrementarse el tiempo de almacenamiento, los cambios en las tortillas control son más severos que los que se presentan en las tortillas con almidón tratado. Después de 96 hrs de almacenamiento, las tortillas control han perdido la cuarta parte del almidón gelatinizado, mientras que las obtenidas con almidón tratado conservan el 90% y requieren menores diámetros para romperse, resultado de su mayor flexibilidad.

FIGURA 8. Gráficas comparativas de textura obtenidas en un Texture Analyzer TX-2 de tortillas control y modificadas enzimáticamente: (a) frescas, (b) endurecidas mediante congelación a -12°C , 96 hrs y (c) endurecidas mediante 6 ciclos de congelado/descongelado.

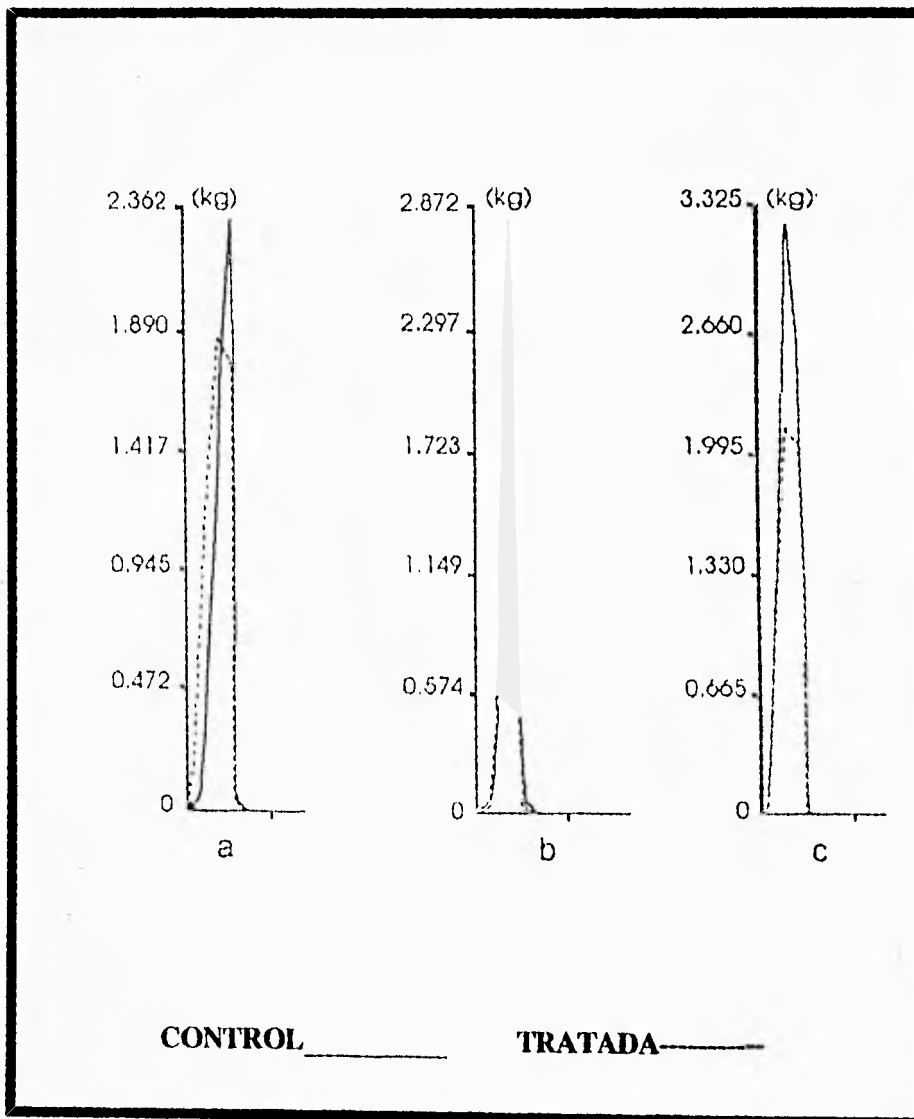


TABLA 10 Efecto de la adición de α -amilasa fungal en la retrogradación del almidón y en la textura de tortillas almacenadas a -12°C o sujetas a ciclos de Congelado/Descongelado.

