



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

**ESTUDIO DE LA DIFUSIÓN DEL IÓN CALCIO EN NIXTAMALIZACIÓN
DE MAÍZ CON ALTA CALIDAD PROTEÍNICAMENTE EN FUNCIÓN DE LA
TEMPERATURA DE COCCIÓN.**

ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN:

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO:
INGENIERA EN ALIMENTOS
P R E S E N T A :
B R E N D A A G U A S A N G E L

ASESOR: M. en C. ELSA GUTIÉRREZ C.



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.



VERDAD NACIONAL
AUTONOMIA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DEPARTAMENTO DE
EXAMENES PROFESIONALES

DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

ATN: L. A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos :

La Actividad de Investigación:

" Estudio de la difusión del ión calcio en nixtamalización de maíz con alta calidad proteínica en función de la temperatura de cocción."

que presenta la pasante: Aguas Angel Brenda

con número de cuenta: 400070144 para obtener el título de :
Ingeniera en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 28 de Febrero de 2007.

PRESIDENTE

Dra. Susana Patricia Miranda Castro

VOCAL

I.A. Laura Margarita Cortazar Figueroa

SECRETARIO

M en C. Elsa Gutiérrez Cortez

PRIMER SUPLENTE

I.A. Maria Guadalupe López Franco

SEGUNDO SUPLENTE

Dra. María Andrea Trejo Márquez

DEDICATORIAS.

A mis padres Vicente y Concepción les agradezco el estar a mi lado en todo momento sin importar la situación, por los sacrificios y al poner todas sus esperanzas en mi, espero que sepan que este triunfo es también de ustedes. Gracias los Amo.

A mis hermanos Marco Antonio e Israel

A mis tíos Sonia y Juan porque son un ejemplo para mi.

A Hector llegaste en el momento indicado y te quedaste conmigo, me diste el valor de seguir. Gracias... Te Quiero Mucho.

A mis grandes amigos, Joel y Nancy agradezco su amistad en las buenas y en las malas, siempre estarán en mi corazón...

Mirar siempre hacia delante y recordar las vivencias del pasado
Buscando siempre alcanzar los sueños anhelados y
No titubear jamás.

AGRADECIMIENTOS.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y en especial a la FES Cuautitlán, por que me siento muy orgullosa de haber formado parte de estas Instituciones que me permitieron adquirir una gran formación profesional y personal. Pero sobretodo por los inolvidables momentos que viví.

A la M. en C. Elsa Gutiérrez Cortez al darme la valiosa oportunidad de formar parte de este trabajo y adquirir un importante logro como profesionista. Pero sobre todo por su apoyo y al compartir conmigo tantos momentos de esfuerzo y dedicación.

Al Dr. Mario Enrique Rodríguez García por ser un pilar importante en la realización de este artículo, al brindarme sus conocimientos y experiencia que fueron de gran ayuda.

A la M. en C. J. Isela Rojas Molina por formar parte de este logro y por su constancia para la realización de este trabajo ya que sin su ayuda no hubiera sido posible.

A la profesora Ma. De los Ángeles Cornejo agradezco los consejos ofrendados y recordare siempre las anécdotas vividas.

A la Técnica Académica Ma. del Pilar Fernández Lomelín del instituto de Geografía por su valiosa asesoría y por compartir conmigo su experiencia en las determinaciones de espectroscopía de adsorción atómica.

Al Técnico Académico Roberto Hernández Reyes del instituto de Física por su paciencia y sus valiosas sugerencias en las imágenes de microscopio.

ÍNDICE

	Página
Dedicatorias	i
Agradecimientos	ii
Índice	iii
Índice de figuras	iv
Article (CEREAL CHEMISTRY)	
Study of Calcium Ion diffusion in Nixtamalized Quality Protein Maize as a Function of the Cooking Temperature.	84(2);186-194
Abstract	84(2);186
Materials and Methods	84(2);187
Results	84(2);189
Conclusions	84(2);193
Acknowledgments	84(2);193
Literature cited	84(2);193
Artículo (Traducción)	
Estudio de la difusión del ión calcio en nixtamalización de maíz con alta calidad proteínica en función de la temperatura de cocción.	
Resumen	2
Introducción	2
Materiales y Métodos	4
Resultados	6
Conclusiones	14
Agradecimientos	14
Bibliografía	15
Anexos	

ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura		Página
	A. Control computarizado usado para muestras nixtamalizadas	
1	B. Historia térmica del tratamiento térmico y tiempo de reposo de muestras cocidas a 72 °C por 60 min con un contenido de humedad de 36% con una concentración de 1% (p/v) de Ca. La región I corresponde al inicio de la cocción; región II corresponde a la temperatura de cocción constante; y la región III del enfriamiento durante el tiempo de reposo	5
	CEREAL CHEMISTRY	84(2);188
2	A. Contenido de humedad en granos de maíz en función de la temperatura de cocción	7
	B. Contenido de humedad en granos de maíz en función al tiempo de reposo (1% calcio)	84(2);189
	CEREAL CHEMISTRY	84(2);189
3	Contenido de Ca en harinas de maíz nixtamalizada en función del tiempo de reposo para muestras a temperaturas de 72, 82 y 92 °C (1% Ca, p/v) y para muestra de control (sin Ca) usando el proceso tradicional de nixtamalización	8
	CEREAL CHEMISTRY	84(2);189
4	Contenido de calcio en el pericarpio en función del tiempo de reposo para granos de maíz nixtamalizados a 72, 82 y 92 °C (1% de Ca, p/v)	9
	CEREAL CHEMISTRY	84(2);190
	Imágenes obtenidas por microscopía electrónica de barrido (SEM) del pericarpio de QPM H-368C con granos de maíz cocidos a 92°C (1%, p/v)	
5	A. Pericarpio de maíz nativo sin tratamiento térmico	10
	B. 0 hr	
	C. 1 hr	
	D. 3 hr de tiempo de reposo respectivamente	
	CEREAL CHEMISTRY	84(2);191
6	Imágenes de pericarpio y endospermo en granos de maíz QPM H.368C nixtamalizados a 92 °C (1% Ca, p/v) diferentes horas de reposo, A-D, tiempos de reposo de 3, 5, 7 y 9 hr	11
	CEREAL CHEMISTRY	84(2);192
7	Contenido de calcio en el endospermo total en función del tiempo de reposo para muestras cocidas a 72, 82 y 92 °C usando el proceso tradicional de nixtamalización (1% Ca, p/v)	12
	CEREAL CHEMISTRY	84(2);192
8	A. Contenido de Ca en el endospermo en función del tiempo de reposo en el 10% del endospermo (capas mas externas), B. Contenido de Ca en el 10% siguiente y en el 80% remanente, para muestras cocidas a 72, 82 y 92 °C (1% Ca, p/v)	13
	CEREAL CHEMISTRY	84(2);193
9	Contenido de calcio en el germen en función del tiempo de reposo para todas las temperaturas de cocción (1% Ca, p/v)	13
	CEREAL CHEMISTRY	84(2);193

El presente trabajo se realizó con el apoyo económico del Consejo de Ciencia y Tecnología del estado de Querétaro al proyecto titulado "Caracterización fisicoquímica y nutrimental de harinas instantáneas de maíz nixtamalizadas a partir de maíz QPM H-368C producido en la zona del bajío" (No. de expediente 03) en el laboratorio Experimental Multidisciplinario de Alimentos (LEM III) Nave 2000, (FES-Cuautitlán). En el Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada (CFATA) campus Juriquilla Qro. En el laboratorio (LAFQA) del Instituto de geografía (UNAM) México DF. En el laboratorio de microscopía electrónica de barrido (UNAM) México DF; bajo la dirección de la M. en C. Elsa Gutiérrez Cortez y como coasesor el Dr. Mario Enrique Rodríguez García.

Study of Calcium Ion Diffusion in Nixtamalized Quality Protein Maize as a Function of Cooking Temperature

E. Gutierrez,¹⁻³ I. Rojas-Molina,^{3,4} J. L. Pons-Hernandez,⁵ H. Guzman,⁵ B. Aguas-Angel,² J. Arenas,⁶ P. Fernandez,⁷ A. Palacios-Fonseca,³ G. Herrera,¹ and M. E. Rodríguez^{7,8}

ABSTRACT

Cereal Chem. 84(2):186–194

In this report, the effect of temperature on the calcium content of Quality Protein Maize (QPM H-368C) during the nixtamalization process as a function of the steeping time for three cooking temperatures (72, 82, and 92°C) is presented. Also, for the first time, we report in physicochemical terms the end of the cooking stage during the nixtamalization process that was established when the moisture content in corn kernels reached a value of 36% (w/w) with a lime concentration of 1% (w/v), independent of the cooking temperature. Atomic absorption spectroscopy was used to determine the calcium concentration in the whole kernel and in its different anatomical components (pericarp, endosperm, and germ) as well as in 10% of the outermost layers, the next 10%, and the remaining

80% of the endosperm as a function of the steeping time. It was found that if the cooking temperature increases, the calcium content increases also. For steeping times in the range of 5–7 hr, a relative maximum was found in the calcium contents of 0.24, 0.21, and 0.18% (w/w) in QPM H-368 flours at 92, 82, and 72°C, respectively. Calcium was found in the most external layers in the endosperm and minimum diffusion occurs in the internal 80%. Phosphorous was measured by using UV spectroscopy and the results showed that it remains constant at 0.24% throughout the process. Scanning electron microscopy analysis was used to explain the calcium ion diffusion in the kernel. The physical changes in the pericarp govern the calcium diffusion process.

The amount of calcium incorporated during the nixtamalization process in the corn kernel (pericarp, germ, and endosperm) is very important for various reasons. Interaction between calcium and the different components of the kernel determines the physicochemical and sensorial properties of products such as dough (masa), tortillas, and instant corn flour (Paredes-Lopez and Sarharopulos 1982). On the other hand, from a nutritional point of view, the amount of calcium, and especially the calcium/phosphorous ratio, is important to bone formation (Whiting et al 2002). From a physicochemical point of view, this is important because calcium ion diffusion in biological tissues is a temperature-dependent kinetic process.

