

11



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

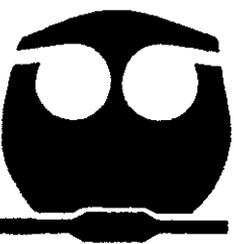


EXAMENES PROFESIONALES  
FACULTAD DE QUIMICA

EFFECTO DE ADITIVOS SOBRE EL ENVEJECIMIENTO DE LA TORTILLA DE MAIZ

## T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
QUIMICA DE ALIMENTOS  
P R E S E N T A :  
ANDREA CISNEROS ESTEVEZ



MEXICO, D.F.

, 2000

28/1/51



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: M. en C. FRANCISCA ITURBE CHIÑAS.

Vocal: M. en C. MARÍA DE LOS ANGELES VALDIVIA LÓPEZ.

Secretario: Dr. HERMILO LEAL LARA.

1er suplente: Dra. AMANDA GALVEZ MARISCAL.

2do suplente: Q.F.B. BERTHA JULIETA SANDOVAL GUILLÉN.

Sitio donde se desarrolló el tema:

Laboratorio 322 y 323 del conjunto E, Departamento de Alimentos  
y Biotecnología, Facultad de Química, UNAM.

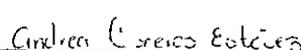
Asesora:

  
\_\_\_\_\_  
M.en C. Ma. de los Angeles Valdivia López.

Supervisora técnica:

  
\_\_\_\_\_  
Q.F.B. Bertha Julieta Sandoval Guillén.

Sustentante:

  
\_\_\_\_\_  
Andrea Cisneros Estévez.

## AGRADECIMIENTOS.

A la M. en C. Ma. de los Angeles Valdívía L. por darme la oportunidad de participar en este proyecto.

A la Q.F.B. Julieta Sandoval G por su constante interés en mi trabajo y en mi formación profesional, así como por la supervisión de este trabajo.

A la M. en C. Francisca Iturbe Chiñas por las aportaciones a este trabajo y por permitirme participar en el programa "Iniciación Temprana a la Investigación y a la Docencia" bajo su tutela.

Al M. en C. Víctor Ugalde S. por toda la ayuda incondicional brindada durante la carrera y por ofrecerme parte de su tiempo para la revisión de este trabajo.

# ÍNDICE.

INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	3
CAPÍTULO I	
GENERALIDADES	4
1 La Tortilla.	4
1 1 Nixtamalización.	5
1.1.1 Cambios en el maíz durante la nixtamalización y elaboración de tortillas.	7
2 Almidón.	8
2 1 Componentes del almidón.	8
2 2 Propiedades del almidón.	9
2.2.1 Gelatinización.	9
2.2 2 Retrogradación.	10
2.2 2 1 Almidón resistente a la hidrólisis.	11
2.2 2 2 Aditivos empleados para retardar el proceso de retrogradación.	12
3 Calorimetría diferencial de barrido.	14
CAPÍTULO II	
MATERIALES Y MÉTODOS.	16
CAPÍTULO III	
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	24

CONCLUSIONES.	51
BIBLIOGRAFÍA	53
APÉNDICE	61

## INTRODUCCIÓN.

Hoy en día, la tortilla ocupa un lugar central en la alimentación del mexicano. En promedio llega a aportar 50 por ciento de la energía consumida por un individuo y casi 40 por ciento de las necesidades diarias de proteína.

La industria de la tortilla es una de las industrias más fuertes en el país, en el año de 1996 se tuvieron ventas de 1750 millones de dólares, de las cuales el 53% provenía de tortilla hecha con harina de maíz nixtamalizado y el resto de tortilla elaborada con el método tradicional.

La tortilla es un producto que pierde rápidamente sus características, debido principalmente a la pérdida de agua del almidón gelatinizado, proceso al cual se le llama retrogradación, provocando un rechazo por parte del consumidor y generando grandes cantidades de desperdicios. Por estas razones y porque durante el proceso de secado en la producción de harina de maíz nixtamalizado se induce el proceso de retrogradación, la industria productora de harina nixtamalizada está constantemente en busca de aditivos que le permitan ofrecer al consumidor, una mayor diversidad de productos de alta calidad que adicionalmente conserven sus cualidades originales por un mayor tiempo.

Adicionalmente se sabe que durante el envejecimiento de los productos con almidón, se forma almidón resistente a la hidrólisis, el cual está definido como el almidón que no puede ser degradado por  $\alpha$ -amilasa pancreática y pasa por el sistema digestivo casi intacto, formando parte de la fibra dietética. La formación de almidón resistente a la hidrólisis provoca una pérdida de digestibilidad de este nutriente y disminuye así el contenido calórico de la tortilla, lo cual trae consecuencias importantes en la alimentación de las personas que basan su consumo energético en este producto.

De tal forma, se debe estudiar el efecto que tiene el uso de un aditivo lipídico sobre la inhibición en la retrogradación en el almidón de tortilla de maíz; así como comparar la efectividad de éste con el aditivo enzimático empleado en la industria productora de harina de maíz nixtamalizado. Así mismo se pretende determinar si existe alguna correlación entre el almidón retrogradado y la pérdida de digestibilidad del mismo.

## **OBJETIVOS.**

Objetivo general:

Conocer el efecto de dos aditivos (enzima y lípido) sobre la retrogradación del almidón de tortilla de maíz, mediante calorimetría diferencial de barrido.

Objetivos particulares:

Evaluar el efecto de los aditivos empleados cuando la tortilla es almacenada en condiciones de refrigeración (1.5°C) y congelación (-14°C)

Establecer la correlación entre el grado de retrogradación y la digestibilidad del almidón de la tortilla en los modelos estudiados.

## GENERALIDADES.

### 1. La tortilla.

La tortilla, diminutivo de torta ("pan de maíz", de acuerdo a las crónicas de Sahagún y Díaz del Castillo) es el alimento étnico de mayor crecimiento en el país. La industria de la tortilla es considerada como una de las más grandes de México (Wall Street Journal, 1993, citado por García, 1994), actualmente se consumen aproximadamente 800 millones de tortillas diarias (Boiseau y Chronicle, 1993, citado por García, 1994) A pesar de que es un alimento característico de México, en los últimos años ha tenido gran popularidad en otros países como Estados Unidos, Australia, China, Corea y otros, donde se consume como tal o transformada en productos fritos como las tostadas, tacos, nachos, y botanas en general (Serna et al., 1990).

El maíz ha sido el cereal tradicional para la preparación de las tortillas en México y Centro América, lugar donde los grupos socioeconómicos bajos dependen de la tortilla como su principal fuente energética (70% del consumo total de calorías) y de proteínas (Cortez et al., 1972 citado por Watson y Ramstad, 1987 y Trejo-González et al ,1982).

La composición aproximada de la tortilla se muestra en la tabla 1. La variación en el contenido de cada componente varía según el tipo de maíz y el contenido de humedad (Anchondo, 1998). En esta tabla podemos observar

que la tortilla está constituida principalmente por carbohidratos asimilables y agua, por lo que es considerada como un alimento rico en calorías. Así mismo, la tortilla es considerada como una buena fuente de calcio y hierro para las personas que no consumen productos de origen animal.

### 1.1. Nixtamalización

La nixtamalización o cocción alcalina, es el proceso de cocinar, reposar y lavar el maíz para producir nixtamal, el cual se muele para formar una mezcla húmeda llamada masa. La masa es la materia prima para la elaboración de las tortillas

En este proceso, se cuece el maíz con una proporción de 2.5-3 partes de agua y 1% de hidróxido de calcio, basado en el peso del grano y se deja reposar de 8-16 horas (Sema-Saldivar et al., 1990). El líquido de remojo, llamado *nejayote*, se desecha y el maíz cocido o nixtamal (del náhuatl *nextli*, que significa cal de cenizas y *tamalli*, masa cocida de maíz (Cabrera, 1992 citado por Martínez, 1997)) se lava para remover el exceso de álcali y retirar lo que queda de pericarpio. Posteriormente se muele el nixtamal para obtener la masa, ésta se moldea y cocina en un comal para formar las tortillas.

Tabla 1. Composición aproximada de la tortilla.

Macrocomponentes	g componente/100 g tortilla	g componente/ tortilla (35 g)
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 asimilables	42.8-48	15-17
Energía (Kcal/100 g)	205-224	72-78.4
Microcomponentes	mg/100 g	mg /tortilla (35 g)
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
Ac Pantotéico	0.163-0.241	0.05-0.08
Vitamina B <sub>6</sub>	0.118-0.302	0.04-0.1

Fuente: Hernández M. et al. (1987), Renhorta G. S. (1985), citado por Anchondo, 1998.

Es importante mencionar que la cantidad de agua agregada para la cocción dependerá únicamente del tiempo de cocción y de la textura deseada en la masa (Serna et al., 1990). La cocción y reposo adecuados se determinan subjetivamente evaluando la suavidad del grano y la apariencia del nixtamal (Pflugfelder, 1986 citado por Serna et al., 1990).

#### 1.1.1. Cambios fisicoquímicos que ocurren en el maíz durante la nixtamalización y elaboración de tortillas.

El endospermo del grano de maíz se modifica durante el tratamiento térmico-alcalino porque los gránulos se hinchan y gelatinizan, adicionalmente una porción de la matriz proteínica se hidrata (Watson y Ramstad, 1987). A pesar del tratamiento, no todo el grano está cocido. El hidróxido de calcio solubiliza y debilita parcialmente al pericarpio, el cual es removido totalmente o en parte durante el proceso de lavado (Gomez et al., 1989). La aleurona permanece intacta en la mayoría de los granos y permite una transferencia lenta de la humedad y el álcali hacia el endospermo harinoso. Entonces, un grano adecuadamente cocido consiste en unos gránulos parcialmente gelatinizados (Pflugfelder et al., 1988 y Gomez et al., 1991) y una matriz proteínica hidratada, los cuales se rompen durante la molienda y forman la masa. El almidón gelatinizado y la proteína forman un sistema continuo que funciona como "pegamento" y retiene a todo el almidón que no gelatinizó. De esta manera, si se tiene un maíz sobrecocido, se tendrá una masa pegajosa debido a la alta producción de "pegamento" (Watson y Ramstad, 1987).

En la cocción de las tortillas los cambios en la microestructura se deben principalmente al intenso calor. Durante este proceso se pierde aproximadamente 18% del agua presente en la masa, produciendo unas tortillas con una humedad del 41% (Fernandez et al., 1999). La cocción provoca la gelatinización de almidón, desnaturalización de proteínas y un ligero oscurecimiento.

## 2. Almidón.

El almidón está constituido por un sólo azúcar, la glucosa, pero unida con dos diferentes enlaces,  $\alpha$ -(1-4) y  $\alpha$ -(1-6). El gránulo de almidón se compone de dos polímeros, la amilosa y la amilopectina (Watson y Ramstad, 1987). La proporción de amilosa y amilopectina difiere entre tipos de almidón, pero un valor típico de almidón "normal" es de 25% amilosa y 75% amilopectina (Eliasson, 1996).