Tiempo Congelamiento	% Almidón Retrogradado		Diámetro de ruptura	
	Control	Tratada	Control	Tratada
0 hrs	0 *	0*	no se rompe	no se rompe
24 hrs	4.1	0	0.5 cm	no se rompe
48 hrs	4.7	1.3	1.0 cm	0.5 cm
72 hrs	18.8	5.7	1.6 cm	1.0 cm
96 hrs	25.5	9.5	2.0 cm	1.6 cm
Ciclos Congelado/Descongelado				
1	5.6	4.6	1.8 cm	1.6 cm
2	19.3	4.1	2.0 cm	1.8 cm
3	18.4	8.9	2.0 cm	1.8 cm
4	27.1	13.1	2.2 cm	1.8 cm
5	32.5	17.6	2.2 cm	1.8 cm
6	45.3	23.5	3.0 cm	2.0 cm
7	44.8	29.6	3.0 cm	2.0 cm
8	45.3	30.8	3.0 cm	2.0 cm
9	46.9	31.7	3.0 cm	2.2 cm

* El almidón extraído de las tortillas frescas, según el método utilizado, fue considerado como 100% de almidón gelatinizado.

Este comportamiento se refleja claramente en la textura medida como ruptura al doblado de acuerdo al método descrito en el capítulo correspondiente.

Cuando las tortillas son sometidas a ciclos de congelado/descongelado, los cambios son más drásticos y evidentes. Las tortillas con el almidón sin modificar pierden el 20% del almidón gelatinizado en el segundo ciclo, en tanto que las tortillas preparadas con la masa tratada requieren de 5 ciclos para llegar al mismo nivel. Cuando se presenta el 45% de retrogradación, las tortillas control pierden por completo su flexibilidad, evento que se presenta después de 6 ciclos de congelación y descongelación. El efecto no se observó en las tortillas tratadas, al menos en 9 ciclos, después de los cuales la retrogradación alcanzó un 31%, manteniendo una flexibilidad adecuada.

3. Medición de Textura en las Tortillas.

En la Figura 8, las gráficas a, b y c presentan una selección de los registros obtenidos del análisis de textura de todas las muestras, en un Texture Analyzer TX-2, mientras que en la tabla 11, se resumen los datos promedio obtenidos.

En todos los casos el tratamiento enzimático modifica los parámetros reológicos medidos, siendo claro que la dureza disminuye considerablemente, mejorando el parámetro denominado masticabilidad.

Tabla 11, Efecto del tratamiento con α -amilasa fungal en los parámetros de textura de tortillas almacenadas a -12°C o sometidas a 6 ciclos de congelado/descongelado, medidas en un Texture Analyzer TX-2.

Parámetro de Textura	Control		Tratada	
Dureza (Kg)	Fresca	2.36	Fresca	1.98
	96 hrs Cong.	2.87	96 hrs Cong.	1.69
	6 ciclos	2.84	6 Ciclos	2.00
Masticabilidad (adimensional)	Fresca	2.24	Fresca	2.56
	96 hrs Cong.	3.17	96 hrs Cong.	2.01
	6 ciclos	4.04	6 Ciclos	2.40
Esfuerzo Inicial (Initial Stress) dina/cm ² X 10 ⁻⁶	Fresca	7.41	Fresca	7.60
	96 hrs Cong.	8.87	96 Hrs Cong.	5.28
	6 ciclos	12.56	6 Ciclos	8.52

Es evidente que la modificación del almidón disminuye la fuerza necesaria (esfuerzo inicial en dina/cm²) para penetrar en la tortilla y que esta disminución se hace más patente conforme endurece la tortilla.