During the nixtamalization process, the calcium content of the maize kernels rises from 0.06% in the untreated dry kernel to >0.1% (w/w, db) in the nixtamalized kernels after 12 hr of steeping (Trejo-González et al 1982) and to >0.32% (w/w, db) after 24 hr of steeping (Fernández-Muñoz et al 2004). The changes in the calcium content produce an effect on the physicochemical properties. Rodríguez et al (1995, 1996) found changes in thermal diffusivity, texture, X-ray patterns (relative crystallinity quality), and infrared spectra properties as a function of calcium content. For tortillas containing 0–0.25% (w/w) calcium, thermal diffusivity, peak viscosity, and crystallinity increased when the calcium content also increased. The opposite trend was observed for calcium content at >0.25%. During the nixtamalization process, there are simultaneous water and calcium diffusion processes that affect the

physicochemical properties of the final product. Bryant et al (1997) studied the swelling power, water retention capacity, and degree of gelatinization of corn cooked in water with lime. At low concentrations (0.2%, w/v, at 85°C), lime increased swelling and starch digestibility but these properties decreased when using higher lime concentrations (0.8 and 1.0%, w/v, at 85°C). Fernández-Muñoz et al (2002) demonstrated that the variation in calcium content of instant corn flour prepared at different steeping times is a result of a simultaneous kinetic diffusion process taking place in the pericarp, endosperm, and germ. Calcium ion diffusion during steeping is not a linear process, and the changes in the structural and rheological properties as a function of the steeping time do not exhibit linear dependence either. A more detailed qualitative description of the diffusion of calcium into the maize kernel during the nixtamalization process was reported by Zazueta et al (2002). They used a calcium-45-based technique to give a detailed picture of calcium absorption in maize kernels as a function of steeping time for kernels with and without damage. They found that there is quasi-simultaneous calcium ion diffusion in the pericarp, endosperm, and germ during the nixtamalization process as a function of steeping time. Likewise, this study showed that the incorporation of calcium does not proceed at the same rate for all grains and that it can occur abruptly with significant kernel damage.

Fernández-Muñoz et al (2004) studied the calcium ion diffusion through the different parts of maize kernels (pericarp, endosperm, and germ) during the traditional nixtamalization process as a function of the steeping time (0–24 hr) for samples cooked at 92°C. By using atomic absorption spectroscopy, they found that the calcium content in whole instant corn flours, pericarp, endosperm, and germ had a nonlinear relationship with steeping time. They also found that the calcium content showed a local maximum after 9 hr of steeping. Analysis of the different parts of the nixtamalized kernels showed that in short steeping times (0–5 hr), Ca diffusion took place mainly in the pericarp. Calcium diffusion in the endosperm and germ occurred gradually over longer steeping times. They also found that the physical state of the kernels (broken kernels) accelerated the diffusion process. In their results, calcium diffusion occurred first in the pericarp, followed by the endosperm and germ. Fernández-Muñoz et al (2004) also presented a detailed description of the calcium content in the endosperm and found that calcium ions were mainly located in the outermost layers. Recently, Gonzalez et al (2004) studied the physicochemical changes in the pericarp during the nixtamalization process (cooking) at 80°C.

¹ Posgrado en Ingeniería, Universidad Autónoma de Querétaro, Cerro de las Campanas S/N, Querétaro, México.

² Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Cuautitlán, Cuautitlán, México.

³ Posgrado en Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Cuautitlán, Cuautitlán, México.

⁴ Facultad de Ciencias Naturales, Licenciatura en Nutrición, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México.

⁵ Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, Campus Celaya, Celaya, Guanajuato, México.

⁶ Instituto de Física, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.

⁷ Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Juriquilla, Querétaro, C.P. 76230, A.P. 1-1010, C.P. 76000, México.

⁸ Corresponding author. Phone: 52-442-2381141. Fax: 52-442-2381165. E-mail: marioga@fata.unam.mx

They found that during alkaline cooking of the maize kernels, the hemicelluloses and lignin fractions in the pericarp become soluble, passing to the cooking liquor (nejayote). Also, the pericarp has the ability to retain Ca through interaction with the acid groups of hemicelluloses.

The foregoing studies were focused on individual temperatures of 72–92°C. However, there are few works related to the changes in the physicochemical properties of nixtamalized maize kernels and calcium content as a function of the cooking temperature. Using differential photoacoustic spectroscopy, Hurtado-Castañeda et al (2005) studied in situ the simultaneous diffusion process of water and calcium in pericarp of QPM H-368C as a function of temperature (72, 82, and 92°C) during the cooking process. Their results showed that the intake of water and calcium by the maize kernels under some Ca(OH)₂ saturation conditions are temperature-dependent and that this diffusion increases when temperature increases. Hurtado-Castañeda et al (2005) monitored in real time the changes related to the removal of hemicelluloses and lignin. The Ca content in the maize kernels and its components (pericarp, endosperm, and germ) depends on the physicochemical transformation during the alkaline process (Fernandez-Muñoz et al 2004). These changes have a strong dependence on the process behavior. There are no references in literature relating the same maize kernels under different temperature conditions.

In México and Central America, the tortilla is the main source of calcium and phosphorous in the diet. The Ca/P ratio is an important factor in bone formation. Many experiments have shown that a diet with a Ca/P ratio of 0.66–1.0 leads to pathological symptoms and poor skeletal health (Cramer 1968). To maintain bone mineral density in adults, the ideal Ca/P ratio in the human diet is 1–1.5 (Whiting et al 2002). For this reason, the amount of Ca incorporated into the corn kernel during the nixtamalization process is an important research topic.

Martínez-Flores et al (2002) studied the physical properties and composition of femurs from rats fed on a diet based on corn tortillas made with raw whole corn, with and without lime. In that study, they observed that the femurs in the rats fed with the nixtamalized tortillas were heavier, thicker, longer, and stronger than those in the rats fed tortillas without lime.

In nixtamalized corn products, the phosphorous concentration remains almost constant during the entire process (Bressani et al 1969). Therefore, the incorporation of Ca mainly during steeping time is very important to achieve a Ca/P ratio of ≥ 1 . This work presents a quantitative analysis of the calcium ion diffusion in the anatomical structures of the maize kernels (pericarp, endosperm, and germ) during traditional nixtamalization as a function of steeping time (0–15 hr) and for three temperatures (72, 82, and 92°C). Using scanning electron microscopy (SEM), the structural changes in the pericarp as a function of the steeping time were studied to develop a phenomenological model for calcium ion diffusion in maize kernels. Additionally, a computerized temperature control system was used to assess the reproducibility and repeatability of the results.

MATERIALS AND METHODS

The Quality Protein Maize (QPM) hybrid H-368C, was developed by Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) and Centro de Investigación para el Mejoramiento del Maíz y del Trigo (CIMMYT). The maize was sown in May 2004 at the Bajío experimental station (INIFAP) located in Celaya, Guanajuato, México. Crop management followed INIFAP recommendations. Ears were hand-harvested in November 2004 and grain was stored at 4°C until use.

Chemical Composition

Moisture content of the corn kernels before and during the cooking step was determined using Method 925.10 (AOAC 1990).

Ash, protein, and fat were measured with Approved Methods 08-01, 46-13, and 30-25 (AACC International 2000). All the measurements were done in triplicate.

Soft and Hard Endosperm Determination

To determine the soft and hard endosperm, the pericarp and germ were manually removed from 100 corn kernels after soaking in distilled water for 3 hr. Then the corn kernels were dried at 40°C over 2 hr. The soft-to-hard endosperm ratio was calculated. Soft and hard endosperm was weighed, and the soft endosperm was carefully removed using a dental precision instrument (low-speed hand piece, COA International) equipped with a diamond bur.

Corn and Endosperm Hardness

Corn and endosperm hardness were determined for 100 corn kernels using a texture analyzer (model TA-XT2, Texture Technologies, Scarsdale, NY) to determine the breaking force required for different samples. The same test was made for soft and hard endosperm. The area under the force-deformation curve was analyzed with texture analyzer software as reported by Martínez-Bustos et al (1999).

Instant Corn Flour Preparation

For better control of the nixtamalization process for cooking and steeping steps, as well as reproducibility of the samples, a nixtamalization computer controlled process (NCCP) was developed to control the cooking temperature and to monitor the temperature for the cooking and cooling steps in real time. Figure 1A shows a representation of the system where T1 and T2 were thermocouples used to feed the temperature control system, and T3 and T4 were thermocouples used to monitor the container temperature that feeds the information to the temperature control system. The data from T1, T2, T3, and T4 were collected using a RS232 interface to a personal computer. Figure 1B shows the temperature of the alkaline treatment of the corn kernels during cooking (first step) and steeping (second step) for samples at control, 0, 3, 5, 7, 9, 11, 13, and 15 hr at 72°C for 60 min. The first part of this figure corresponds to the heating process until the sample reached the reference temperature (Region I). In the second part of this figure, the temperature remained constant until the moisture samples were at 34–36% (cooking time) which determined the end of the cooking process (Region II). After this time, the heating system was turned off and the kernels remained in the cooking liquor (steeping time) (Region III). The same procedure was followed for samples cooked at 82 and 92°C.

In the initial cooking step of the nixtamalization process, each sample was prepared by cooking 3 kg of QPM H-368C kernels in a solution of 6 L of distilled water and 30 g of calcium hydroxide (reagent powder, Fermont, Monterrey, NL, México) and with calcium hydroxide at 1% of the weight of maize. The corn kernels were added to the container and heated to the respective reference temperature for each treatment. Subsequently, the sample remained in the container at this temperature for a characteristic cooking time. After the cooking step, the system was turned off and the temperature gradually decreased. The temperature changes were monitored until the sample reached the steeping time chosen to begin the washing process.