### 2.1 Componentes del almidón.

La amilosa es la parte lineal constituida por unidades de glucosa unidas por enlaces  $\alpha$ -(1-4), llamado así porque se une una glucosa del carbono aldehídico 1 con el carbono 4 de la siguiente molécula de glucosa (Pomeranz, 1987) y con un peso molecular de 50,000-200,000 (Fennema, 1993). Las moléculas de amilosa tienden a formar estructuras helicoidales responsables de la cristalinidad en el gránulo, capaces de incluir a otras moléculas como

los ácidos grasos (Cooke y Gidley, 1992). Estos complejos no estequiométricos se denominan compuestos de inclusión (Fennema, 1993)

La fracción ramificada es la amilopectina que contiene cientos de ramificaciones cortas, con un promedio de longitud de 25 unidades de glucosa. Las zonas lineales tienen enlaces  $\alpha$ -(1-4) y en los puntos de ramificación los enlaces son  $\alpha$ -(1-6) (Pomeranz, 1987). Este polímero tiene un peso molecular de 1 a varios millones (Fennema, 1993).

## 2.2 Propiedades del almidón.

### 2.2.1. Gelatinización.

A pesar de que el almidón está constituido por polímeros que son hidrofílicos, el gránulo de almidón es insoluble en agua. Esto se debe a su *estructura semicristalina*, y a los *puentes de hidrógeno formados entre los grupos hidroxilo* entre las cadenas de almidón (Eliasson, 1996). Sin embargo, el gránulo puede embeber pequeñas cantidades de agua en forma reversible y cuando se incrementa la temperatura, las moléculas de almidón vibran vigorosamente, rompiendo los enlaces intermoleculares, permitiendo así la formación de puentes de hidrógeno con el agua. La penetración de agua, así como la separación progresiva de más y mayores segmentos de cadenas de almidón, aumenta el azar en la estructura general y disminuye el número y tamaño de las regiones cristalinas. El calentamiento continuo

en presencia de abundante agua resulta en la completa pérdida de cristalinidad; a este momento se le conoce como punto de gelatinización o temperatura de gelatinización (Fennema, 1993).

### 2.2.2. Retrogradación.

Los cambios que ocurren en el almidón gelatinizado, inicialmente en estado amorfo hacia un estado más ordenado o cristalino, se llama retrogradación. Estos cambios ocurren debido a que el almidón gelatinizado no está en equilibrio termodinámico. Se hace evidente la pérdida en la capacidad para retener el agua y en la restauración de la cristalinidad en este fenómeno, también llamado envejecimiento. La retrogradación es uno de los factores principales en el envejecimiento de productos con almidón, aunque otros factores pueden estar influyendo (Eliasson, 1996).

La retrogradación es un proceso de cristalización que involucra a la amilosa y a la amilopectina, donde la amilosa se retrograda a una rapidez mayor que la amilopectina (Jacobson y BeMiller, 1998). Este proceso es más lento en la amilopectina debido a las dimensiones de las ramificaciones, dando como resultado cristales menos estables y que funden a una temperatura cercana a los 60°C mientras que los de amilosa lo hacen a temperaturas mayores (Eerlingen et al , 1994).

Es importante mencionar que la velocidad y el grado de retrogradación dependen de la proporción y estructura de la amilosa y amilopectina, temperatura de almacenamiento, contenido de agua, condiciones de cocción (tiempo, temperatura), fuente botánica de la cual proviene el almidón, de la clase y concentración de otros ingredientes (Jacobson y BeMiller, 1998).

El primer estudio que se realizó sobre el efecto de la temperatura en la velocidad de retrogradación fue hecho por Maquenne en 1903; él encontró que la velocidad de retrogradación aumentaba cuando la temperatura disminuía. Slade y Levine en 1987 y Marsh y Blanshard en 1988 haciendo uso de la teoría del crecimiento de cristales, la cual consta de tres fases (nucleación, propagación y maduración), determinaron que una mayor rapidez de nucleación en la amilopectina ocurre a temperaturas ligeramente mayores a  $-5^{\circ}\text{C}$ , mientras que una mayor rapidez en la propagación ocurre a temperaturas ligeramente menores a los  $60^{\circ}\text{C}$  (Jacobson y BeMiller, 1998).

#### 2.2.2.1 Almidón resistente a la hidrólisis.

Durante el proceso de retrogradación se forma almidón resistente (fisiológicamente) a la hidrólisis (Gruchala y Pomeranz, 1993), el cual se define como el almidón y productos de degradación de este que no se absorben en el intestino delgado de sujetos sanos. Este almidón es resistente a la amilasa pancreática en condiciones in vitro (Olesen, 1994) y es ligeramente

hidrolizado por soluciones ácidas (Siefert y Pomeranz, 1990). Es considerado parte de la fibra dietética debido a su baja hidrólisis (Gruchala y Pomeranz, 1993 y Ranganathan et al., 1994).

#### 2 2 2 2. Aditivos empleados para retardar el proceso de retrogradación.

En la actualidad se hace uso de aditivos para conservar la vida de anaquel de las tortillas. Los aditivos comúnmente empleados son los monoglicéridos, diglicéridos, hidrocoloides y enzimas que retardan la retrogradación o la pérdida de agua de la tortilla, obteniéndose así un producto que conserva por mayor tiempo las cualidades iniciales (Almeida y Rooney, 1996).

Las enzimas se utilizan en productos ricos en almidón con el fin de tener una hidrólisis parcial de las cadenas de amilopectina y así poder inhibir la retrogradación y aumentar la vida de anaquel del producto. En la actualidad se hace uso de  $\alpha$ -amilasas en la industria del pan y la tortilla (Iturbe, 1996) Las enzimas se inactivan durante la cocción (Akers y Hosney, 1994) de la tortilla, lo cual es deseable para evita que continúe un efecto sin control durante el almacenamiento (Almeida, 1996).

En cuanto la acción de los lípidos para retardar el envejecimiento, existen varias teorías: (1) los lípidos interactúan directamente con la amilopectina o forman el complejo con la amilosa y este interfiere en la cristalización de la

principalmente  $\alpha$  y  $\beta$ -amilasas, pululanasa y glucoamilasa, las cuales tienen la función de hidrolizar el almidón gelatinizado sin degradar el almidón resistente a la hidrólisis o retrogradado (Pflugfelder et al., 1988, Jacobson y BeMiller, 1998, McCleary et al., 1994).

### 3 Calorimetría diferencial de barrido.

La calorimetría diferencial de barrido es parte de los análisis térmicos, los cuáles son definidos como " El grupo de técnicas en las cuáles se mide la propiedad física de una sustancia en función de la temperatura, una vez que la sustancia ha sido sometida a un programa controlado de temperatura" (Harwalkar y Ma, 1990).

El diseño básico de cualquier instrumento utilizado en análisis térmicos consta de un horno o reactor donde se calienta (o enfría) la muestra a una velocidad y en un ambiente controlados. Los cambios que ocurren en la sustancia son monitoreados por un transductor selectivo que genera un voltaje como señal. Esta señal posteriormente se amplifica y guarda en un disco magnético junto con la respuesta térmica de la muestra (Harwalkar y Ma, 1990).

La calorimetría diferencial de barrido (DSC por sus siglas en inglés), se define como "una técnica en la cual la diferencia de energía que se aplica a

una sustancia y a un material de referencia, es medida en función de la temperatura cuando éstos son sujetos a un programa de temperatura controlada". De esta técnica se pueden obtener datos como entalpías, capacidades caloríficas y temperaturas de transición. La técnica mide la energía necesaria para mantener un balance de temperatura nulo entre la muestra y el material de referencia.

La calorimetría diferencial de barrido tiene grandes aplicaciones en el área de los alimentos, ya que puede detectar transiciones de primer orden, tales como la desnaturalización de las proteínas, gelatinización del almidón y fusión de cristales.

La técnica de calorimetría diferencial de barrido ha probado ser de gran utilidad en el estudio del comportamiento térmico de los almidones, ha hecho posible revelar la naturaleza polimérica de los gránulos de almidón y ha permitido investigar el proceso de retrogradación en el polímero. La retrogradación es una reacción exotérmica, que como ya se mencionó anteriormente, es la responsable del envejecimiento de los alimentos elaborados a base de almidón (Harwalkar y Ma, 1990).

## **MATERIALES Y MÉTODOS.**

El maíz empleado para este estudio fue el híbrido H-447 cultivado en el ciclo 1994, proveniente de la Unidad de Investigación de Granos y Semillas del Instituto de Biología ubicado en Pabellón de Arteaga, Aguascalientes, México

### **ELABORACIÓN DE TORTILLAS.**

- **NIXTAMALIZACIÓN.**

El maíz se coció con 1.5% de cal ( $\text{Ca(OH)}_2$ ) respecto al peso del maíz (Anchondo, 1998) y una proporción de agua 3:1 (agua:maíz) (Sema et al., 1990), a una temperatura de 94°C durante una hora y media. Una vez que el maíz está cocido, recibe el nombre de nixtamal (Sema et al., 1993).

El nixtamal se dejó reposar de 14-16 horas, después de las cuales se lavó con una cantidad de agua del doble del peso del maíz. Durante el lavado, los granos fueron frotados entre sí a manera de desprender el pericarpio remanente. Posteriormente se molió el nixtamal (The Straub company, Modelo 4E) para obtener la masa. A esta masa se le determinó humedad en termobalanza (Ohaus) para obtener el peso en base seca.

- MOLDEADO DE TORTILLAS.

La masa se mezcló con los aditivos correspondientes y agua suficiente para obtener una mezcla homogénea y moldeable; se pesaron porciones de 20 gramos de masa para después prensarlas en una tortilladora manual obteniéndose así círculos planos con un grosor de  $2.20 \pm 0.38$  mm (medidos con un vernier). Las tortillas se cocinaron en parrillas eléctricas sobre un comal a una temperatura de  $182^{\circ}\text{C}$  (Iturbe et al., 1996), se voltearon dos veces hasta su completa cocción (45 segundos), se dejaron enfriar a temperatura ambiente para posteriormente ser empacadas en bolsas de plástico.

Formulaciones:

Todas las formulaciones llevaban 0.14% de propionato de sodio (Nutritional biochemicals corporations) respecto al peso de la masa (Codex Alimentarius, 1982) Este aditivo se usó para evitar el crecimiento de hongos en las tortillas. Para su adición fue disuelto en el agua de hidratación de la masa.

I. Tortilla control:

Sin aditivos para retardar la retrogradación.

## II Tortilla con lípidos:

Cera de abeja (Droguería cosmopolita) 0.14% respecto al peso de la masa (Anchondo, 1998 y Davis et al., 1986).

Parafina (Droguería cosmopolita) 0.42% respecto al peso de la masa (Anchondo, 1998 y Davis et al., 1986).

## III Tortilla con enzima:

Enzima  $\alpha$ -amilasa fúngica (suavizyme) 0.1% respecto al peso de la masa en base seca, actividad de 0.736 mg de glucosa/min mg preparado enzimático. Este aditivo se suspendió en el agua de hidratación de la masa (Iturbe et al., 1996). La cantidad adicionada de enzima es la indicada por el Proveedor Internacional de Químicos, S.A de C.V.

### • ALMACENAMIENTO DE TORTILLAS.

Las tortillas empacadas en bolsas de plástico se almacenaron en un refrigerador y congelador (Whirlpool) a temperaturas de 1.5°C (refrigeración) y -14°C (congelación).

## **CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO.**

Debido a que los alimentos son una matriz compleja conformada por varios macro y microcomponentes, se hizo una extracción del almidón, a manera de evaluar únicamente el comportamiento de éste mediante la técnica de calorimetría diferencial de barrido.

- **EXTRACCIÓN DE ALMIDÓN.**

Se dejó que las tortillas equilibraran su temperatura con la temperatura ambiente para ser posteriormente trituradas durante 40 segundos a velocidad baja en un homogeneizador (Waring commercial). Se hizo una extracción de almidón con una cantidad de agua del doble de peso de la muestra, el extracto se secó en una estufa al vacío (National appliance company, modelo 5831) durante 12 horas a una temperatura de 35-40°C.