4. Evaluación Sensorial.

En el análisis sensorial no se incluyeron las muestras endurecidas mediante ciclos de congelados/descongelados, ya que la textura resultó claramente más deficiente. Los resultados de análisis de varianza de las 4 muestras, evaluadas por los 75 jueces se muestran en la Tabla 12. De los valores reportados en tablas se tiene para 3 y 296 grados de libertad, los valores de F son 2.65 y 3.88, por lo que al ser mayor la F calculada (4.0959) que la F de tablas se concluye que existe una diferencia significativa entre las muestras.

TABLA 12 Análisis de varianza de los resultados obtenidos del análisis sensorial de las tortillas evaluadas por 75 jueces.

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	F ratio	F prob
Entre las Muestras	14.9467	3	4.9822	4.0959	0.0072
Con las Muestras	360.0533	296	1.2164		
Total	375.0000	299			

Al analizar las calificaciones dadas a cada una de las muestras de acuerdo con la prueba de Kramer, se encontró que la sumatorias fueron, para las muestras 905 de 212; muestras 112, 184; muestras 354, 182; y muestra 746, 172.

Los valores de tablas, considerando el numero de jueces y los tratamientos o muestras para un nivel de significancia del 5 %, son 166-209 superior y 182-203 inferior.

Esta información indica que la muestra 905 es diferente a las demás, ya que el valor obtenido cae fuera del intervalo superior.

Dado que en las calificaciones el valor mas bajo indicaba mayor aceptación, las muestras 354, 746 y 112 (tortillas frescas control y tratadas y endurecidas tratadas, respectivamente) son igualmente aceptadas, mientras que la muestra 905 (tortillas control endurecidas) fue rechazada por los jueces.

Puede concluirse de esta prueba, primeramente que los jueces no encuentran diferencia entre las tortillas tratadas y la control recientemente elaboradas, lo que implica que la ligera modificación que ocasiona la enzima no altera las propiedades organolépticas. Los dos hechos mas significativos de este estudio son sin embargo los siguientes:

1. Los evaluadores prefieren de igual manera las tortillas recientemente preparadas y la obtenida con tratamiento enzimático, aun cuando haya sido endurecida aceleradamente.
2. Los evaluadores son contundentes en diferenciar y rechazar la tortilla sin tratamiento endurecida.

También se les pidió a los jueces escribir brevemente porque elegían a una muestra como la número uno; entre las cualidades más mencionadas fueron: presenta un sabor agradable; más suave y menos seca. Otras cualidades mencionadas solo por uno o dos jueces fueron: consistencia, textura, "esponjadita", apariencia agradable, etc. Aunque todos estos comentarios son subjetivos, proporcionan una idea de la capacidad de los jueces para distinguir entre diversas cualidades dentro de la tortilla.

CONCLUSIONES

1. Para retrasar el endurecimiento de la tortilla, se seleccionó una amilasa fungal, ya que es un aditivo adecuado para aumentar la vida de anaquel. Es particularmente útil en los casos donde las tortillas se consumen frescas. La enzima se debe incluir en el agua que se agrega a la harina de maíz seca y el porcentaje mínimo necesario para permitir la reacción enzimática es de 0.005 %.

2. Se desarrolló un método para acelerar el endurecimiento de las tortillas y así realizar una evaluación más precisa del proceso.

3. La tortilla tratada con amilasa se evaluó con pruebas sensoriales, análisis de textura y análisis fisicoquímicos; la cual mostró una mayor resistencia al endurecimiento en comparación con un control no tratado (método tradicional). Así mismo las pruebas sensoriales y el análisis de textura fueron claramente superiores para las muestras tratadas enzimáticamente.