Maize kernels were cooked at 72, 82, and 92°C during 65, 40, and 25 min, respectively. After cooking, the maize was steeped for 0–15 hr. The cooking liquor (nejayote) was drained off and the nixtamal samples were washed twice in water (distilled water to avoid Ca interference) using a 2:1 (v/w) ratio by stirring kernels in the wash water for 1 min. After washing and draining, 2.6 kg of sample was ground (Fumasa, M100, Qto.) into corn masa and then dehydrated using a furnace. Drying conditions were adjusted to 40°C over 8 hr. Then the material was remilled using a hammer mill (Pulvex 200, México D.F. México) equipped with a 0.8-mm

screen. The remaining 0.4 kg of each sample was used to determine calcium content of the different anatomical parts of the corn kernels.

The pericarp, endosperm, and germ of each soaked kernel originating from a sample of 200 g were separated manually and dried in an air oven at 40°C for 8 hr (each component reached a relative moisture content of 12%). As the endosperm constitutes ≈80% of the whole kernel, the outermost 10% and the next 10% of dry undamaged endosperm were removed manually, one kernel at a time, by sanding all faces with sandpaper (Fandeli, Sic B-99, 1200) following the procedure reported by Fernández et al (2004).

Atomic Absorption Spectroscopy

The pericarp, endosperm, and germ from a sample of 200 g of soaked kernels were separated manually. The first sanding (10%), second sanding (10%), and the 80% remaining endosperm were tested for calcium contents to show a more detailed picture of calcium diffusion in this structure. The calcium content of the instant corn flours, as well as the different parts of whole kernels (pericarp, endosperm, germ) and layers of the undamaged endosperm as a function of the steeping time, and pericarp during the cooking step were determined by dry-ashing (Official Method 968.08, AOAC 1998). The calcium ion concentration was measured with

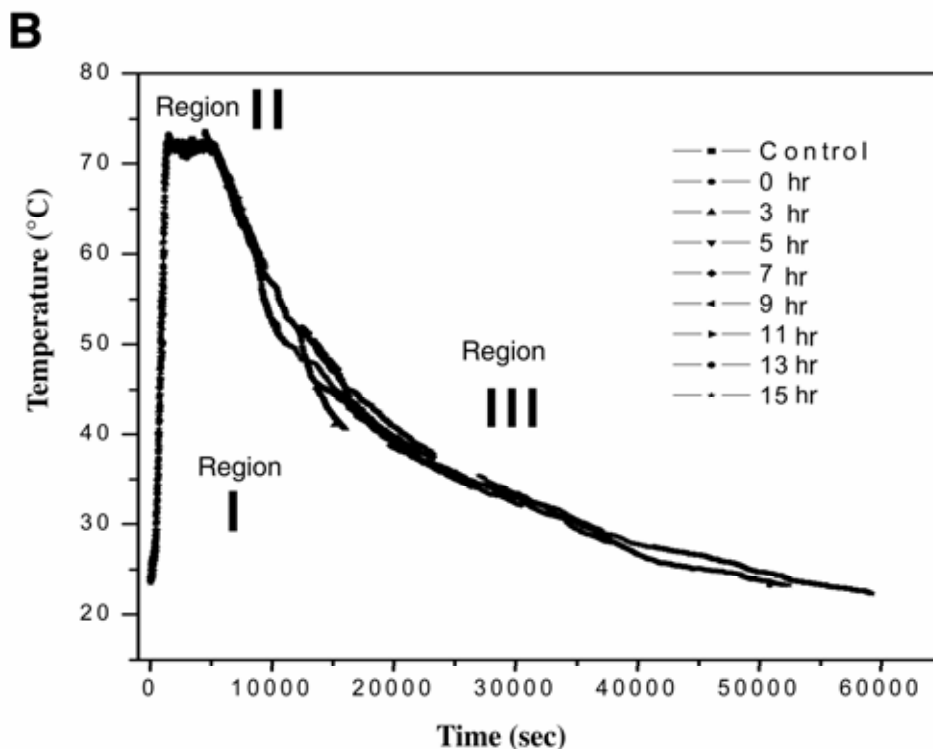
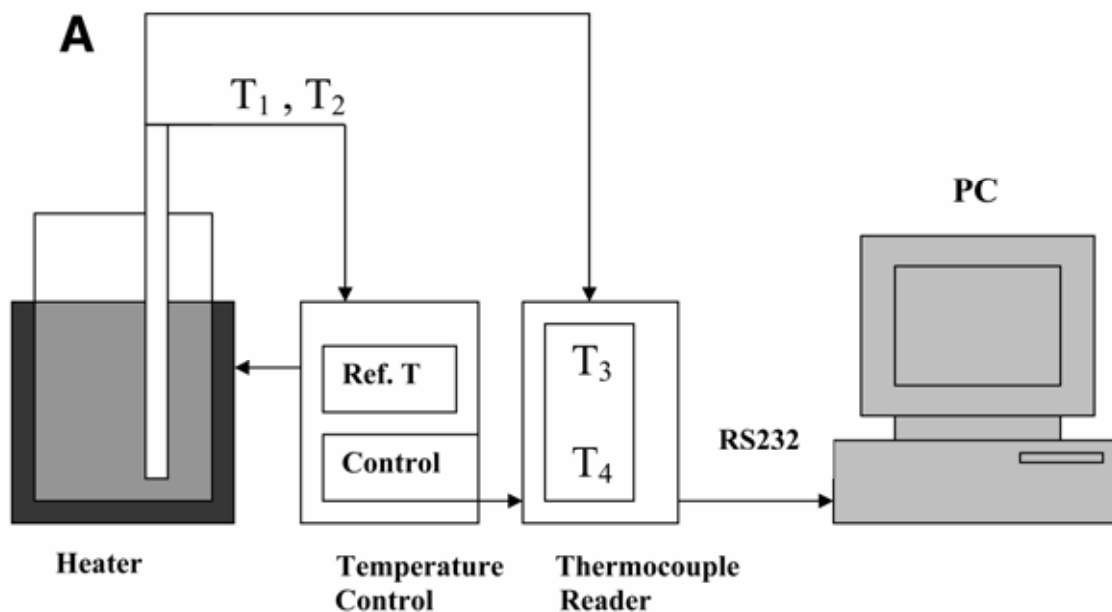


Fig. 1. A, Nixtamalization computer-controlled process used to produce nixtamalized samples. **B,** Temperature as a function of time for cooking and steeping time of samples cooked at 72°C for 60 min to reach a moisture content of 36% with a lime content of 1% (w/v). Region I corresponds to the heating; region II corresponds to the constant cooking temperature; and region III corresponds to the cooling during steeping time.

a double-beam atomic absorption spectrometer (AAAnalyst 300, Perkin Elmer) equipped with a deuterium lamp, background corrector, and a hollow cathode lamp. The equipment was operated with 12 psi of dry air, 70 psi of acetylene, a 422.7 nm flame, a 10-Ma lamp current, and a 0.7-nm slit width. Phosphorous was determined according to Official Method 965.17 (AOAC 2000).

Corn Sample Characterization

The morphology and chemical composition analysis of the pericarp in each sample was performed with a low vacuum scanning electron microscope (LV-SEM, JSM 5600LV) with resolution of 5 nm in LV mode, fitted with an energy dispersive X-ray spectrometer (Noran model Voyager 4.2.3). Before the analysis, the corn samples were fixed on the specimen holder with carbon tape and mounted on an aluminum specimen holder. The analyses conditions used 20 kV electron acceleration voltage and 12–20 Pa of pressure in the specimen chamber, obtaining the images on the fracture surfaces with the backscattering electron signal.

Statistical Analysis

Data obtained from the experiments were statistically analyzed using Statgraphics (Graphics Software System, STCC). Comparisons between sample treatments were made with analysis of variance (ANOVA) and multiple range analysis with a probability $P < 0.05$. The effect of cooking temperature and steeping time on the calcium content of instant corn flours was studied.

RESULTS

The chemical composition of the corn kernels was moisture content $12.1\% \pm 0.10$, ash $1.34\% \pm 0.05$, protein $6.66\% \pm 0.25$, and lipid concentrations $5.12\% \pm 0.08$. The ash and fat content in

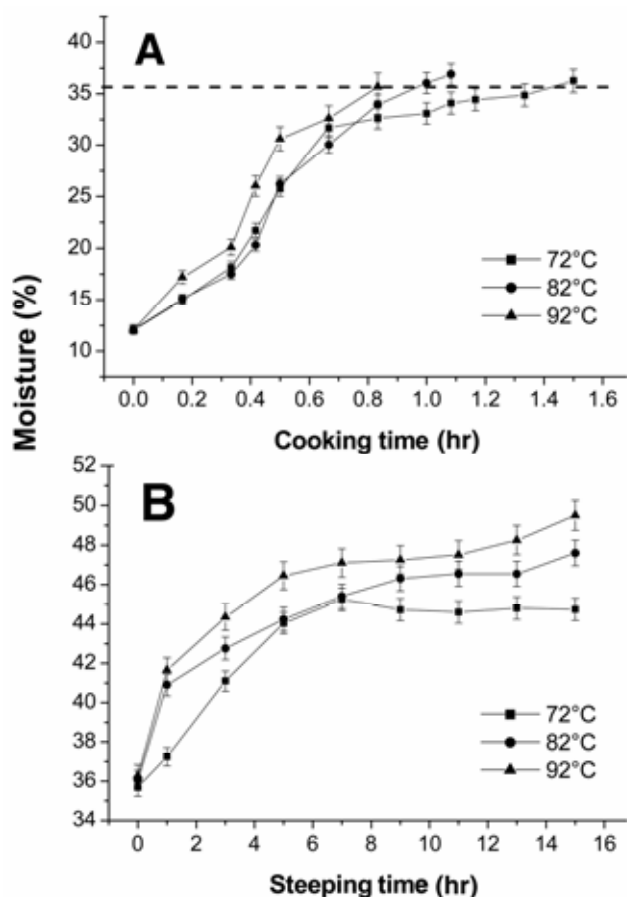


Fig. 2. A, Moisture content in the corn kernel during cooking step. B, Moisture content during steeping time (1% lime, w/v).

the QPM H-368C are close to those previously reported for a yellow Quality Protein Maize (1.5 and 4.8%, respectively) (Serna et al 1992). In contrast, the protein content in this QPM variety is lower than the white (10.4%) and yellow (9.5%) Quality Protein Maize reported by those authors and for QPM Nutricia (10%) and a common maize (9.4%) observed by Bressani et al (1990). Nevertheless, a similar value (6.5%) was found in another QPM hybrid (CML176xCML186) cultivated at the Bajío-INIFAP experimental station. The average corn hardness for 100 kernels was 14.82 ± 1.34 KgF. The hardness of hard and soft endosperm was also measured in the same kernels (12.44 ± 1.11 and 7.99 ± 1.24 KgF, respectively). The soft endosperm hardness for QPM H368 corn kernel was $20.08\% \pm 3.23$.