El extracto seco se pulverizó en un mortero y después se hizo pasar por un tamiz del número 80 (abertura de 0.177 mm, Tall-Mont Mexico).

- **CONDICIONES PARA EL ANÁLISIS CALORIMÉTRICO.**

Para obtener los termogramas del almidón extraído se empleó el calorímetro (Perkin Elmer modelo DSC7) que se calibró previamente con indio (Perkin

Elmer, 99.999% de pureza, p.f. 156.60°C,  $\Delta H_f = 6.80$  cal/gramo). Las condiciones experimentales fueron las siguientes:

Velocidad de barrido: 10°C/min.

Intervalo de temperatura: de 25°C-140°C.

Atmósfera: el gas de purga del contenedor de la cápsula fue nitrógeno (AGA, alta pureza 99.995%) a un flujo de 21.4mL/min.

Referencia: se usó una cápsula vacía de aluminio para muestras volátiles (Perkin Elmer #0219-0062), engargolada con ayuda de una prensa de la misma marca.

- **HIDRATACIÓN DE LA MUESTRA**

*Para realizar los estudios calorimétricos, se preparó una suspensión de 40 g/60 mL de agua (Sánchez, 1998 y Anchondo, 1998), de la cual se colocan de 5-7 mg (Balanza analítica Mettler Toledo, modelo AG245) en una cápsula de aluminio para muestras volátiles (Perkin Elmer #0219-0062), las cuales fueron engargoladas con ayuda de una prensa de la misma marca.*

## **DIGESTIBILIDAD.**

Para el análisis de la digestibilidad relativa del almidón de tortilla se recurrió al uso de un método espectrofotométrico, el cual mide la disminución de color (debido a la formación del complejo del yodo con el almidón), una vez que el almidón de tortilla de maíz se pone en contacto con la  $\alpha$ -amilasa pancreática y el polímero es degradado por la enzima.

- **EXTRACCIÓN DEL ALMIDÓN.**

Para el estudio de la digestibilidad fue necesario la extracción del almidón, por lo que se dejó que las tortillas equilibraran su temperatura con la temperatura ambiente para ser posteriormente trituradas durante 40 segundos a velocidad baja en un homogeneizador (Waring commercial). Se pesaron 5 gramos (referidos a base seca) de muestra en vasos de precipitado de 100 mL. Las muestras se desengrasaron con 20 mL de éter etílico (grado analítico, marca Reasol) durante 10 minutos en agitación constante para evitar interferencia con la reacción con yodo (Mikus et al., 1946, Jarvis y Walker, 1993, Huang y White, 1993, Eliasson, 1996). Se filtraron y se dejaron a temperatura ambiente hasta que se evaporara completamente el disolvente. Las muestras se transfirieron a un vaso de precipitado de 150 mL al cuál se le agregó 25 mL de agua a una temperatura de 37°C y posteriormente se homogeneizó (Ultra Turrax T25, Janke & Kunkel) a una

velocidad de 8000 rpm durante 15 minutos. Una vez terminado este tiempo de extracción de almidón se hizo un lavado de las aspas con ayuda de 5 mL de agua, los cuáles se recolectaron en el mismo vaso que contiene la muestra. Los extractos se centrifugaron (Centrífuga IEC HT) durante 5 minutos a 7500 rpm y el sobrenadante se filtró a través de papel filtro #4 (Whatman); este extracto fue usado para el análisis.

- DETERMINACIÓN DEL GRADO DE DIGESTIBILIDAD DEL ALMIDÓN DE LA TORTILLA.

Para la determinación del grado de digestibilidad relativa, se transfirió una alícuota del extracto de almidón a un tubo de ensayo (sumergido en un baño de agua a 37°C) que contenía 2.2 mL de buffer de fosfatos, posteriormente se agregaron 5 mL de solución de  $I_2/HCl$  y todo se llevó a un volumen de 12.1 mL con agua. Se determinó la absorbancia a una longitud de onda de 620 nm y la concentración se obtuvo interpolando la absorbancia en una curva patrón realizada con una solución estándar de almidón (merck) al 0.1%. Una vez obtenida la concentración de almidón en el extracto, se transfirió la misma cantidad de extracto de almidón empleada anteriormente, a un tubo de ensayo (sumergido en un baño de agua a 37°C) que contenía 2.2 mL de buffer de fosfatos, se agregó la cantidad de enzima necesaria (a la cual se le determinó la actividad de acuerdo al método descrito en el apéndice) para que en un minuto se degradara el 50% del almidón presente,

se detuvo la reacción y se desarrolló color adicionando 5 mL de la solución de  $I_2/HCl$  y se agregó la cantidad necesaria de agua para llegar a un volumen final de 12.1 mL. En el espectrofotómetro se realizó la determinación de absorbancia y se obtuvo la concentración interpolando esta absorbancia en la curva patrón. Se calculó el almidón hidrolizado al minuto y la digestibilidad al tiempo cero se consideró como si fuera el 100% de la disponibilidad del almidón de la tortilla; es por esta razón que se le llama digestibilidad relativa.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

### 1) Establecimiento de las condiciones de cocción de tortillas de maíz.

En esta fase se utilizaron muestras de tortilla con poca cocción y de tortillas con cocción excesiva con el objetivo de establecer los tiempos de cocción óptimos y determinar los intervalos de temperatura donde toman lugar las transiciones correspondientes a los fenómenos de gelatinización y retrogradación para amilosa y amilopectina.

En la tortilla con poca cocción el tiempo de calentamiento fue de cincuenta segundos, tiempo en el cual se aseguró que el almidón presentaba una gelatinización parcial; esto se estableció al aumentar el tiempo de calentamiento y observar que la señal era de menor intensidad. En el almidón de estas tortillas poco cocidas se observaron dos transiciones, una a un intervalo de 46.46-64.17°C que corresponde a la gelatinización de la amilopectina y la otra a un intervalo de temperatura de 76.61-99.27°C que corresponde a la señal de gelatinización de amilosa (figura 1). Estos intervalos de temperatura fueron comparados con los obtenidos por Anchondo en estándares de amilosa y amilopectina puros.

Figura 1 Termograma de gelatinización de almidón de tortilla de maíz poco cocida.

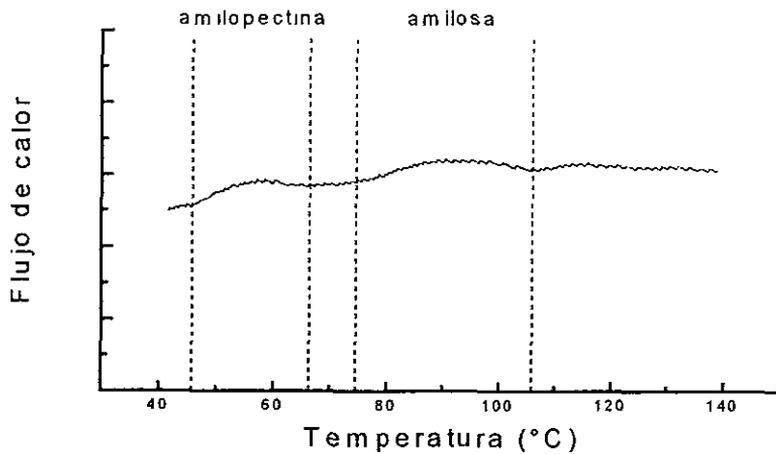
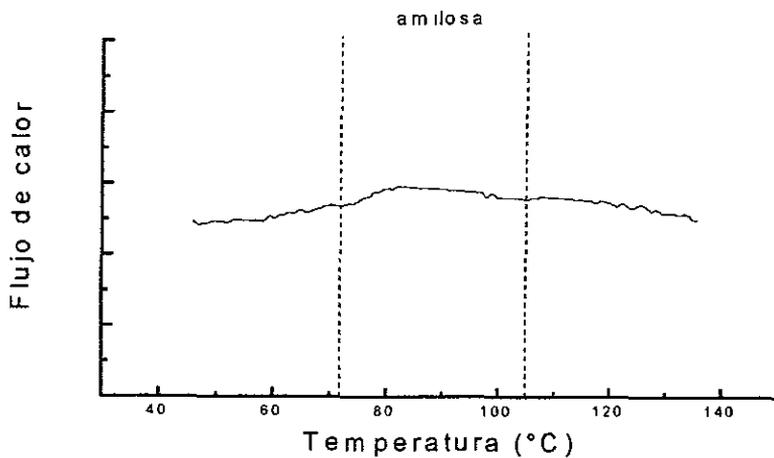


Figura 2. Termograma de retrogradación de almidón de tortilla de maíz sobrecocida.



Para conocer el tiempo óptimo de cocción se realizaron pruebas en donde a través del estudio calorimétrico se identificó el tiempo de cocción que aseguraba que todo el almidón se encontraba totalmente gelatinizado, es decir, cuando no se observaba señales en la región de gelatinización de la amilosa y la amilopectina en el termograma. Este tiempo fue de 65 segundos.

De la misma manera se estableció un tiempo de cuatro minutos de calentamiento de las tortillas para identificar el tiempo de cocción que aseguraba la señal debido a la retrogradación (figura2). En esta prueba se obtuvo solo una señal que corresponde a la retrogradación de la amilosa. Esto debido a la deshidratación de la tortilla durante el proceso de cocción por un tiempo mayor.

Es importante mencionar que cuando se habla de señales calorimétricas debidas a la retrogradación, se entiende como la energía necesaria para la rehidratación o regelatinización de estas zonas ordenadas (Nakazawa et al., 1984), dando como resultado una gráfica donde se distinguen entalpías endotérmicas. Ward et al., Ring et al., Zaleznak y Hosene y Eliasson y Ljunger se refieren a este proceso como una fusión de las zonas cristalinas o retrogradadas, por lo tanto estas entalpías se relacionan directamente con el grado de retrogradación

Los valores de las entalpías de gelatinización obtenidas para las muestras de tortilla poco cocida y las entalpías debido a la retrogradación de tortilla sobrecocida, se muestran en la tabla 2 y 3 respectivamente. De estos datos se pudo establecer que en la tortilla sobrecocida se retrogradó solamente la fracción de amilosa ya que esta presenta una mayor rapidez en el fenómeno de reordenamiento (Jacobson y BeMiller, 1998).

Tabla 2. Valores calorimétricos obtenidos del almidón de tortilla poco cocida.

Componentes	Intervalo de temperatura de gelatinización (°C)	Temperatura de máxima gelatinización (°C)	$\Delta H$ de gelatinización (J/g)
Amilopectina	46.46-64.17	53.52	0.36
Amilosa	76.61-99.27	88.37	0.56

n=3, c.v.≤3.57%

Tabla 3. Valores calorimétricos obtenidos del almidón de tortilla sobrecocida.

Componentes	Intervalo de temperatura de retrogradación (°C)	Temperatura de máxima retrogradación (°C)	$\Delta H$ de retrogradación (J/g)
Amilosa	72.57-101.12	82.81	0.90

n=4, c.v.=6.66%

Se puede observar en la tabla 2 y 3 que las señales debidas a la gelatinización y retrogradación del almidón, se reportan en un intervalo de temperatura. Una probable explicación es que, tanto el grado de superposición entre las cadenas poliméricas, como la longitud de las mismas, están estrechamente vinculadas con el número de puentes de hidrógeno que pueden formarse entre ellas, en consecuencia la medición de la transición observada requiere de un intervalo de energía.