4. En el caso de tortillas industrializadas que se almacenan por períodos prolongados de tiempo y preparadas con diversos aditivos, el tratamiento enzimático puede ser aplicado sin ningún tipo de problema; ya existen indicios preliminares de que no existen efectos posteriores debido a que la enzima amilasa fungal aparentemente se desnaturaliza durante el cocimiento. Finalmente, la amplia disponibilidad de la alfa-amilasa fungal combinado con el bajo porcentaje de utilización, en un principio no debe ocasionar un incremento considerable en los costos de producción.

BIBLIOGRAFIA

Alcántara, L. (1981) "Estudio del comportamiento de la textura del grano de maíz durante su procesamiento para la obtención de nixtamal" Tesis Profesional, Inst. Politécnico Nacional ENCB.

Anónimo (1993) "Analyze quantifies texture of processed foods". Food Products Design Magazine. July.

Baduí, D.S. (1989) "Carbohidratos" en Química de los Alimentos. Ed. Alhambra Mexicana, México:41-103.

Baduí, D.S. (1989) "Química de los Alimentos" Ed Alhambra Mexicana, México: 145.

Bazúa, D.C., Guerra, R., Sterner, H. (1979) "Extruded Corn Flours as an Alternative to Lime-heated Corn flour for Tortilla Preparation" J Food Sci. 44:940-941.

Bedolla, S., Rooney, L.W. (1984) "Characteristics of UA and Mexican instant maize flours for tortilla and snack preparation" Cereal Foods World, 29: 732-735.

Belitz-Hanz-Dieter, G.W. (1985) "Química de Alimentos" Ed. Acribía, 126-128.

Bressani, R., Paz y Paz, R., Scrimshaw, N.S. (1958) "Chemical Changes in Corn during Preparation of Tortillas" Agric Food Chem, 6(10):770-774.

Bressani, R., Scrimshaw, N.S. (1958) "Effect of Lime Treatment on in Vitro Availability of Essential Amino Acids and Solubility of Protein Fractions in Corn" Agric. Food. Chem, 6(10):774-778.

Bressani, R., Braham, J.E., Béhar, M. (1972) "La importancia del maíz en la nutrición humana en América Latina y otros países" En: Mejoramiento Nutricional del Almidón; INCAP, Guatemala: L-4, 325-329.

Bressani, R. (1990) "Chemistry, Technology and Nutritive Value of Maize Tortillas" Food Reviews International, 6(2): 225-264.

Cañedo, C. (1974) "El cultivo del maíz, su origen, su importancia y usos" Ciclo de Seminarios: Inst. Nacional de Inves. Agrícolas, México: 91-92.

Charley, H. (1991) "Tecnología de Alimentos" Ed. Limusa. Segunda reimpresión, México: 163-186.

Chávez, A. (1973) "El maíz en la Nutrición de México" Simposio: Desarrollo y Utilización de maíces de alto valor nutritivo. Colegio de Posgraduados Chapingo México SAG: 144-149.

Cravioto, R.O., Massieu, H., Cravioto, O.Y., Figueroa F de M., (1952) "Effect of untreated Corn and Mexican Tortilla upon the Growth of Rats on a Niacin-Tryptophan Deficient Diet" Journal Nutrition 48:453.

Coultate, T.P. (1990) "Alimentos: Química de sus componentes" Ed. Acribia, España: 26-31.

Davidek, J., Velisek, J., Pokorny, J. (1990) "Chemical Changes during Food Processing" Ed. Elsevier, N.Y., USA: 58-64.

Del Angel, R., Sotelo, A. (1982) "Nutritive value of mixtures using chickpea with weath, triticale, normal and opaque-2 corns" J. Nutr 112:1474-1482.

Del Valle, F.R. (1972) "Nutritional Improvements of Maize" Ed. Bressani, R., Braham, J.E., Béhar, M. INCAP Guatemala, Pub L-4:57.

Desrosier, W. (1983) "Elementos de Tecnología de Alimentos" Ed. CECSA, México: 421-422.

Fonseca, P.M. (1991) "El maíz y su entorno histórico, económico e industrial en México" Tesis Profesional, Universidad Iberoamericana.