Figure 2A shows the moisture content in the corn kernels as a function of the cooking time and Fig. 2B shows the same parameter as a function of the steeping time. It is important to note that at the end of the cooking step, the moisture achieved a constant value ($35.5\% \pm 1.43$) independent of the temperature and cooking time, and that this value correlates with the manual pericarp-removing condition. This criterion is usually used by operators to indicate the end of the cooking time. Figure 2B shows that the maximum moisture value achieved for longer steeping time (15 hr) was 44.8, 47.6, and 49.5 at 72, 82, and 92°C, respectively. These results agree with reports by Billeb et al (2001), who reported the mean moisture content of 11 maize cultivars after 12 hr of soaking (post-nixtamalization) as 47.9% for samples cooked at 92°C. Figure 2B also indicates that diffusion of water has a temperature dependence: if the temperature increases, the water intake also increases. This effect is related to the pericarp permeability.

Figure 3 shows the calcium content of instant corn flours as a function of the steeping time for three cooking temperatures (72, 82, and 92°C) using the traditional nixtamalization process.

The calcium content of raw corn kernels (QPM H-368C) was 0.059% (w/w). The calcium content in samples cooked at 72, 82, and 92°C follows the same pattern, and these results are in agreement with samples reported by Fernández-Muñoz et al (2004) for

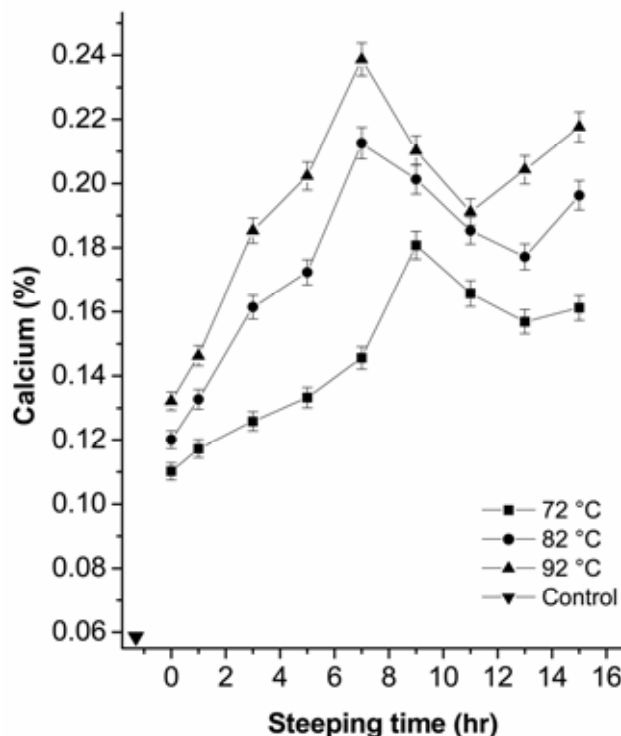


Fig. 3. Calcium content of the instant corn flours as a function of steeping time for samples cooked at 72, 82 and 92°C (1% lime, w/v) and control sample (no lime) using the traditional nixtamalization process.

Toluca corn. The maximum values of the calcium contents were 0.24, 0.21, and 0.18% (w/w) at 92, 82, and 72°C, respectively. Serna et al (1991) described an increase in the Ca content in raw grains processed into tortillas from 0.01 to 0.163%, respectively. Using a phenomenological model, they concluded that the calcium ion diffusion is a nonlinear process due to the morphology of the grain. It means that we have to consider that corn is a multilayer system (pericarp-germ-endosperm) and that these layers exhibit different physicochemical properties. For this reason, we considered the calcium content in the pericarp, germ, and endosperm as a function of the steeping time as well as the calcium content in the outer layers of the endosperm (10% relative to the weight) and the second layer (next 10%), and finally the calcium content in the remaining 80%. We present a detailed LV-SEM study of the changes in the physical state of the pericarp that could explain the calcium ion diffusion process during nixtamalization.

The changes in the calcium content as a function of the steeping time shown in Fig. 3 can be explained using two time frames. The first time frame from 0 hr to the maximum calcium content for each temperature in which the calcium ion diffusion probably took place in the pericarp, the outermost layers of the endosperm and germ. The second time frame from this maximum to 15 hr of steeping time, in which the calcium ion diffusion took place only in the endosperm and germ. These time frames were further subdivided into two regions. In the first time frame for samples cooked at 92°C, the subdivision is related to the changes in the slope of the calcium content versus steeping time. In the second time frame in the first region, the calcium content decreases and then increases. Almost the same profile was observed at all the studied temperatures: if the cooking temperature increases, the Ca content also increases. An important point is that the relative maximum at the end of the first time frame for each temperature has a shift to high steeping times when the cooking temperature decreases.

In samples cooked at 92°C, for the first time frame ($0 < t < 7$ hr) there are two different slopes ($0 < t < 3$ hr and $3 < t < 7$ hr). The increase in the first region is due to the calcium ion diffusion in the pericarp and after a characteristic critical time (t_c) that is re-

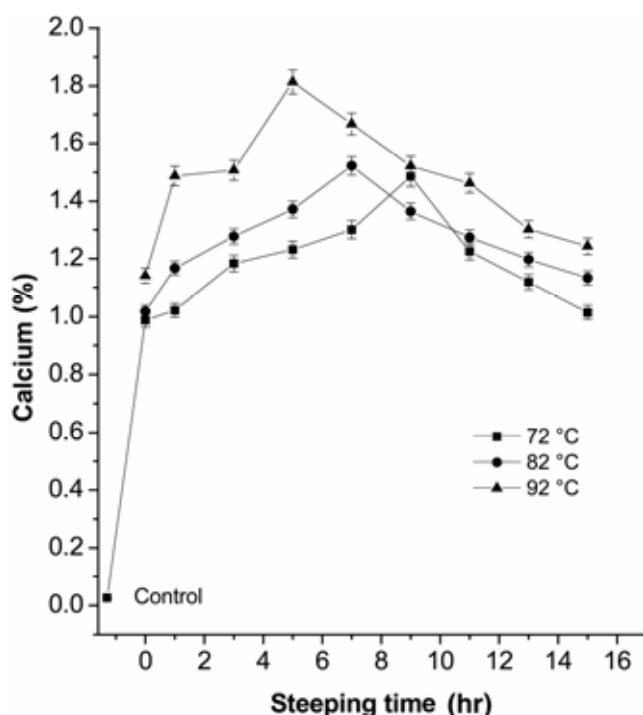


Fig. 4. Calcium content in the pericarp as a function of steeping time for maize kernel nixtamalized at 72, 82, and 92°C (1% lime, w/v).

lated to the percolation of the pericarp. In all cases for the first time frame, it is interesting to note that when the cooking temperature increases, there is a shift in the maximum of the calcium content to short steeping times. This t_c is related to the partial permeability (percolation) of the pericarp. It means that at this characteristic time of this step of the process, the alkaline solution promotes physicochemical changes in the pericarp structure, allowing the direct entrance of $\text{Ca}(\text{OH})_2$ and water into the germ and endosperm. Comparing Figs. 2 and 3, it is possible to establish that water and calcium intake have different kinetics. Figure 2 shows that it is also possible to establish that water entrance into the kernels is time-dependent.

As we see in Fig. 3, this shift is temperature-dependent. After this characteristic time, the ions have a free path for the diffusion though the outer layers of the endosperm and germ. It is important to remember however that, according to Zazueta et al (2002), the entrance of calcium into the kernels also takes place though the tip cap directly to the germ. Fernandez et al (2002, 2004) calculated this parameter for samples cooked at 72 and 92°C (3.5 and 5.21 hr, respectively) and found that the t_c increases when the cooking temperature increases. The results of the present work suggest that this parameter has an opposite trend. The t_c values found according to the methodology of Rodriguez et al (1996) for each treatment were 6.7, 4.46, and 3.20 hr for 72, 82, and 92°C, respectively. The discrepancy in the results from these works could be related to the sample preparation or to different properties of maize kernels. On the other hand, Hurtado et al (2005) showed that the simultaneous water and calcium ion diffusion during the cooking time are temperature-dependent. During the cooking step, this phenomenon occurs at short cooking times for the samples cooked at high temperature (92°C). This result could be due to water entrance into the corn kernel and the removal of the waxy layer that covers the pericarp and changes produced in its structure.

For the second time frame, the drop for $7 < t < 11$ hr, as reported earlier by Fernandez et al (2004), is related to the dry matter loss, mainly due to pericarp loss. The increases in the last part of the second time frame are related to the increases of calcium in the internal endosperm and germ.

The increase in calcium content as a function of the temperature for instant corn flours could be related to physicochemical changes in the anatomical parts of the maize kernel, mainly in the pericarp which is the layer that is directly exposed to the alkaline solution (nejayote). This assumption will be corroborated with SEM studies in pericarp.