Las diferencias entre los intervalos de temperatura que observamos para el proceso de gelatinización de la amilosa con respecto al proceso de retrogradación, se pueden explicar como arreglos estructurales diferentes; en la gelatinización la estructura nativa del polímero no será idéntica al arreglo estructural que se obtiene en la retrogradación.

2) Evaluación del efecto de aditivos y temperatura de almacenamiento en la retrogradación del almidón de tortilla.

Con el fin de medir el efecto de los aditivos, la temperatura y tiempo de almacenamiento sobre el proceso de retrogradación en el almidón de tortillas, se realizó un estudio calorimétrico de tortillas con y sin aditivos en condiciones de almacenamiento de refrigeración y congelación durante un periodo de 15 días (figuras 3-8), ya que Anchondo estableció que a ese

tiempo se encontraba el máximo grado de retrogradación en tortillas (Anchondo, 1998).

En las figuras 3-8 podemos observar que los termogramas presentan dos señales; la señal de amilosa aparece a temperaturas menores, ya que durante la retrogradación, la amilopectina se reordena formando estructuras menos estables que la amilosa que requieren menor energía para regelatinización, esto debido al impedimento estérico que propician las ramificaciones de su estructura. Mientras que la señal de amilosa retrogradada aparece a temperatura mayores, ya que su estructura forma cristales más estables (Miles, 1985) que requieren una mayor energía para ser separados durante una regelatinización.

Adicionalmente podemos observar (figuras 3-8) que la señal de amilosa retrogradada es mucho menor que la de amilopectina, debido a que la cantidad de amilopectina en el almidón de maíz empleado en este estudio, es mayor que la cantidad de amilosa (Fennema, 1993). Es por esta razón que se responsabiliza a la amilopectina de los cambios principales que ocurren en el almidón durante la retrogradación (Eliasson y Ljunger, 1988, Huang y White, 1993, Ward, et al., 1994).

Los termogramas obtenidos durante el estudio calorimétrico se muestran en las figuras 3 a 8.

Figura 3. Termogramas de estudio calorimétrico de almidón retrogradado de tortilla control almacenada en condiciones de refrigeración.

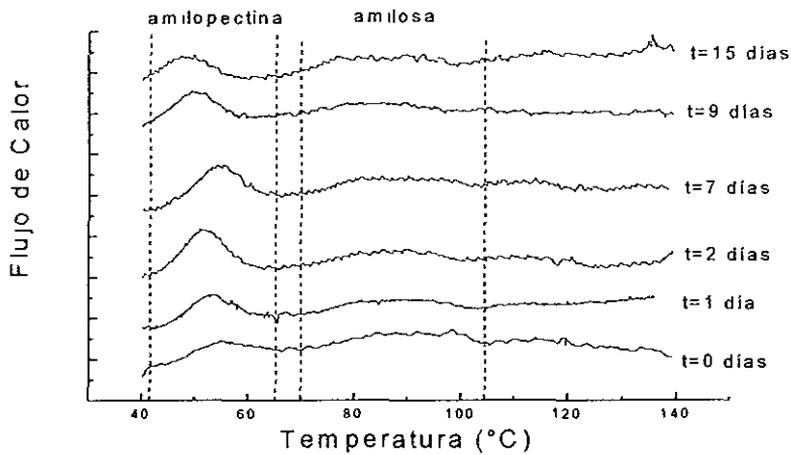


Figura 4. Termogramas de estudio calorimétrico de almidón retrogradado de tortilla control almacenada en condiciones de congelación.

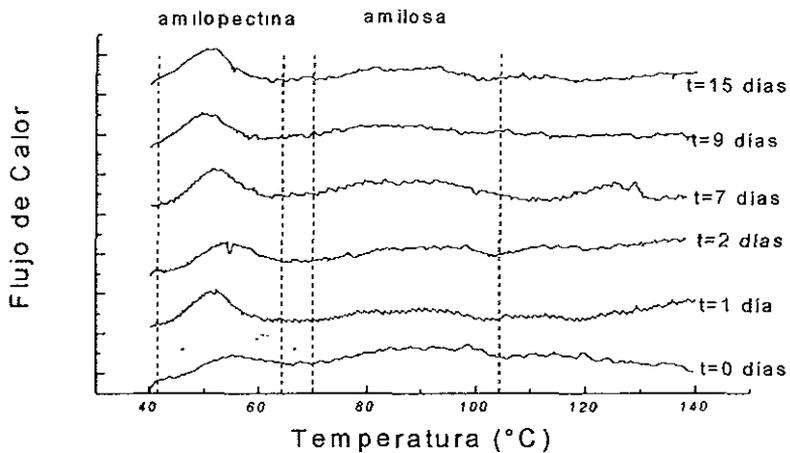


Figura 5. Termogramas de estudio calorimétrico de almidón retrogradado de tortilla con lípido almacenada en condiciones de refrigeración.

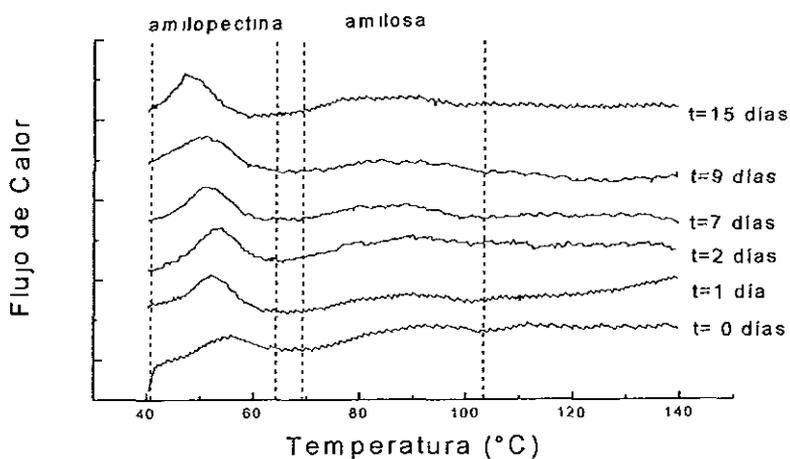


Figura 6. Termogramas de estudio calorimétrico de almidón retrogradado de tortilla con lípido almacenada en condiciones de congelación.

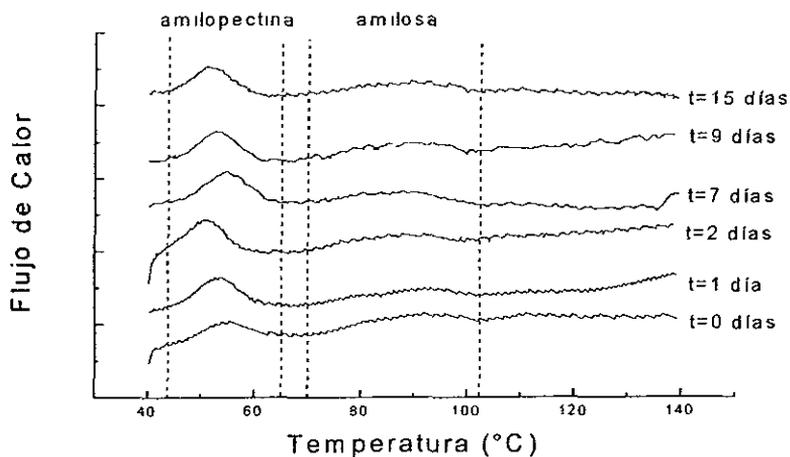


Figura 7. Termogramas de estudio calorimétrico de almidón retrogradado de tortilla con enzima almacenada en condiciones de refrigeración.

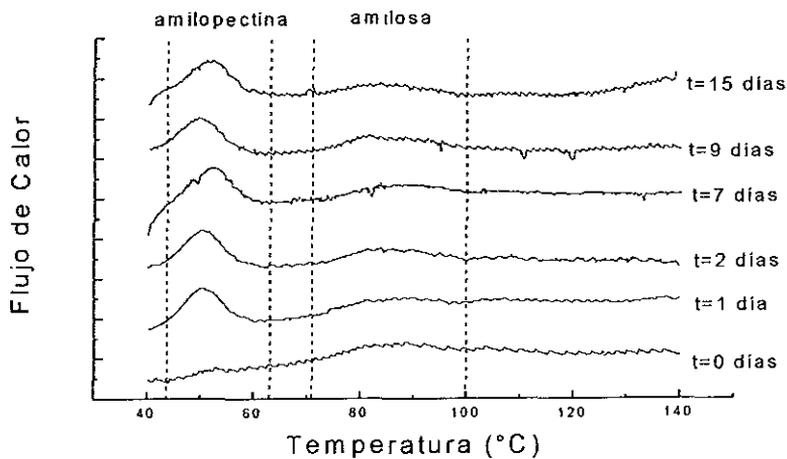
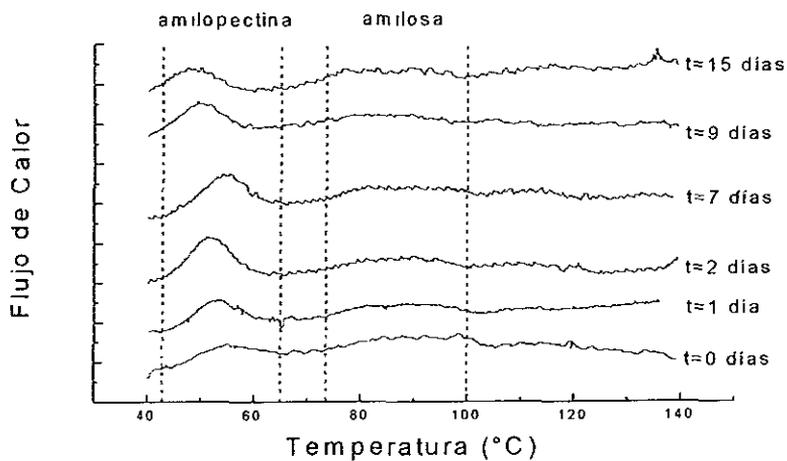


Figura 8. Termogramas de estudio calorimétrico de almidón retrogradado de tortilla con enzima almacenada en condiciones de congelación



A pesar de que se realizó un estudio para encontrar el tiempo óptimo de cocción de las tortillas, en los termogramas (figura 3-8) podemos observar que se presentó retrogradación a partir del día cero, por lo que se establece que la retrogradación se presenta desde el momento mismo de la cocción, así como se estableció que durante la cocción se debe cuidar más el contenido de agua para hidratar la masa, con el fin de que no existan diferencias en los grados de cocción una vez establecidos los tiempos de esta. También podemos observar en todos los termogramas que el máximo grado de retrogradación se alcanza en los dos primeros días de almacenamiento.

Las entalpías empleadas para realizar las operaciones que se mencionan a continuación, son el resultado de la suma de energía empleada en rehidratar a la amilosa y a la amilopectina, ya que los cambios en la tortilla están dados por la retrogradación de ambos polímeros. Adicionalmente, es importante mencionar que a pesar de que las entalpías nos dan un valor directo de la cantidad de almidón retrogradado, al presentarse retrogradación a partir del día cero, este valor tiene que ser restado a manera de blanco, para poder comparar todos los tratamientos.