Gibson, T.S., Kakdor, C.J., McCleary, B.V. (1993) "Collaborative Evaluation of an Enzymatic Starch Damage Assay Kit and Comparison With Other Methods" Cereal Chem, 70(1): 47-51.

Goldstein, W.E. (1992) "Enzymes in Industry: Production and Applications" Ed. Wolfgang Gerhartz VCH. Federal Republic of Germany, 77-81, 98-99.

Gómez, M.H., Aguilera, J.M. (1983) "Changes in the Starch Fraction During Extrusion-Cooking of Corn" *J. Food Science*, 48:378-381.

Gómez, M.H., McDonough, C.M., Rooney, L.W., Waniska, R.D. (1990) "Changes in Corn and Sorghum During Nixtamalization and Tortilla Baking" *J. Food Science*, 54(2):330-336.

Gómez, M.H., Waniska, R.D., Rooney, L.W. (1990) "Effects of Nixtamalization and Grinding Conditions on the Starch in Masa" *Starch/Starke* 42 Nr 12 S 475-482.

Greenwood, C.T. (1979) "Observations on the structure of the starch granule" en "Polysaccharides in Food" Blanshard, J.M.V., Mitchell, J.R. Ed. Butterworths, England:129-138.

Guraya, H.S., Toledo, R.T. (1993) "Determining Gelatinized Starch in a Dry Starchy Product" *J. Food. Science*, 58(4):888-889, 898.

Haney, R.L. (1989) "Shelf Life of Corn Tortilla Extended By Preservatives" *Dairy, Food and Environmental Sanitation*, 9(10):552-553.

Hawthorn, J. (1992) "Fundamentos de la Ciencia de los Alimentos" Ed. Acribia, México: 60-63.

Hebeda, R.E., Bowles, L.K., Teague, W.M. (1990) "Developments in Enzymes for Retarding Staling of Baked Goods" *Cereal Foods World*, 35(5):453-457.

Hernández, M., Chávez, A., Bourges, H. (1983) "Valor nutritivo de los Alimentos Mexicanos" Tablas de uso prácticas. 9ed. Public. División de Nutrición INN, México: 1-12.

Hodge, J.E., Osman, E.M. (1985) "Hidratos de Carbono" en "Introducción a la Ciencia de los Alimentos" Fenneman, O.R. Ed Reverté Cap. 3:127.

Hoseney, R.C. (1992) "Principios de Ciencia y Tecnología de los Cereales" Ed. Acribia, España:100-103, 228-233.

Illescas, R. (1943) "La Teoría de la Química de la formación del Nixtamal" *Rev. Soc. Mexicana de Historia Natural*, 4(3-4):129-136.

Inglett, G. (1980) "Corn: culture, processing and products" AVI Publishing Co. Inc. Westport Connecticut USA:

Jusidman, C. (1992) "El maíz, en los procesos de globalización y modernización" Cuad de Nutrición, 15(6):44-47.

Jusidman, C. (1993) "El maíz, en los procesos de globalización y modernización" Cuad de Nutrición, 16(1):41-45.

Katz, S.H., Hediger, M.L., Valleroy, L.A. (1974) "Traditional Maize Processing Techniques in the New World" Science, 184:765-773.

Kent, N.L. (1990) "Tecnología de los Cereales" Ed. Acrfbia, España: 10-12.

Loaeza, Ch.N. (1991) "Efecto de la Nixtamalización en la fermentación del pozol" Tesis Profesional, Facultad de Química, UNAM: 1 y 9.

López-Munguía, C.A. (1986) "Las Enzimas y los Alimentos" Tec. Aliment. México, 21(2): 22-30.

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. (1957) "Protein Measurement with the folin phenol reagent" J. Biol. Chem 193:265-275.

Machorro, V.L., Valdivia, L.A. (1984) "Cambios cuantitativos en las aflatoxinas durante el preceso de la nixtamalización y elaboración de la Tortilla" Technol. Aliment., 19(4):10-14.