For a better understanding of the calcium diffusion process, it was necessary to study the diffusion process in each one of the morphological parts of the nixtamalized maize kernels. The Ca content shown in Fig. 3 is the result of a quasi-simultaneous calcium ion diffusion process in the pericarp, endosperm, and germ. Thus, it is necessary to study the diffusion process in each of these structures individually.

Figure 4 shows the calcium content in the pericarp as a function of the steeping time for maize kernels cooked at 72, 82, and 92°C, and the calcium content in the control pericarp (cooked without calcium hydroxide). It is interesting to note that there is a maximum in the calcium content and also a shift of this peak to high steeping times when the temperature decreases.

Using the same time frames (Fig. 3), in the first time frame, the increase in the calcium could be due to the ability of the pericarp to fix calcium (Gonzalez et al 2004) and the pericarp capacity to retain water and calcium in the micropores formed during the thermoalkaline process. The decrease of calcium content is due to the loss of the external layers and removal of the pericarp during the washing process (second time frame). To explain these results, we conducted a scanning electron microscopy (SEM) study of the morphological changes in the pericarp during the steeping time for samples cooked at 92°C.

Figure 5A–D shows the SEM images of the pericarp for different steeping times. Figure 5A shows the native pericarp (without cooking) with external layers formed by a lattice of fibers with directional preference (white arrow). The fibers are composed mainly of cellulose, hemicelluloses, and lignin. Figure 5B shows the state of the pericarp at the end of the cooking step. The thin layer that covers the pericarp (epidermis), a waxy layer, disappears as a consequence of the thermoalkaline treatment (Hurtado et al 2005), and the lattices of fibers initiate and undergo an unfolding process. According to the SEM elemental microanalysis, the white areas on the pericarp surface are related to the calcium compounds that were identified by X-ray diffraction as a crystalline calcium carbonate.

Figure 5C shows the pericarp state for samples steeped for 1 hr. The beginning of the pericarp defoliation process (white arrow). Figure 5D corresponds to the 3-hr steeping, where the cross cell layer becomes visible, and also the accumulation of calcium carbonate increases in the internal layers of the pericarp (frame insert). A detailed study in pericarp tissue for this time shows the existence of micropores. The micropores in the pericarp tissue (Fig. 6A, 3 hr, 1,000×) for this temperature corroborate that there are percolating paths that allow the entrance of free calcium and water. This explains the changes in the slope and the increase in calcium concentration in the first time frame of Fig. 3.

Figure 6B shows the state of pericarp and endosperm for 5 hr of steeping (200×). The loss of pericarp is evident in the separation between pericarp and endosperm, and parts of the outermost layers of the endosperm become visible. As in Fig. 4, there is a loss in the calcium content present in the pericarp for a longer steeping time that is, in part, attributed to the dry matter loss. Figure 6C shows the pericarp and endosperm after 7 hr of steeping time (140×). The macropores present in the endosperm are due to direct interaction between alkaline solution and endosperm

constituents, mainly the protein matrix; thin layers of pericarp still stick to the endosperm. At 9 hr of steeping (Fig. 6D, 140×), the macropores increase in size, allowing the entrance of calcium and water to the internal layers of the endosperm and germ. The effect of the washing process is evident in the pericarp and endosperm surface. The foregoing SEM images are representative of the physical changes of the external structures of the maize kernels. They are important for future quantitative analysis of the calcium diffusion process because they represent the initial conditions to solve the two-layer diffusion problem.

Figure 7 shows the calcium content in the total endosperm as a function of the steeping time for the three studied temperatures. Again, the calcium content increases as a function of the temperature in an almost linear way. It is clear that the diffusion in the endosperm is governed by the changes in the pericarp according to SEM studies (Figs. 5 and 6). By correlating Figs. 2, 3, 5, and 6, it can be concluded that the water and calcium diffusion process in the corn kernel during the steeping process is governed by the pericarp changes.

Because endosperm represents ≈86% of the maize kernel, it is important to determine quantitatively the calcium concentration as a function of the endosperm depth. A more detailed result of the calcium diffusion process is presented in Fig. 8A and B, which show the calcium content of the outermost 10% (first sanding), the next 10% (second sanding), and the remaining 80% of the endosperm as a function of the steeping time for three different temperatures. The calcium increase in the endosperm outermost layer of these maize kernels for 0–15 hr of steeping time was ≈300%. The calcium content is temperature-dependent. If the cooking temperature increases, the Ca content also increases for all steeping time treatments. In Fig. 7, it is also possible to identify two different slopes for samples cooked at 82 and 92°C. The first slope is dependent on the physical state of the pericarp (Figs. 5 and 6).

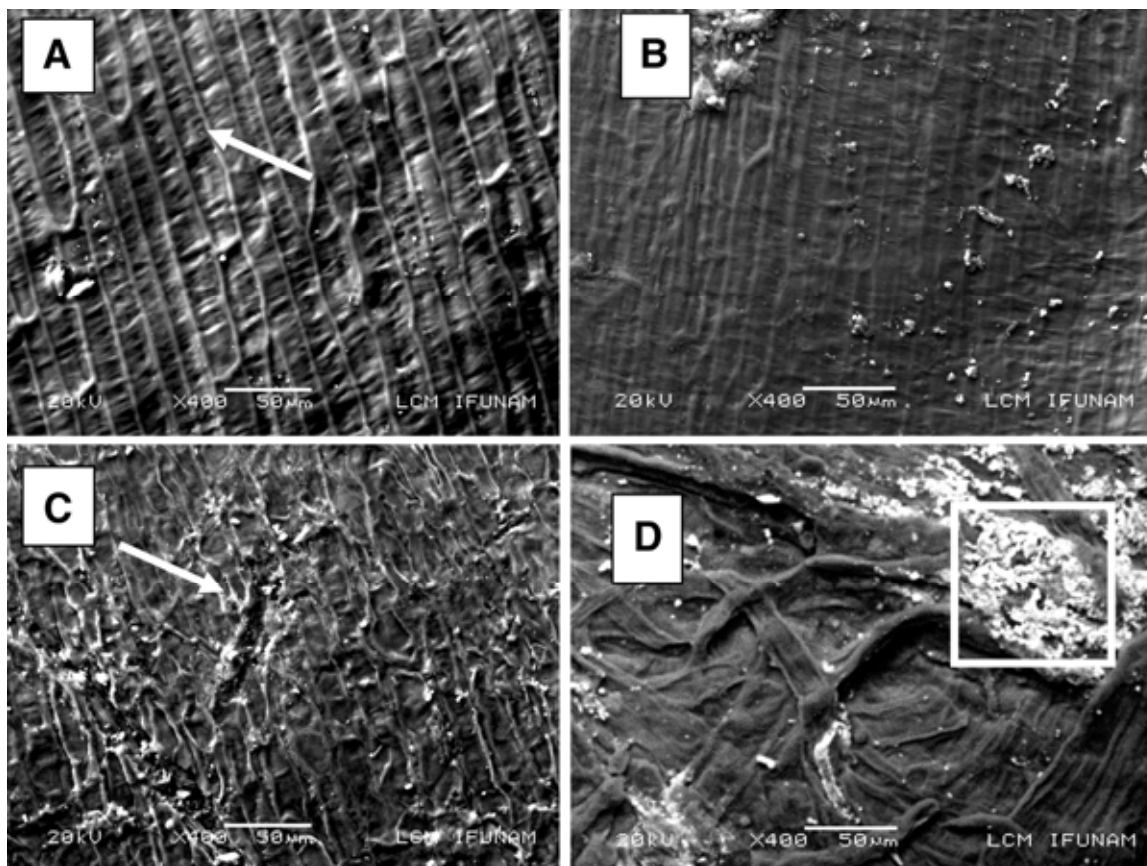


Fig. 5. SEM images of the pericarp fraction of QPM H-368C corn kernels cooked at 92°C (1% lime, w/v). **A**, Pericarp without thermal treatment; **B**, 0 hr; **C**, 1 hr; and **D**, 3 hr of steeping time, respectively.

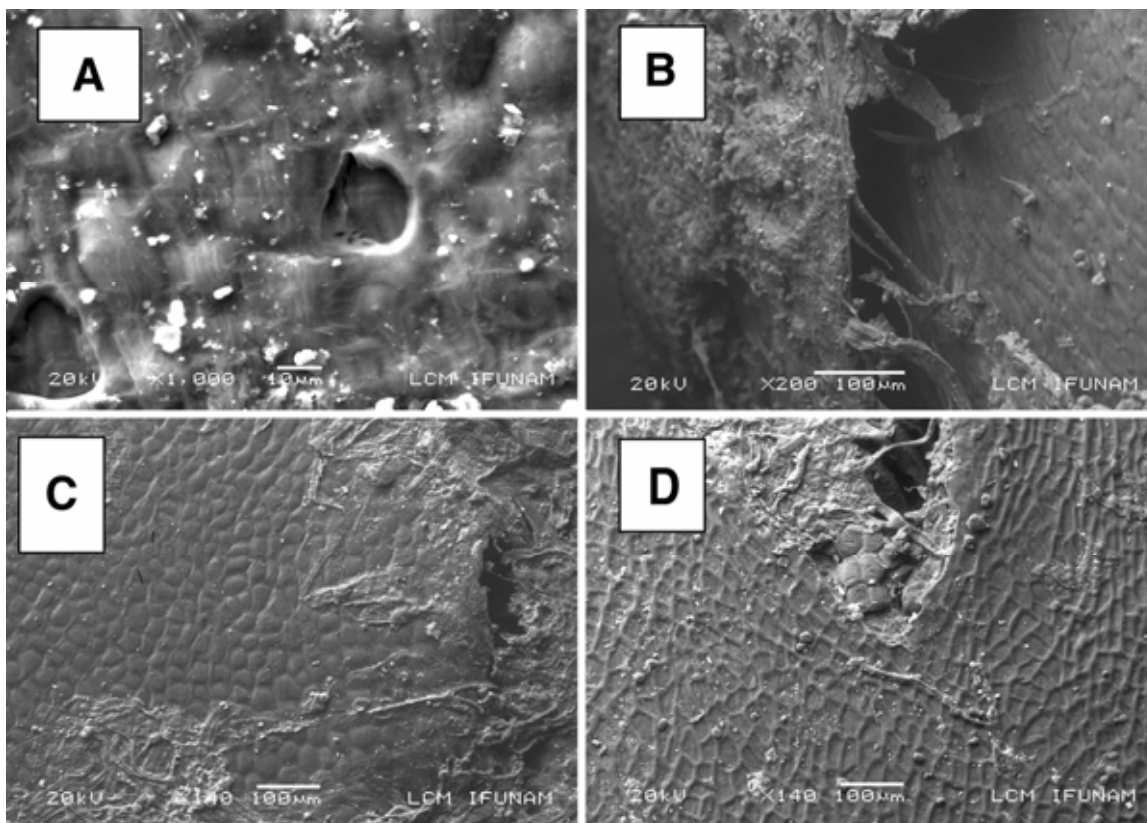


Fig. 6. SEM images of pericarp and endosperm fractions of QPM H-368C corn kernels cooked at 92°C (1% lime, w/v). **A–D**, Steeping times of 3, 5, 7, and 9 hr .