A manera de tener datos que sean más fáciles de comparar se decidió transformar las entalpías obtenidas durante el monitoreo a porcentaje de almidón retrogradado y así graficar los valores. Primero se realizó una

diferencia de los valores obtenidos a los tiempos 1, 2, 7, 9 y 15 con los valores obtenidos en el día 0 (tablas 4, 5 y 6). La diferencia más grande se consideró como el 100% de almidón retrogradado en las condiciones experimentales y correspondió a la tortilla control en 15 días de almacenamiento en refrigeración. Con base en este valor se calculó el porcentaje correspondiente a cada uno de los demás tiempos y condiciones (tabla 7), con estos datos se realizó un análisis de varianza (ver apéndice) para determinar si las diferencias encontradas eran estadísticamente significativas. Es importante remarcar que el valor de 100% no significa que todo el almidón presente en las tortillas se encuentra retrogradado, sino que en este estudio ese fue el valor máximo logrado.

Tabla 4. Tortilla control. Valores de entalpías de almidón retrogradado, obtenidas durante el monitoreo calorimétrico de tortillas almacenadas en refrigeración y congelación.

Tiempo de almacenamiento (días)	Transición	Intervalo de temperatura de transición (°C)	$\Delta H$ (J/g)
REFRIGERACIÓN (1.5°C)			
0	amilopectina	50.14-62.83	0.00
	amilosa	75.55-102.11	0.00
1	amilopectina	48.46-63.61	0.41
	amilosa	75.50-101.68	0.01
2	amilopectina	45.25-62.96	0.74
	amilosa	73.20-99.80	0.01
7	amilopectina	47.68-66.37	0.74
	amilosa	72.72-102.09	0.01
9	amilopectina	45.40-62.14	0.74
	amilosa	70.22-101.59	0.07
15	amilopectina	42.81-61.11	0.74
	amilosa	69.05-99.39	0.10
CONGELACIÓN (-14°C)			
0	amilopectina	50.14-62.83	0.00
	amilosa	75.55-102.11	0.00
1	amilopectina	46.83-62.33	0.40
	amilosa	74.00-102.00	0.00
2	amilopectina	47.27-64.69	0.40
	amilosa	74.72-101.49	0.05
7	amilopectina	45.97-64.67	0.43
	amilosa	73.47-102.62	0.05
9	amilopectina	44.83-60.94	0.40
	amilosa	69.69-98.79	0.05
15	amilopectina	44.49-61.46	0.40
	amilosa	70.93-100.38	0.05

Promedio de los valores,  $n \geq 3$ , c.v.  $\leq 7.89\%$ .

Tabla 5. Tortilla con lípido. Valores de entalpías de almidón retrogradado, obtenidas durante el monitoreo calorimétrico de tortillas almacenadas en refrigeración y congelación.

Tiempo de almacenamiento (días)	Transición	Intervalo de temperatura de transición (°C)	$\Delta H$ (J/g)
<b>REFRIGERACIÓN (1.5°C)</b>			
0	amilopectina	51.09-63.92	0.00
	amilosa	76.74-101.29	0.00
1	amilopectina	46.52-62.84	0.35
	amilosa	73.66-100.29	0.07
2	amilopectina	47.71-63.20	0.36
	amilosa	73.92-100.91	0.09
7	amilopectina	45.46-61.92	0.35
	amilosa	72.36-100.17	0.16
9	amilopectina	41.47-59.37	0.47
	amilosa	69.00-100.90	0.26
15	amilopectina	42.09-60.14	0.47
	amilosa	69.71-99.78	0.23
<b>CONGELACIÓN (-14°C)</b>			
0	amilopectina	51.09-63.92	0.00
	amilosa	76.74-101.29	0.00
1	amilopectina	49.19-62.33	0.24
	amilosa	75.68-100.65	0.00
2	amilopectina	45.71-61.98	0.33
	amilosa	73.78-99.66	0.09
7	amilopectina	47.13-64.30	0.29
	amilosa	73.73-101.72	0.12
9	amilopectina	46.17-62.33	0.27
	amilosa	72.24-99.90	0.14
15	amilopectina	45.28-62.28	0.29
	amilosa	71.84-101.96	0.14

Promedio de los valores,  $n \geq 3$ ,  $c.v \leq 8.71\%$ .

Tabla 6 Tortilla con enzima. Valores de entalpías de almidón retrogradado, obtenidas durante el monitoreo calorimétrico de tortillas almacenadas en refrigeración y congelación.

Tiempo de almacenamiento (días)	Transición	Intervalo de temperatura de transición (°C)	$\Delta H$ (J/g)
REFRIGERACIÓN (1.5°C)			
0	amilopeptina	---	0.00
	amilosa	74.44-98.63	0.00
1	amilopeptina	45.01-60.17	0.60
	amilosa	73.44-98.07	0.12
2	amilopeptina	44.84-60.81	0.67
	amilosa	73.90-99.21	0.04
7	amilopeptina	47.22-61.57	0.59
	amilosa	70.67-99.23	0.12
9	amilopeptina	44.73-61.51	0.69
	amilosa	72.72-98.69	0.12
15	amilopeptina	46.99-63.53	0.64
	amilosa	72.86-98.65	0.15
CONGELACIÓN (-14°C)			
0	amilopeptina	---	0.00
	amilosa	74.44-98.63	0.00
1	amilopeptina	45.55-60.98	0.59
	amilosa	75.17-98.09	0.14
2	amilopeptina	45.56-61.82	0.72
	amilosa	75.15-99.55	0.03
7	amilopeptina	47.29-61.87	0.70
	amilosa	72.73-98.12	0.05
9	amilopeptina	44.64-61.54	0.71
	amilosa	73.37-98.70	0.06
15	amilopeptina	47.65-64.48	0.69
	amilosa	73.23-97.16	0.05

Promedio de los valores,  $n \geq 3$ , c.v.  $\leq 7.22\%$ .

Tabla 7. Porcentaje de almidón retrogradado (suma de entalpias de amilosa y amilopectina).

Tiempo (días)	Refrigeración (1.5°C)			Congelación (-14°C)		
	Tortilla control %	Tortilla c/lípido %	Tortilla c/enzima %	Tortilla control %	Tortilla c/lípido %	Tortilla c/enzima %
0	0	0	0	0	0	0
1	50.0	50.0	85.7	47.6	27.4	86.9
2	89.2	54.7	84.5	53.5	51.2	89.2
7	89.2	60.7	84.5	57.1	48.8	89.2
9	96.4	87.0	96.4	53.5	47.6	91.6
15	<b>100</b>	83.3	94.0	53.5	51.2	88.0

Tortilla control= sin aditivo.

Tortilla con lípido= 0.14% de cera de abeja y 0.42% de parafina.

Tortilla con enzima= 0.1% de  $\alpha$ -amilasa fúngica (suavizyme).

Nota: El 100% de almidón retrogradado se obtuvo sumando las entalpias de amilosa y amilopectina retrogradada en tortilla control refrigeración al día 15 de almacenamiento, realizando la diferencia de éste valor con el obtenido en tortilla control en refrigeración al tiempo cero y considerando que esta diferencia era el valor máximo de almidón retrogradado en este estudio, es decir, el 100% de almidón retrogradado.

Para facilitar la discusión de los resultados calorimétricos del almidón de tortilla, primero se analizarán los datos de tortilla control y posteriormente los de tortilla con lípido y tortilla con enzima.

a) Tortilla control.

La tortilla control en condiciones de refrigeración y congelación, presenta el máximo grado de retrogradación del almidón en los dos primeros días de almacenamiento, y este valor permanece casi invariable durante el tiempo de estudio. Esto coincide con lo reportado en el boletín informativo de Colloides Naturels de México, donde encuentran que la vida de anaquel máxima de una tortilla es de 12 a 15 horas (Boletín informativo de Colloides Naturels de México, 1999).

La tortilla control en condiciones de congelación, presenta 46.5% menos de almidón retrogradado que en condiciones de refrigeración a partir del primer día de almacenamiento (figura 9 y 10). Esto puede explicarse si se considera que Eliasson y Ljunger reportan que a temperaturas mayores de  $-5^{\circ}\text{C}$  se proporcionan buenas condiciones para la cristalización de la amilopectina, obteniéndose cristales más estables y que dan mayores entalpías, es decir, un porcentaje de almidón retrogradado mayor, como sucedió en las tortillas almacenadas en condiciones de refrigeración. Por lo tanto, se establece que la temperatura de  $-14^{\circ}\text{C}$  por sí misma, logra disminuir el grado de retrogradación del almidón de tortilla de maíz (tabla 7).

Figura 9

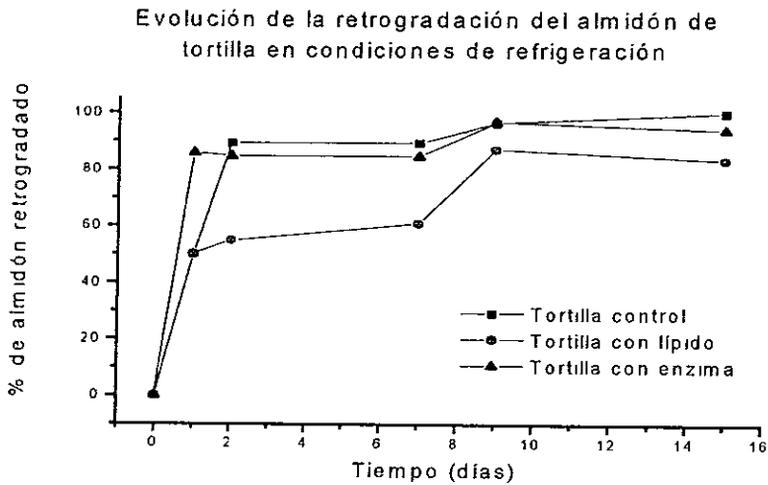
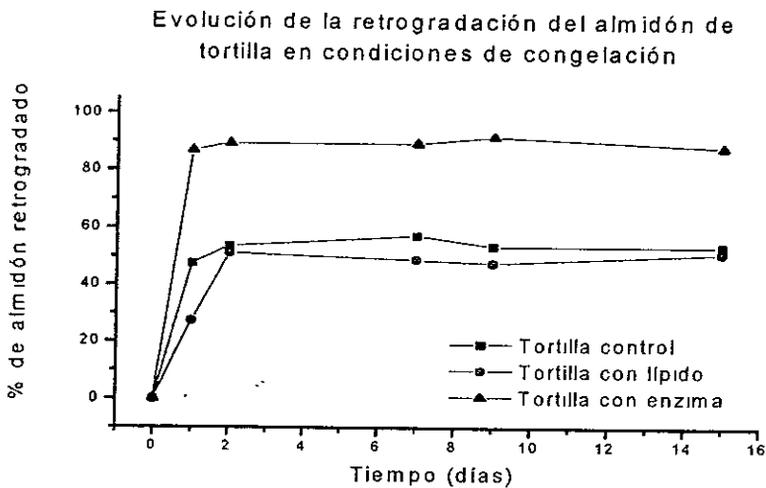


Figura 10.



Así mismo, Slade y Levine en 1987 encontraron que la retrogradación o cristalización de la amilopectina es un proceso limitado por la formación de núcleos cristalinos, proceso que sucede a temperaturas superiores a  $-5^{\circ}\text{C}$  y menores a  $60^{\circ}\text{C}$ . Dentro de este intervalo de temperatura se forman estructuras cristalinas mucho más estables que las formadas durante la congelación y por lo tanto se requiere una mayor energía para rehidratarlas. (Zeleznaek y Hosenev, 1987 y Jacobson y BeMiller, 1998 ).