Manners, D.J. (1979) "The Enzymic Degradation of Starches" en "Polysaccharides in Food" Blanshard, J.M.V. and Mitchell ed. England, 76-91.

Martin, M.L., Zeleznak, K.L., Hoseney, R.C. (1991) "A Mechanism of Bread Firming of Role of Starch Swelling" Cereal Chem, 68(5):498-503.

Matz, S.A. (1987) "Formulas and Processes for bakers" Pan-Tech Int. McAllen Texas, 29-35.

Memorias del curso: "Propiedades funcionales del Almidón" Instituto Politécnico Nacional. México: 1992.

Miller, G.L. (1959) "Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar" *Analytical Chemistry*, 426-428.

Morales, L.J. (1991) "La tortilla fuente de energía siempre presente" *Cuadernos de Nutrición*; 14(5):33-34.

O'Mahony, M. (1986) "Sensory evaluation of food". Marcel Dekker, Inc. New York

Osman, E.M. (1975) "Interaction of Starch With Other Components of Food Systems" *Food Technology*, 44:30-35.

Pedrero, D. (1989) "Evaluación Sensorial de los Alimentos" Ed. Alhambra, México. pp 103-107.

Pérez, D.A. (1992) "Adición de proteínas de soya al maíz" *Soya Noticias* 231:14-21.

Pintauro, N.D., 1974. "Food additives to extend shelf-life". *Food Technol. Review* 17, 206-211.

Pomeranz, Y. (1991) "Functional properties of Food Components" Segunda Edición. Academic Press Inc.:33-34.

Pomeranz, Y. (1992) "Modern Cereal Science and Technology" Ed. VCH Publishers N.Y., 334-343.

Quaglia, G. (1991) "Ciencia y Tecnología de la Panificación" Ed. Acribia, Segunda edición: 181-186.

Raju, N.R., Ladshmi (1991) "Determination of Fungal Alpha amylase I.P. and its Formulations comparison of Official Method" *Indian Drugs Bombay*, 29(3):124-127.

Ramírez-Wong, B., Sweat, E.V., Torres, R., Rooney, L.W. (1991) "Effect of Cooking Time, Degree of Grinding and Moisture Content on Corn Tortilla Physical and Textural Characteristics" *Cereal Foods World*, 36(8):712.

Ranum, P., DeStefanis, V.A. (1990) "Use of Fungal Alpha-Amylase in Milling and Baking" *Cereal Foods World*, 35(9): 931-933.

Renhotra, G.S. (1985) "Nutritional Profile of Corn and Flour Tortillas" *Cereal Foods World*, 30(10):703-704.

Richardson, T. (1985) "Enzimas" en "Introducción a la ciencia de los alimentos" Fenneman, O., Ed Reverté

Summer, J.B., Howell, S.F. (1935) " A Method for determination of saccharase activity" *J. Biol. Chem*, 108:51-54.

Torreblanca, R.A., Rivera-Brechú, M.E. (1984) "Evaluación de las condiciones de almacenamiento del maíz en molinos de nixtamal del D.F." *Tecnol. Aliment. México*: 19(4):15-16,18-20.

Trejo-González, A., Feria-Morales, A., Wild-Altamirano, C. (1982) "The Role of Lime in the Alkaline Treatment of Corn for Tortilla Preparation" *American Chemical Society*, 198:245-263.

Watson, A.S., Ramstad, E.P. (1987) "Corn: Chemistry and Technology" *American Association of Cereal Chemistry Inc Minnesota USA*, 73:410-423.

Yuan, R.C., Thompson, D.B., Boyer, C.D. (1993) "Fine Structure of Amylopectin in Relation to Gelatinization and Retrogradation Behavior of Maize Starches from Three wx-Containing Genotypes in Two Inbred lines" *Cereal Chem*, 70(1):81-89.