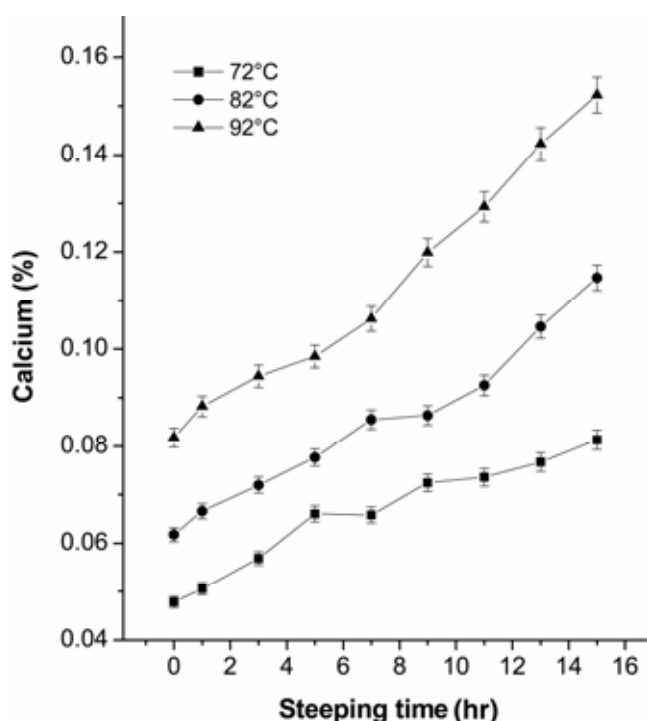


Fig. 7. Calcium content in the endosperm as a function of the steeping time for samples cooked at 72, 82, and 92°C using the traditional nixtamalization process (1% lime, w/v).

By inspecting the nixtamalized maize kernels (0–3 hr), it is possible to see how the pericarp is covering the whole grain. After this time, part of the pericarp structure disappears as result of the degradation of the pericarp. Then the external layers of the endo-

sperm have free access to the alkaline solution. The Ca diffusion process increases in the outermost layers, which increases the Ca content. At 72°C, the Ca content increases in an almost linear way and because the pericarp does not exhibit significant changes (degradation), there is little dry matter loss. The dry matter loss as a function of the temperature decreases if the temperature decreases; the maximum value for each treatment was 2.75 ± 0.23 , 3.45 ± 0.21 , and 3.67 ± 0.19 for 72, 82, and 92°C, respectively.

Figure 8 shows important information about the nutrition of the calcium in the endosperm which is present in only 20% of this structure (outer layers) because in the remaining 80% there are no considerable changes. It is well known that proteins are present in the endosperm so the possible interaction with calcium is located only within this 20% of the structure. X-ray preliminary results show that the crystalline quality of the most external layers of the endosperm (mainly amylose and amylopectin) disappears as a result of the nixtamalization process. The remaining 80% shows the characteristic starch pattern.

The calcium content in the germ as a function of the steeping time is presented in Fig. 9. In this case, if the cooking temperature increases, the calcium content increases as well. Comparing Figs. 7 and 8, it is clear that the amount of calcium present in the germ (w/w) is more than the concentration found in the endosperm. For all temperatures studied, there is a drop in the calcium concentration for steeping times of 3 and 5 hr for temperature treatments of 92 and 72°C, respectively. The loss in the calcium content in the germ can be explained. The tubular cells in the pericarp are connected to the germ and have an important function in the water-calcium distribution and conduction. During the nixtamalization process and after the saturation of calcium in the germ, the tubular cells could distribute the excess from the germ to the pericarp and endosperm (Serna-Saldívar 1996). For longer steeping times, the increase in the calcium content could be related to the formation of salts and the interaction with the fatty acids

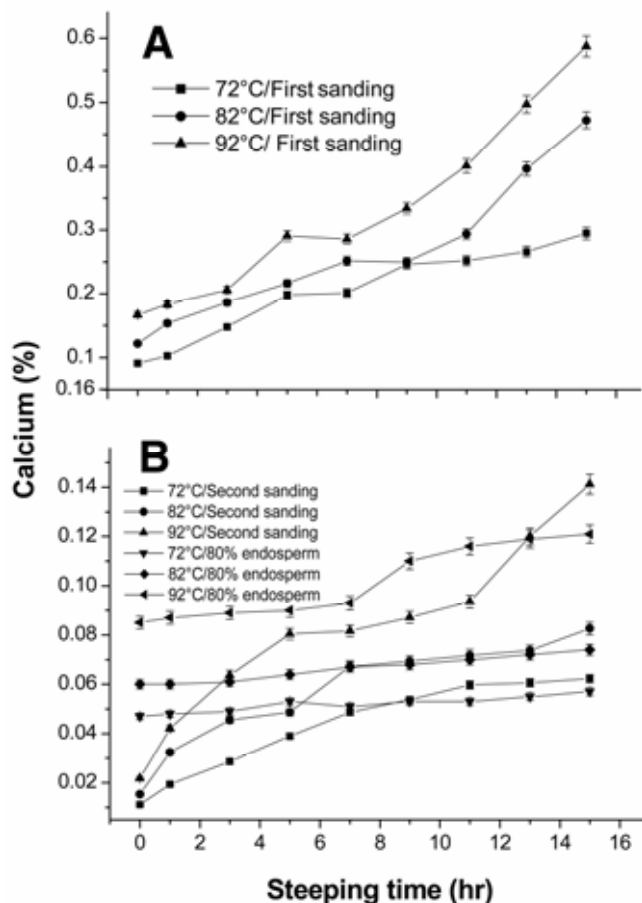


Fig. 8. A, Calcium content of outermost 10% of the endosperm. B, Ca content in the next 10%, and remaining endosperm as a function of steeping time for samples cooked at 72, 82, and 92°C (1% lime, w/v).

CONCLUSIONS

The calcium ion diffusion in the maize kernels is a temperature-dependent process that is governed by physicochemical changes of its structures, mainly by the changes in the pericarp. For all temperature treatments studied, the water and calcium ion diffusion are associated with changes in the most external structures (pericarp). After a characteristic time, in which the percolation process occurs in the pericarp, simultaneous water and calcium diffusion in the endosperm and germ take place. For short steeping times, the increases in calcium content in germ and endosperm are associated with the entrance of calcium to the tip cap (Zazueta et al 2002). An important feature in this study is the loss of calcium in the pericarp for longer steeping times that is associated with dry matter loss due to the unfolding of the pericarp structures. For long steeping times, the increase in calcium content in endosperm is associated with the diffusion of ions through the internal layers. A detailed study of the calcium diffusion in the endosperm shows that calcium is present only in the most external layers (20% of endosperm). This means that during nixtamalization, the changes in this 20% of the endosperm could play an important role in the functional and nutritional properties of the final product.

The study of calcium amounts present in the maize kernels as a function of the steeping time and cooking temperature is very important from a nutritional point of view. As seen in Fig. 3, the longer steeping times in nixtamalized products result in loss of mineral and fiber content. For each treatment, the highest point of the curve (peak) of the calcium content could reflect an optimal steeping time per treatment to produce tortilla with adequate calcium content.

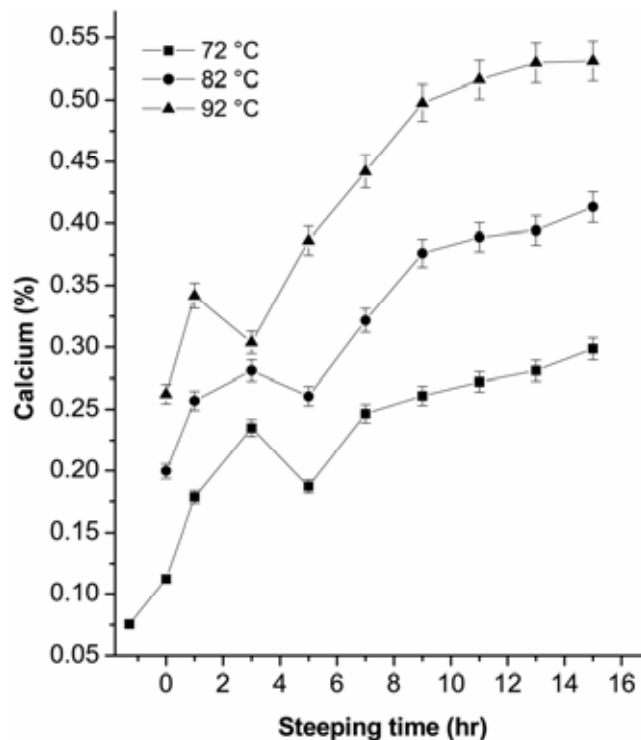


Fig. 9. Calcium content of germ as a function of steeping time for all cooking temperatures (1% lime, w/v).