#### b) Tortillas con lípido.

En la figura 9 se observa que hasta el día siete, existe un 32% menos de almidón retrogradado en tortilla adicionada con la mezcla de lípidos, almacenadas en condiciones de refrigeración, respecto a tortilla control. A partir del día 9, el porcentaje de almidón retrogradado incrementa, quedando un 10% de almidón no retrogradado respecto a la tortilla control. Estos resultados son congruentes con lo reportado por Eliasson y Ljunger, 1988 y Anchondo, 1998 y ya que en ambos trabajos encuentran menor grado de retrogradación en almidones tratados con material lipídico. Se establece que el aditivo lipídico inhibe en un 32% el proceso de retrogradación del almidón de tortilla durante los siete primeros días de almacenamiento en condiciones de refrigeración y un 10% a partir del noveno día de almacenamiento.

El almidón de tortilla con lípido en condiciones de congelación (ver figura 10), presenta valores de almidón retrogradado similares a los de tortilla control en

las mismas condiciones, por lo que se establece que a una temperatura de almacenamiento de  $-14^{\circ}\text{C}$ , el aditivo lipídico no ejerce ninguna influencia en el grado de retrogradación del almidón en tortillas.

El almidón de tortilla con lípido en condiciones de refrigeración alcanza el máximo porcentaje de retrogradación al noveno día (87%), mientras que en condiciones de congelación lo hace a partir del segundo día (60.71%), pero se obtiene un porcentaje mayor de almidón retrogradado en condiciones de refrigeración (ver figuras 9 y 10). Con esto se establece que el lípido logra disminuir la rapidez del proceso de retrogradación en condiciones de refrigeración. Así mismo se establece que se obtiene un porcentaje mayor de almidón retrogradado en condiciones de refrigeración. Como ya mencionó anteriormente, las estructuras cristalinas formadas a temperaturas superiores a los  $-5^{\circ}\text{C}$ , son más estables que las estructuras formadas a temperaturas de congelación.

#### c) Tortilla con enzima.

El almidón de tortilla tratada con enzima, en ambas condiciones de almacenamiento (ver figura 9 y 10), presenta altos porcentajes de almidón retrogradado. En esta muestra, nuevamente observamos que a temperaturas de refrigeración, se alcanza el mayor porcentaje de almidón retrogradado a partir del día nueve (96.43%) como sucede en la tortilla con lípido almacenada en refrigeración, mientras que en condiciones de congelación se

obtiene un valor máximo a partir del primer día de almacenamiento (86.90%). Esto se debe a que en condiciones de congelación, la rapidez de retrogradación incrementa al disminuir la temperatura de almacenamiento (Zeleznaek y Hosenev, 1987, Longton y LeGrys citado por White et al., 1989, Maquenne citado por Jacobson y BeMiller, 1998)

Se observa que los porcentajes de almidón retrogradado en tortilla con enzima en condiciones de almacenamiento de refrigeración, no presentan diferencia estadísticamente significativa con los porcentajes obtenidos en tortilla control en refrigeración (figura 9 y 10). Debido a esto, se establece que el aditivo enzimático en condiciones de almacenamiento de refrigeración, no inhibe el grado de retrogradación.

Por otro lado, en congelación, el almidón de tortilla tratado con enzima presenta 64% más de almidón retrogradado que la tortilla control en las mismas condiciones de almacenamiento, con lo cual se establece que la enzima no solo no inhibió la retrogradación sí no que parece que facilita este proceso

El efecto tan pobre de la enzima sobre la inhibición de la retrogradación del almidón de la tortilla podría explicarse ya que durante la hidratación del gránulo de almidón, la mayor parte de la amilosa se difunde fuera del gránulo (Miles et al., 1985), dejando en el interior a la amilopectina. La porosidad de la

membrana no permite el fácil acceso de la enzima, disminuyendo la posibilidad de que se hidrolicen los fragmentos lineales de la amilopectina. Aunque se requiere reunir evidencia experimental que permita establecer con claridad estos eventos. Así mismo sería importante correlacionar estas observaciones con estudios relacionados a cambios de textura

Resulta interesante analizar que el efecto de la enzima no fue el esperado, ya que Akers y Hosenev en 1994 reportaron que el uso de  $\alpha$ -amilasas en productos de panificación, retarda el efecto de retrogradación, debido a que las dextrinas producidas durante la actividad amilolítica no permiten que grandes porciones de amilosa y amilopectina interactuen y se reordenen.

Se establece que el almidón de la tortilla control, tortilla con lípido y tortilla con enzima en condiciones de refrigeración y congelación presentan una mayor rapidez de retrogradación durante los dos primeros días. Esto se debe a que la amilopectina del maíz tiene cadenas largas con 45-55 residuos que participan en el rápido proceso de retrogradación al tener un comportamiento similar a la amilosa (Ertingen et al., 1994). Es por esta razón que los productos que contienen almidón de maíz como principal componente, presentan un rápido envejecimiento debido a la retrogradación.

### 3) Evaluación de digestibilidad.

Debido a que durante la retrogradación del almidón, se forma almidón resistente a la hidrólisis, se estableció el objetivo de evaluar la digestibilidad del almidón de tortilla en las condiciones estudiadas y así establecer la relación existente entre la digestibilidad del almidón de tortilla y el porcentaje de almidón retrogradado encontrados durante el estudio calorimétrico.

Con el propósito de facilitar el análisis de los datos de almidón degradado por  $\alpha$ -amilasa pancreática, los resultados obtenidos se transformaron en porcentaje de pérdida de digestibilidad. Primero se realizó la diferencia de los datos obtenidos en los días 1, 2, 7, 9 y 15 días con el valor de digestibilidad obtenido el día cero. De esta diferencia, el valor mayor se consideró como el 100% de la pérdida de digestibilidad y corresponde al almidón de tortilla control almacenada en condiciones de congelación, los demás valores se refirieron a este. El resultado de esta transformación se presenta en la tabla 8. Esta digestibilidad es relativa y un 100% de pérdida digestibilidad no significa que la totalidad del almidón de la tortilla sea indigerible.

Tabla 8. Porcentaje de pérdida de digestibilidad.

Tiempo (días)	Refrigeración			Congelación		
	Tortilla control (%)	Tortilla c/lípido (%)	Tortilla c/enzima (%)	Tortilla control (%)	Tortilla c/lípido (%)	Tortilla c/enzima (%)
0	0	0	0	0	0	0
1	90.14	80.85	45.45	84.09	85.40	31.06
2	95.64	97.64	54.74	100	91.19	31.08
7	77.53	87.36	50.78	79.41	85.83	40.94
9	78.97	75.82	48.89	76.71	76.05	43.49
15	80.50	84.66	45.37	74.56	80.63	38.02

Figura 11.

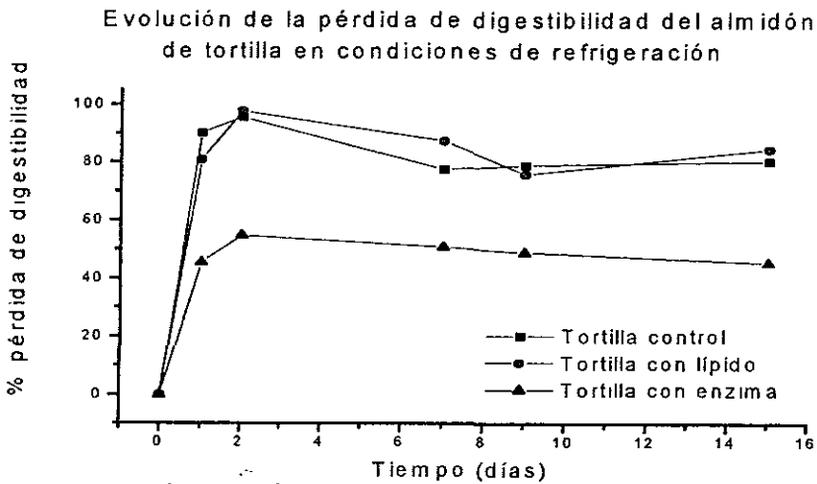
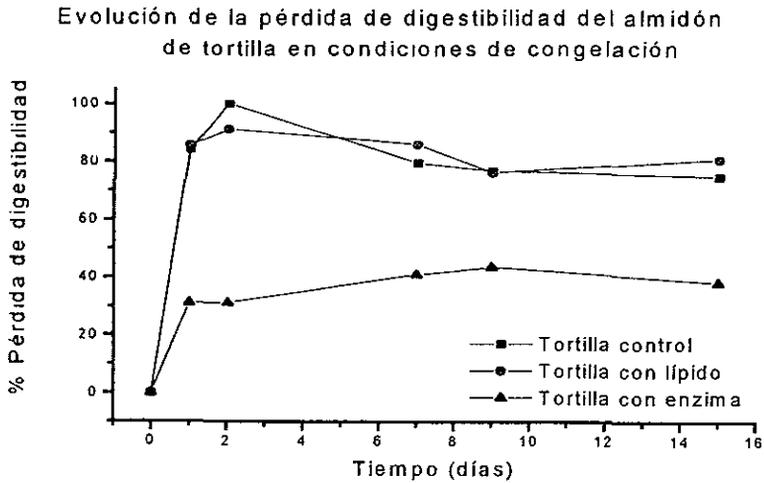


Figura 12.



a) Tortilla control.

En tortilla control en ambas condiciones de almacenamiento, se observa una pérdida de digestibilidad del 90% a partir del primer día y los valores permanecen casi invariables durante todo el estudio (figura 11 y 12). Adicionalmente se estableció que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los valores de pérdida de digestibilidad de almidón de tortilla control almacenada en refrigeración y tortilla control almacenada en congelación. Esto se debió a la dispersión de los valores obtenidos durante el estudio y a que el método empleado para determinar digestibilidad no resultó ser lo suficientemente sensible. Por esta razón con el estudio de

digestibilidad, no se observa un mayor porcentaje de almidón retrogradado en condiciones de refrigeración, debido a la formación de estructuras cristalinas más estables, como sucede en el estudio de calorimetría.

#### b) Tortilla con lípido.

En tortilla con lípido (figura 11 y 12) se obtuvo una pérdida máxima de la digestibilidad del almidón del 97.64% en condiciones de refrigeración y 91.19% en condiciones de congelación. Estos valores no difieren estadísticamente de los obtenidos para tortilla control en refrigeración y congelación. Tanto en tortilla control como en tortilla con lípido, se alcanza un valor máximo de pérdida de digestibilidad a partir del día 1 y los valores permanecen prácticamente invariables durante todo el estudio.

Comparando los resultados obtenidos en digestibilidad con los valores del estudio calorimétrico, en el cuál se observan diferencias en el grado de retrogradación con el uso de aditivos a las condiciones de almacenamiento estudiadas, nuevamente se establece que el método empleado para la determinación de digestibilidad, no es lo suficientemente sensible para detectar los diferentes grados de reordenamiento del almidón de tortilla.

#### c) Tortilla con enzima.

El almidón de tortilla tratada con enzima, presenta una pérdida máxima de digestibilidad del 54.74% en condiciones de refrigeración y 43.49% en

condiciones de congelación; porcentajes que son considerablemente menores a los presentados por almidón de tortilla control y tortilla con lípido en ambas condiciones de almacenamiento (figuras 11 y 12). Esto puede deberse a que la amilosa es parcialmente degradada por la enzima (aditivo) y se producen cadenas más cortas que son de mayor accesibilidad para la  $\alpha$ -amilasa pancreática empleada en esta determinación, dando como resultado una mayor digestibilidad del almidón de tortilla.