The reduced dry matter loss for QPM H-368C (<3.7%) makes this kind of corn suitable for production of nixtamalized products with better nutritional properties than those from normal corn cultivars. Plugfelder et al (1988) found total losses of normal corn dry matter of 8.5–12.5%. Minor values for dry matter loss for QPM cultivars were related to the pericarp that is not completely removed during cooking and steeping (Sproule et al 1988). These results indicate that the increase in the cooking temperature produces a high calcium value in nixtamalized corn flours, which means that the Ca/P ratio also increases. The Ca/P ratios for these samples were 0.752 ± 0.03 , 0.886 ± 0.06 , and 0.995 ± 0.04 for 72, 82, and 92°C, respectively. Finally, because the nixtamalization process occurs in an over-saturated condition (Fernández et al 2004), the calcium water solubility does not play an important role in this process.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was partially supported by CONCyTEQ, Querétaro, México. We want to thank M en C. Ma. del Pilar Fernández Lomelín (Instituto de Geografía-UNAM), M en C. Roberto Hernández Reyes (Instituto de Física-UNAM), I. A. Maria de los Angeles Cornejo (FES-C-UNAM), I. B. Araceli Aguilera (FCN-UAQ) for technical support, and Benito Juárez (Seminis-Monsanto, USA) for comments and revision on this report.

LITERATURE CITED

- AACC International. 2000. Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists, 10th Ed. Methods 08-01, 30-25, and 46-13. The Association: St. Paul, MN.
- AOAC. 1998 Official Methods of Analysis, 16th Ed. Method 968.08. The Association of Official Analytical Chemists: Gaithersburg, MD.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis, 17th Ed. Method 965.17. The Association of Official Analytical Chemists: Gaithersburg, MD.
- Billeb, A. C., and Bressani, R. 2001. Características de cocción por nixtamalización de once variedades de maíz. Archivos Latinoamericanos de Nutrición 51:86-94.
- Bressani, R., Elías, L. G., and Gómez, R. A. 1969. Protein quality of Opaque-2 corn. Evaluation in rats. J. Nutr. 97:173-180.

- Bressani, R., Benavides, B., Acevedo, E., and Ortíz, M. A. 1990. Changes in selected nutrient contents and in protein quality of common and quality-protein maize during rural tortilla preparation. *Cereal Chem.* 67:515-518.
- Bryant, C. M., and Hamaker, B. R. 1997. Effect of lime on gelatinization of corn flour and starch. *Cereal Chem.* 74:171-175.
- Cramer, C. F. 1968. Effect of Ca-P ratio and pH on calcium and phosphorus absorption from dog gut loops in vivo. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 46:171-173.
- Fernández-Muñoz, J. L., Rodríguez, M. E., Baños, L., Martínez, J. L., Martínez-Flores, H. E., Pless, R., and Leal, M. 2002. Changes in nixtamalized corn flour dependent of the postcooking time. *Cereal Chem.* 79:162-166.
- Fernández-Muñoz, J. L., Rojas-Molina, I., González-Davalos, M. L., Leal, M., Valtierra, M. E., San Martín-Martínez, E., and Rodríguez, M. E. 2004. Study of calcium ion diffusion in components of maize kernels during traditional nixtamalization process. *Cereal Chem.* 81:65-69.
- González, R., Reguera, E., Mendoza, L., Figueroa, J. M., and Sánchez-Sinencio, F. 2004. Physicochemical changes in the hull of corn grains during their alkaline cooking. *Food Chem.* 52:3831-3837.
- Hurtado-Castañeda, D., Fernández, J., Gutiérrez, E., Rojas-Molina, I., Fernández-Muñoz, J. L., and Rodríguez, M. E. 2005. The diffusion of calcium ion into the organic layers studied by a differential photoacoustic system. *J. Phys. IV.* 125:833-836.
- Martínez-Bustos, F., Morales, S. E., Chang, Y. K., Herrera-Gómez, A., Martínez, J. J., Baños, L., Rodríguez, M. E., and Flores, M. H. 1999. Effect of infrared baking on wheat flour tortilla characteristics. *Cereal Chem.* 76:491-495.
- Martínez-Flores, H. E., Figueroa, J. D., Martínez-Bustos, F., González-Hernández, J., Rodríguez-García, M. E., Baños-López, L., and Garnica-Romo, M. G. 2002. Physical properties and composition of femurs of rats fed with diets based on corn tortillas made from different processes. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 53:155-162.
- Paredes-López, O., and Sarharopulos, M. E. 1982. Scanning electron microscopy of limed corn kernels for tortilla making. *J. Food Technol.* 17:687.
- Plugfelder, R. L., Rooney, L. W., and Waniska, R. D. 1988. Dry matter losses in commercial corn masa production. *Cereal Chem.* 65:127-132.
- Rodríguez, M. E., Yáñez-Limón, J. M., Cruz-Orea, A., Alvarado-Gil, J. J., Zelaya-Ángel, O., Sánchez-Sinencio, F., Vargas, H., Figueroa, J. D. D., Martínez-Bustos, F., González-Hernández, J., Martínez-Montes, J., and Miranda, L. C. M. 1995. The influence of the slake content on the processing conditions of cooking tortilla: Changes in thermal structural rheological properties. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 201:236-240.
- Rodríguez, M. E., Yáñez-Limón, J. M., Alvarado-Gil, J. J., Sánchez-Sinencio, F., Figueroa, F., Martínez, B. F., González-Hernández, J., Silva, M. D., and Miranda, L. C. M. 1996. Influence of the structural changes during alkaline cooking on the thermal, rheological, and dielectric properties of maize tortillas. *Cereal Chem.* 73:593-600.
- Serna-Saldívar, S. O. 1996. Morfología y estructura química. Page 37 in: *Almacenamiento e Industrialización de Los Cereales*. Published by AGT: México.
- Serna-Saldívar, S. O., Gomez, M. H., Islas-Rubio, A. R., Bockholt, A. J., and Rooney, L. W. 1992. The alkaline processing properties of quality protein maize. Pages 273-293 in: *Quality Protein Maize*. E. T. Mertz, ed. AACC International: St. Paul, MN.
- Sproule, A. M., Saldívar, S. O., Bockholt, A. J., Rooney, L. W., and Knabe, D. A. 1988. Nutritional evaluation of tortillas and tortilla chips from quality protein maize. *Cereal Foods World* 33:233-236.
- Trejo-González, A., Feria-Morales, A., and Wild-Altamirano, C. 1982. The role of lime in the alkaline treatment of corn for tortilla production. Modifications of proteins: Food, nutritional, and pharmacological aspects. Pages 245-263 in: *Advances in Chemistry*. R. E. Freney and J. R. Whitaker, eds. ACS: Washington, DC.
- Whiting, S. J., Boyle, J. L., Thompson, A., Mirwald, R. L., and Faulkner, R. A. 2002. Dietary protein, phosphorus and potassium are beneficial to bone mineral density in adult men consuming adequate dietary calcium. *J. Am. Coll. Nutr.* 21:402-409.
- Zazueta, C. C., Ramos, G., Fernández-Muñoz, J. L., Rodríguez, M. E., Acevedo-Hernández, G., and Pless, R. C. 2002. A radioisotopic study of the entry of calcium ion into the maize kernels during nixtamalization. *Cereal Chem.* 79:500-503.

[Received February 27, 2006. Accepted November 9, 2006.]

Estudio de la difusión del ión calcio en nixtamalización de maíz con alta calidad proteínica en función de la temperatura de cocción

**E. Gutiérrez^{1,2,4}, I. Rojas-Molina^{3,4}, J. L. Pons-Hernández⁵, H. Guzman⁵, B. Aguas-Angel²,
J. Arenas⁶, Pilar Fernández⁷, A. Palacios-Fonseca⁴, G. Herrera¹ y M. E. Rodríguez⁷**

¹Posgrado en Ingeniería, Universidad Autónoma de Querétaro, Cerro de las Campanas S/N, Querétaro, México.

²Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Departamento de ingeniería y Tecnología, Laboratorio Experimental Multidisciplinario III, Alimentos, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Cuautitlán, Cuautitlán, México.

³Facultad de Ciencias Naturales, Licenciatura en Nutrición, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México.

⁴Posgrado en Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Cuautitlán, Cuautitlán, México.

⁵Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, Campus Celaya, Celaya, Guanajuato, México.

⁶Instituto de Física, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.

⁷Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Juriquilla, Querétaro, C.P. 76230, A.P. 1-1010, C.P. 76000, México

*Corresponding author: Mario E. Rodríguez García

Teléfono 52-442-2381141, fax: 52 442 2381165, E-mail marioga@fata.unam.mx

RESUMEN.

En este trabajo se presenta el efecto de la temperatura en el contenido de calcio en una variedad de maíz con alta calidad proteínica (QPM H-368C) durante el proceso de nixtamalización en función del tiempo de reposo para tres temperaturas de cocción 72, 82 y 92 °C. También se reporta por primera vez en términos fisicoquímicos, el final de la etapa de cocción durante el proceso de nixtamalización, el cual fue establecido cuando el contenido de humedad en los granos de maíz alcanzó un valor del 36% (p/p) con una concentración de calcio de 1% (p/v) independientemente de la temperatura empleada durante el tiempo de cocción. Se utilizó la técnica de espectroscopia de absorción atómica para determinar la concentración de calcio en el grano entero y en sus diferentes componentes anatómicos: pericarpio, endospermo y germen, así como en el 10% de las capas más externas, el siguiente 10% y el 80% remanente del endospermo en función del tiempo de reposo. Se encontró que si la temperatura de cocción se incrementa, el contenido de calcio también aumenta. Para los tiempos de cocción en el rango de 5 a 7 h, se observó un máximo relativo en el contenido de calcio de 0.24, 0.21 y 0.18% p/p en las harinas de maíz QPM H-368C para las temperaturas de 92, 82 y 72 °C respectivamente. En el caso del endospermo, el calcio se determinó en las capas más externas. También se detectó una mínima difusión de calcio en las capas más internas del endospermo que corresponde al 80% del peso del grano. Además se cuantificó el contenido de fósforo por espectrofotometría U-V y los resultados mostraron que este permanece constante con un valor del 0.24% a través del proceso. También se llevaron a cabo análisis por microscopía electrónica para explicar la difusión del ión calcio al interior del grano. Se observó que los cambios físicos en el pericarpio gobiernan el proceso de difusión del calcio.