A pesar de que mediante el estudio calorimétrico se estableció que el aditivo enzimático no inhibió el proceso de retrogradación de almidón de tortilla de maíz, con el estudio de digestibilidad, podemos establecer que el uso de  $\alpha$ -amilasas en la tortilla, tiene consecuencias nutricionalmente importantes, ya que permite que el almidón de la tortilla se encuentre biodisponible y por lo tanto no exista un decremento en el aporte energético de este alimento, aún cuando este se encuentre con almidón retrogradado.

Analizando los resultados obtenidos en la prueba de digestibilidad del almidón de tortilla y la evaluación calorimétrica, se establece que no existe correlación del porcentaje de almidón retrogradado con el porcentaje de pérdida de digestibilidad.

Eerlingen et al., Eliasson, McCleary et al., Jacobson y BeMiller reportaron que para determinar el almidón resistente a la hidrólisis y relacionarlo con el porcentaje de almidón retrogradado, es necesario el uso de  $\alpha$  y  $\beta$ -amilasas y/o amiloglucosidasas para degradar la totalidad del almidón gelatinizado presente en la muestra y por diferencia obtener el valor de almidón resistente a la hidrólisis; por lo que recomendamos hacer uso de esta metodología para poder estudiar si existe correlación del almidón retrogradado en la tortilla de maíz y la pérdida de digestibilidad de este.

## CONCLUSIONES.

El aditivo lipídico en condiciones de refrigeración inhibe el grado de retrogradación del almidón de tortilla. Esta inhibición es del 37% durante los primeros siete días de almacenamiento y 10% a partir del noveno día.

Se establece que el aditivo lipídico no inhibe el grado de retrogradación del almidón de la tortilla en condiciones de congelación (-14°C).

El aditivo enzimático no inhibe el grado de retrogradación del almidón de tortilla en condiciones de almacenamiento en refrigeración y si incrementa este proceso en condiciones de almacenamiento en congelación.

Se establece que la temperatura de congelación (-14°C) logra inhibir el proceso de reterogradación del almidón de tortilla en un 39%.

Todos los sistemas estudiados presentaron la mayor rapidez de retrogradación durante los primeros dos días de almacenamiento.

La tortilla control y la adicionada con lípido, presentan mayor grado de retrogradación en condiciones de refrigeración que en congelación.

Para tener tortillas con una vida de anaquel más larga, se recomienda hacer uso del aditivo lipídico y almacenarlas en condiciones de refrigeración. Así mismo las tortillas sin aditivo deben almacenarse en condiciones de congelación.

El almidón de tortilla control y tortilla con lípido presentan una pérdida de digestibilidad máxima del 90-97% a partir del primer día.

El almidón de tortilla adicionada con aditivo enzimático, presenta solo una pérdida de digestibilidad máxima del 54.74% a partir del primer día.

El aditivo enzimático evita en un 45.26% la pérdida del contenido energético de la tortilla de maíz

El método empleado para determinar digestibilidad, no fue lo suficientemente sensible para establecer diferencias en las condiciones de almacenamiento empleadas en este estudio

No se estableció correlación en los valores obtenidos de almidón retrogradado por medio de calorimetría diferencial de barrido con los valores obtenidos de pérdida de digestibilidad del almidón de tortilla.

## BIBLIOGRAFÍA.

Almanza A. M. G. Estudio monográfico de la tortilla de maíz nixtamalizado. Estudio monográfico de actualización. Facultad de Química. UNAM 2000.

Almeida H. D., Rooney L. W 1996 *Avances en la manufactura y calidad de productos de maíz nixtamalizado*. Industria Alimentaria, p. 4-13.

Akers A. A., Hosney R. C (1994). Water-soluble dextrans from  $\alpha$ -amylase-treated bread and their relationship to bread firming. *Cereal Chemistry*. 71(3):223-226.

Anchondo E. L. Estudio sobre la retrogradación del almidón de tortilla de maíz mediante calorimetría diferencial de barrido. Tesis de licenciatura. Facultad de Química. UNAM. 1998.

Boletín informativo de Colloides Naturels de México, S.A. de C.V., 1999.

Codex Alimentarius Vol. IV 1ª ed., Publicado por la Secretaría del programa conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias, FAO. Roma, 1982.

Cooke D., Gidley M. J. (1992). Loss of crystalline and molecular order during starch gelatinisation: origin of the enthalpic transition. *Carbohydrate Research*. **227**:103-112.

Davis E. A., Grider J., Gordon J. (1986). Microstructural evaluation of model starch system containing different types of oils 1, *Cereal Chemistry*, **63**(5):427-430

Donovan J W., Lorenz K , Kulp K. (1983). Differential scanning calorimetry of heat-moisture treated wheat and potato starches. *Cereal Chemistry*, **60**(5):381-387.

Eerlingen R. C., Jacobs H., Delcour J.A. (1994). Enzyme-resistant starch. V. Effect of retrogradation of waxy maize starch on enzyme susceptibility *Cereal Chemistry*. **71**(4):351-355.

Eliasson A.-C. Carbohydrates in food. A Series of monographs, textbooks, and reference books, USA, Food Science and Technology, 1996.

Eliasson A.-C. (1994). Interactions between starch and lipids studied by DSC. *Termochimica Acta* **246**:343-356.

Eliasson A -C., Ljunger G. (1988). Interactions between amylopectin and lipid additives during retrogradation in a model system. *Journal of Science and Food Agriculture*. **44**:353.

Fennema O. R., Química de los alimentos. España, Editorial Acribia, 1993.

Fernandez D. A., Waniska R. D., Rooney L. W. (1999). Changes in starch properties of corn tortillas during storage. *Starch/Stärke*. **51**(4):136-140

García M N. Procesos no convencionales de elaboración de harinas instantáneas para tortilla. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Chapingo. 1994.

Gomez M. H., Mc Donough C. M., Rooney L. W., Waniska R. D. (1989). Changes in corn and sorghum during nixtamalization and tortilla baking. *Journal of Food Science*. **54**(2):330-336.

Gomez M H., Waniska R. D., Rooney L. W. (1991). Starch characterization of nixtamalized corn flour. *Cereal Chemistry*. **68**(6):578-582.

Gruchala L., Pomeranz Y. 1993. Enzyme-resistant starch: Studies using differential scanning calorimetry. *Cereal chemistry*. **70**(2):163:170.

Harwalkar V. R., Ma C.-Y. Thermal analysis of foods. USA, Elsevier Applied Science, 1990.

Hines W W , Montgomery D. C. Probabilidad y estadística para ingeniería y administración. México, CECSA, 1997.

Huang J.J., White P.J. (1993). Waxy corn starch: Monoglyceride interaction in a model system. *Cereal Chemistry*. **70**(1):42-47.

Iturbe Ch. F. A., Escobedo O. G., Sandoval G. J. Manual de Metodologías Generales. Laboratorio de Análisis de Alimentos. Departamento de Alimentos y Biotecnología, Facultad de Química, UNAM. 1998.

Iturbe Ch. F. A., Lucio A R. M., López M. A (1996). Shelf-life of tortilla extended with fungal amylases. *International Journal of Food Science and Technology*, **31**:505-509.

Jacobson M. R., Be Miller J. N. (1998). Method for determining the rate and extent of accelerated starch retrogradation *Cereal Chemistry*. **75**(1):22-29.

Jarvis C. E., Walker J. R. L. (1993). Simultaneous, rapid, spectrophotometric determination of total starch, amylose and amylopectin. *Journal of Science and Food Agriculture*. **63**:53-57.

Lucio A R. M. Modificación enzimática de la harina nixtamalizada para incrementar la vida de anaquel de la tortilla. Tesis de licenciatura. Facultad de Química. UNAM. 1995.

Martínez F. E. H. Estudio bioquímico y nutrimental en tortilla de maíz elaboradas por un proceso de extrusión. Tesis de doctorado. Departamento de Biotecnología. Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV). México, 1997.

McCleary B. V., Gibson T. S., Solah V., Mugford D. C. (1994). Total starch measurement in cereal products: Interlaboratory evaluation of rapid enzymic test procedure. *Cereal Chemistry*. **71**(5):501-505.

Mikus F. F , Hixon R. M., Rundle R. E. (1946). The complexes of fatty acids with amylose. *Journal American Chemical Society*. **68**:1115-1123.

Miles M J., Morris V J , Orford P. D., Ring S. G. (1985). The roles of amylose and amylopectin in the gelation and retrogradation of starch. *Carbohydrate research*. **135**:271-281.

Nakazawa F., Noguchi S , Takahashi J., Takada M (1985). Retrogradation of gelatinized potato starch studied by differential scanning calorimetry. *Agriculture Biological Chemistry* **49**(4):953-957.

Olesen M., Rumessen J. J., Gudmand-Hoyer E. (1994). Intestinal transport and fermentation of resistant starch evaluated by the hydrogen breath test. *European Journal of Clinical Nutrition*. **48**:692-701.

Pflugfelder R. L., Rooney L. W., Waniska R. D. (1988). Fractionation and composition of commercial corn masa. *Cereal Chemistry*. **65**(3):262-266.

Pomeranz Y. *Modern Cereal Science and Technology*. USA, VCH Publishers, 1987.

Ranganathan S., Champ M., Pechard C., Blanchard P., Nguyen M., Colonna P., Krempf M. (1994). Comparative study of the acute effects of resistant starch and dietary fibers on metabolic indexes in men. *American Journal of Clinical Nutrition* **59**:879-83.

Ring S. G., Colonna P., l'Anson K. J., Kalichevsky T., Miles M. J., Morris V J., Orford P. D. (1987). The gelation and cristallisation of amilopectin *Carbohydrate research*. **162**:277-293.

Sánchez D. A. L. S. Evaluación del efecto de almacenamiento sobre las macromoléculas del maíz por medio de calorimetría diferencial de barrido. Tesis de maestría. Facultad de Química. UNAM. 1998.

Serna-Saldivar S. O., Gomez M. H., Almeida-Dominguez H. D , Islas-Rubio A , Rooney L. W. (1993) A method to evaluate the lime cooking properties of corn (zea mays). *Cereal Chemistry*. **70**(6):762-764.

Serna-Saldivar S. O., Gomez M. H., and Rooney L. W. Technology, chemistry and nutritional value of alkaline-cooked products. En: *Advances of cereal science and technology*. Vol X Pomeranz, ed. Am. Assoc. Cereal Chem, St Paul, MN, 1990.

Sievert D , Pomeranz Y. (1990). Enzyme-resistant starch. II. Differential scanning calorimetry studies on heat-treated starches and enzyme-resistant starch residue. *Cereal Chemistry*. **67**(3):217-221.

Trejo- González A., Feria-Morales A., Wild- Altamirano C. The role of lime in the alkaline treatment of corn for tortilla preparation En: *Advances in chemistry series*. Feency R E., Whitaker J R. New York. American Chemical Society 1982.

Ward K. E. J., Hosenev R. C., Seib P. A. 1994 Retrogradation of amylopectin from maize and wheat starches. *Cereal Chemistry*. **71**(2):150-155.

Watson S. A., Ramstad P. E. 1987 Corn: Chemistry and Technology. USA, American Association of Cereal Chemist, 1987.

White P. J., Abbas I. R., Johnson L. A. (1989). Freeze-thaw stability and refrigerated-storage retrogradation of starches. *Starch/Stärke*. **41**(5):176-180.

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 chemistry*. **70**(1):81-89.

ZeleznaK K. J., HoseneY R. C. (1986). The role of water in the retrogradation of wheat starch gels and bread crumb. *Cereal Chemistry*. **63**(5):407-411.

ZeleznaK K. J., HoseneY R. C. (1987). Characterization of starch from bread aged at different temperatures. *Starch/Stärke*. **39**(7):231-233

## APÉNDICE.

1) Determinación de la actividad enzimática de  $\alpha$ -amilasa pancreática empleada en el estudio de digestibilidad del almidón de tortilla de maíz.

Para la determinación de la digestibilidad del almidón de las muestras se usó amilasa pancreática (Creon, BYK-Gulden) a la cuál se le determinó la actividad.

Se transfirió una alícuota de solución de almidón (merck) al 0.1% y 2.2 mL de buffer de fosfatos 0.2M, pH 6.8 a cada tubo de ensayo (16 x 150 mm), los cuáles se colocaron en un baño de agua a 37°C. Una vez que se alcanzó la temperatura indicada, se adicionó la cantidad necesaria de solución de  $\alpha$ -amilasa pancreática al 0.05% (0.05 g de enzima/100mL de buffer de fosfatos) para que al minuto se digiriera el 50% del almidón presente; la reacción se detuvo adicionando 5 mL de solución de  $I_2/HCl$  (2 g de KI + 0.2 g  $I_2$  aforar a 100 mL de agua, de esta solución se toma 1 mL y se afora a 100 mL con HCl 0.1M) y se adicionó la cantidad necesaria de agua para llegar a un volumen final de 12.1 mL. Se realizaron las determinaciones de absorbancia de las soluciones en un espectrofotómetro (Perkin Elmer, lambda 3B) a una  $\lambda=620$  nm (Método modificado de Anchondo, 1998). Esta determinación se realizó a los tiempos 0, 0.5, 1 y 1.5 minutos.

2) Actividad enzimática de  $\alpha$ -amilasa fúngica empleada como aditivo para evitar la retrogradación del almidón de tortilla de maíz

Con el fin de comprobar la actividad de la enzima empleada como aditivo para evitar la retrogradación, se siguió la metodología propuesta por Lucio, 1995.

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

**Concentración de enzima:** Solución al 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, 9, 12 y 15 min) A la muestra tomada se le determinan azúcares reductores por el método de DNS.

Método ácido dinitrosalicílico (DNS).

Tomar 1 mL de la solución, adicionar 1 mL del reactivo DNS y calentar por 5 min En un baño de agua hirviente, enfriar y diluir con 10 mL de agua destilada. Ajustar el espectrofotómetro con un blanco de reactivos y agua igualmente tratado que la muestra a 540 nm.

Cuantificar los azúcares reductores interpolando los valores de absorbancia obtenidos en una curva estándar de 0-2 mg de glucosa/mL.

El reactivo de DNS se prepara disolviendo 1.0 g de ácido 3,5-dinitrosalicílico en 50 mL de agua a los que se les ha adicionado 20 mL de solución de hidróxido de sodio 2N. Después de que todo el material se ha disuelto, se adicionan 30 g de tartrato doble de sodio y potasio y una vez disueltos, toda la mezcla se lleva a 100 mL con agua desionizada. Esta solución debe ser almacenada en un frasco ámbar protegida del CO<sub>2</sub> (Iturbe et al., 1998).

3) Análisis de varianza (Factorial) para porcentajes de almidón retrogradado. Se realizó un análisis de varianza de los datos de entalpías de almidón retrogradado obtenidas durante el monitoreo calorimétrico de las tortillas donde las variables analizadas fueron los aditivos, tiempo y temperatura de almacenamiento

Primero se realizó la prueba de Homogeneidad de la varianza con la prueba de Hartley. Los datos resultaron ser homogéneos.

Tabla 10. Análisis de varianza (Factorial) de entalpias de almidón retrogradado de tortilla.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Fo (calculada)	Fo (tablas)
Temperatura	1	0.19	0.19	129.25**	7.19
Aditivos	2	1.08	0.54	367.35**	5.08
Tiempo	5	3.35	0.67	455.78**	3.43
Temperatura x Aditivos	2	0.00	0.00	0.00	5.08
Temperatura x Tiempo	5	0.08	0.016	10.88**	3.43
Aditivos x Tiempo	10	0.31	0.031	21.08**	2.715
Temperatura x Tiempo x Aditivos	10	0.01	0.01	6.80**	2.715
Error	51	0.075	0.00147		
Total	86	5.185			

\*\* denota diferencia altamente significativa.

Para Fo de tablas se usó una  $\alpha=0.01\%$  (Hines y Montgomery, 1997).

Se encontró que existe una interacción entre las variables tiempo, aditivos y temperatura, por lo que la prueba siguiente solo se trabajó para esa interacción.

Posterior al análisis de varianza se realizó una prueba de Rangos múltiples de Duncan para distinguir los datos en los que existe una diferencia

significativa. Se usó un valor de  $r$  de tablas con una  $\alpha=0.05\%$  (Hines y Montgomery, 1997).

La siguiente tabla muestra las condiciones donde los valores de entalpías son iguales entre sí, pero presentan una diferencia significativa entre las demás condiciones.

Tabla 11. Rango Múltiple de Duncan para valores de almidón retrogradado.

Tortilla control congelación t=7 días
Tortilla control congelación t=9 días
Tortilla control congelación t=2 días
Tortilla control congelación t=15 días
Tortilla control refrigeración t=1 día
Tortilla con lípido congelación t=7 días
Tortilla con lípido congelación t=2 días
Tortilla control refrigeración t=7 días
Tortilla con lípido congelación t=9 días
Tortilla con enzima refrigeración t=1 día
Tortilla con enzima refrigeración t=7 días
Tortilla con lípido refrigeración t=15 días
Tortilla con enzima congelación t=1 día
Tortilla con lípido refrigeración t=15 días
Tortilla con enzima congelación t=1 día
Tortilla con enzima congelación t=7 días
Tortilla con enzima congelación t=7 días
Tortilla con enzima congelación t=9 días
Tortilla con enzima congelación t=15 días

Tortilla control refrigeración t=2 días
Tortilla con lípido congelación t=15 días
Tortilla con enzima refrigeración t=9 días
Tortilla con enzima refrigeración t=15 días

4) Análisis de varianza (Factorial) de porcentajes de pérdida de digestibilidad. Se realizó un análisis de varianza de los datos de porcentaje de pérdida de digestibilidad de almidón obtenidos durante el monitoreo calorimétrico de las tortillas donde las variables analizadas fueron los aditivos, tiempo y temperatura de almacenamiento

Se realizó la prueba de Homogeneidad de la varianza con la prueba de Hartley. Los datos resultaron ser homogéneos, por lo que posteriormente se realizó el análisis de varianza.

Tabla 10. Análisis de varianza (Factorial) de porcentaje de pérdida de digestibilidad de almidón de tortilla

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Fo (calculada)	Fo (tablas)
Temperatura	1	1984.29	1984.29	141.45**	6.85
Aditivos	2	29633.06	14816.53	1056.24**	4.78
Tiempo	5	78724.97	15744.99	1122.42	3.17
Temperatura x Aditivos	2	194.42	97.21	6.92**	4.79
Temperatura x Tiempo	5	1205.23	241.04	17.18**	3.17
Aditivos x Tiempo	10	7249.61	724.96	51.68**	2.47
Temperatura x Tiempo x Aditivos	10	620	62.04	4.42	2.47
Error	108	1514.98	14.02		
Total	143	121126.99			

\*\* denota diferencia altamente significativa

Para Fo de tablas se usó una  $\alpha=0.01\%$ .

Se encontró que existe una interacción entre las variables tiempo, aditivos y temperatura, por lo que la prueba siguiente solo se trabajó para esa interacción.

Posterior al análisis de varianza se realizó una prueba de Rangos múltiples de Duncan para distinguir los datos en los que existe una diferencia significativa. Se usó un valor de r de tablas con una  $\alpha=0.05\%$ .

La siguiente tabla muestra las condiciones donde los valores de porcentaje de pérdida de digestibilidad del almidón de tortilla son iguales entre sí, pero presentan una diferencia significativa entre los demás bloques.

Tabla 11 Rango Múltiple de Duncan de porcentaje de pérdida de digestibilidad de almidón de tortilla.

Tortilla control refrigeración t=7 días
Tortilla control refrigeración t=9 días
Tortilla con enzima congelación t=1 día
Tortilla con enzima congelación t=2 días
Tortilla con enzima congelación t=15 días
Tortilla con enzima congelación t=2 días
Tortilla con enzima congelación t=7 días
Tortilla con enzima congelación t=9 días
Tortilla con enzima refrigeración t=1 día
Tortilla con enzima refrigeración t=15 días
Tortilla con enzima congelación t=9 días
Tortilla con enzima refrigeración t=1 día
Tortilla con enzima refrigeración t=2 días
Tortilla con enzima refrigeración t=7 días
Tortilla con enzima refrigeración t=15 días

Tortilla con enzima refrigeración t=2 días
Tortilla con enzima refrigeración t=7 días
Tortilla con enzima refrigeración t=9 días
Tortilla con lípido congelación t=1 día
Tortilla con lípido congelación t=15 días
Tortilla con lípido congelación t=2 días
Tortilla con lípido congelación t=7 días
Tortilla con lípido congelación t=9 días
Tortilla con lípido congelación t=15 días
Tortilla con lípido refrigeración t=1 día
Tortilla con lípido refrigeración t=15 días
Tortilla con lípido congelación t=2 días
Tortilla con lípido congelación t=7 días
Tortilla con lípido congelación t=9 días
Tortilla con lípido refrigeración t=1 día
Tortilla con lípido refrigeración t=2 días
Tortilla con lípido refrigeración t=7 días
Tortilla con lípido refrigeración t=9 días
Tortilla con lípido refrigeración t=15 días
Tortilla con lípido congelación t=7 días
Tortilla con lípido congelación t=9 días
Tortilla con lípido refrigeración t=1 día
Tortilla con lípido refrigeración t=2 días
Tortilla con lípido refrigeración t=7 días
Tortilla con lípido refrigeración t=9 días
Tortilla con lípido refrigeración t=15 días
Tortilla control congelación 1 día

**ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

Tortilla con lípido refrigeración t=1 día  
Tortilla con lípido refrigeración t=2 días  
Tortilla con lípido refrigeración t=7 días  
Tortilla con lípido refrigeración t=9 días  
Tortilla con lípido refrigeración t=15 días  
Tortilla control congelación t=1 día  
Tortilla control congelación t=2 días  
Tortilla control congelación t=7 días  
Tortilla control congelación t=9 días  
Tortilla control congelación t=15 días

Tortilla con lípido refrigeración t=2 días  
Tortilla con lípido refrigeración t=7 días  
Tortilla con lípido refrigeración t=9 días  
Tortilla con lípido refrigeración t=15 días  
Tortilla control congelación t=1 día  
Tortilla control congelación t=2 días  
Tortilla control congelación t=7 días  
Tortilla control congelación t=9 días  
Tortilla control congelación t=15 días  
Tortilla control refrigeración t=1 día

Tortilla control congelación t=2 días  
Tortilla control congelación t=7 días  
Tortilla control congelación t=9 días  
Tortilla control congelación t=15 días  
Tortilla control refrigeración t=1 día  
Tortilla control refrigeración t=2 días  
Tortilla control refrigeración t=15 días

Tortilla control refrigeración t=2 días

Tortilla control refrigeración t=7 días

Tortilla control refrigeración t=15 días