INTRODUCCIÓN.

La cantidad de calcio que se incorpora en el grano de maíz (pericarpio, germen y endospermo) durante el proceso de nixtamalización, es muy importante por varias razones: la interacción entre el calcio y los diferentes componentes del grano determina las propiedades fisicoquímicas y sensoriales de los productos: masa, tortillas y harinas instantáneas de maíz (Paredes-López y Sarharopulos, 1982). Por otra parte, desde el punto de vista nutricional, es bien conocido que la cantidad de Ca y especialmente la relación Ca/P es muy importante para la formación de la masa ósea (Whiting et al, 2002). Desde el punto de vista fisicoquímico este tema es importante porque la difusión del calcio, en el caso de los tejidos biológicos, es un proceso cinético que es dependiente de la temperatura.

Durante el proceso de nixtamalización el contenido de calcio en los granos de maíz aumenta desde 0.06% en el grano de maíz nativo hasta más de 0.1% (p/p en base seca) en los granos de maíz nixtamalizados después de 12 h de reposo (Trejo-González et al. 1982) y mayor que 0.32% (p/p) en base seca, Fernández-Muñoz et al. 2004) para un tiempo de reposo de 24 h. Los cambios en el contenido de calcio están asociados con las propiedades fisicoquímicas de los productos nixtamalizados. Rodríguez et al; (1995, 1996) encontraron cambios en la difusividad térmica, textura, patrones de difracción de rayos X (calidad cristalina relativa) y propiedades en el espectro infrarrojo en función del contenido de calcio. En las tortillas el contenido de calcio varía de 0-0.25% (p/p). La difusividad térmica, el pico de viscosidad y la cristalinidad se incrementó cuando el contenido de calcio también aumentó. Una tendencia opuesta se observó para un contenido de calcio mayor que 0.25%. Durante el proceso de nixtamalización ocurre una difusión simultánea de agua y calcio, la cual afecta las propiedades fisicoquímicas del producto final, Bryant et al; (1997) estudió el poder de hinchamiento, la capacidad de retención de agua y el grado de gelatinización del maíz cocido en agua con cal. Se encontró que a bajas concentraciones (0.2% p/v a temperatura de 85 °C), la cal incrementó el hinchamiento y la digestibilidad del almidón, pero estas propiedades disminuyeron cuando se utilizaron concentraciones de hidróxido de calcio más altas (0.8 y 1.0% p/v a 85 °C). Fernández-Muñoz et al; (2002) demostraron que la variación en el contenido de calcio en las harinas instantáneas de maíz elaboradas a diferentes tiempos de reposo es el resultado de un proceso cinético de difusión simultáneo, el cual tiene lugar en el pericarpio, endospermo y germen.

La difusión de calcio durante el reposo no es un proceso lineal y las transformaciones en las propiedades estructurales y reológicas en función del tiempo de reposo, tampoco presentan una dependencia lineal. Zazueta et al; (2002) llevaron a cabo una descripción cualitativa detallada de la difusión del calcio al interior del grano de maíz durante el proceso de nixtamalización. Estos investigadores utilizaron una técnica basada en la utilización de calcio 45 para mostrar una imagen

detallada de la absorción de calcio en los granos de maíz en función del tiempo de reposo para granos de maíz enteros y dañados. Detectaron que ocurre una difusión casi simultánea del ión calcio en el pericarpio, endospermo y germen durante el proceso de nixtamalización en función del tiempo de reposo. Así mismo, este estudio demostró que la incorporación del calcio no procede a la misma velocidad en todos los granos, el cual puede ocurrir de manera abrupta en los granos de maíz que presentan un daño significativo.

Fernández-Muñoz et al; (2004) estudió la difusión del ión calcio en diferentes estructuras anatómicas del grano de maíz (pericarpio, endospermo y germen) durante el proceso de nixtamalización tradicional en función del tiempo de reposo (0 a 24 h) para muestras sometidas a una temperatura de 92 °C. Empleó la técnica de espectroscopia de absorción atómica para cuantificar el calcio; estos investigadores observaron que el contenido de calcio en las harinas instantáneas, pericarpio, endospermo y germen no presentó una relación lineal con el tiempo de reposo. También reportaron que el contenido de calcio mostró un valor máximo después de 9 h de reposo. El análisis de las diferentes estructuras anatómicas del grano nixtamalizado mostró que para tiempos cortos de reposo (0-5 h), la difusión del calcio tiene lugar principalmente en el pericarpio. La difusión de calcio en el endospermo y el germen ocurrió de manera gradual a tiempos prolongados de reposo. También encontraron que el estado físico de los granos (granos fracturados y rotos) aceleró el proceso de difusión. De acuerdo con estos resultados la difusión del calcio ocurre primero en el pericarpio, enseguida en el endospermo y germen. En este trabajo también presentaron una descripción detallada del contenido de calcio en el endospermo y observaron que los iones calcio se localizan principalmente en las capas más externas de esta estructura. Recientemente González et al; (2004) estudiaron las transformaciones fisicoquímicas en el pericarpio durante el proceso de nixtamalización (etapa de cocción) a 80 °C. Estos investigadores encontraron que durante la cocción alcalina de los granos de maíz, las fracciones de hemicelulosas y lignina del pericarpio se disuelven, transfiriéndose al licor de cocción (nejayote). También reportaron que el pericarpio tiene la habilidad de retener Ca a través de la interacción con los grupos ácidos de la hemicelulosa.

En los trabajos subsecuentes, los estudios están enfocados en valores de temperatura individuales desde 72 hasta 92 °C. Sin embargo, existen muy pocas publicaciones relacionadas con los cambios en las propiedades fisicoquímicas de los granos de maíz nixtamalizados y el contenido de calcio en función de la temperatura de cocción. Hurtado-Castañeda et al; (2005) emplearon la técnica de espectroscopia de fotoacústica diferencial para estudiar "*in situ*" el proceso de difusión simultáneo de agua y calcio en el pericarpio de maíz con alta calidad proteínica (QPM H-368C) en función de la temperatura de cocción (72, 82 y 92 °C) durante esta etapa, en donde los resultados demostraron que la incorporación de agua y calcio en los granos de maíz bajo las mismas condiciones de saturación con $\text{Ca}(\text{OH})_2$, son dependientes de la temperatura y que esta difusión se incrementa cuando la temperatura aumenta. En este trabajo se monitoreo en tiempo real los cambios relacionados con la remoción de la hemicelulosa y la lignina. El contenido de calcio en los granos de maíz y en cada una de sus estructuras (pericarpio, endospermo y germen) depende de sus transformaciones fisicoquímicas durante el proceso térmico-alcalino (Fernández-Muñoz et al. 2004). Estas modificaciones tienen una fuerte dependencia con las condiciones del proceso, además en la literatura, no hay referencias relacionadas con la misma variedad de maíz sometido a diferentes condiciones de temperatura.

En el caso de México y América Central la principal fuente de Ca y P en la dieta es la tortilla. Está ampliamente documentado que la relación Ca/P es un factor importante para la formación de los huesos. Se han llevado a cabo un gran número de experimentos en donde se ha demostrado que una dieta con una relación de calcio-fósforo en el rango de 0.66 a 1.0 dan lugar al desarrollo de síntomas patológicos así como a una salud ósea deficiente (Cramer, 1968). La relación de Ca/P ideal en la dieta humana está en el rango de 1 a 1.5 con el propósito de mantener una densidad mineral ósea en los adultos (Whiting et al. 2002). Por esta razón, la cantidad de Ca que se incorpora a los granos de maíz durante el proceso de nixtamalización representa un área de investigación muy importante. Martínez-Flores et al; (2002) estudiaron las propiedades físicas y la composición del fémur de ratas alimentadas con una dieta a base de tortillas de maíz elaboradas con maíz con y sin cal. Estos investigadores observaron que el fémur de las ratas alimentadas con tortillas nixtamalizadas tenían mayor peso, eran más resistentes, largos y duros comparados con el fémur de las ratas alimentadas con maíz crudo.

En el caso de los productos de maíz nixtamalizados, la concentración de P permanece casi constante durante todo el proceso (Bressani et al. 1969). Sin embargo, la incorporación de Ca principalmente

durante la etapa de reposo, es muy importante para mejorar la relación Ca/P y esta alcance valores cercanos a 1 o mayores. En el presente trabajo se muestra un análisis cuantitativo de la difusión del ión calcio en las estructuras anatómicas de los granos de maíz (pericarpio, endospermo y germen) durante el proceso tradicional de nixtamalización en función del tiempo de reposo (desde 0 hasta 15 h) para tres temperaturas diferentes (72, 82 y 92 °C). Mediante el empleo de la técnica de microscopía electrónica de barrido, se estudiaron las transformaciones estructurales del pericarpio en función del tiempo de reposo, lo anterior con el propósito de desarrollar un modelo fenomenológico para la difusión de los iones de calcio en los granos de maíz. Adicionalmente, se utilizó un sistema computarizado con control de temperatura para asegurar la reproducibilidad y la repetibilidad de los resultados.

MATERIALES Y MÉTODOS.

Material QPM

El maíz híbrido con alta calidad proteínica (QPM H-368C) fue desarrollado por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) y el Centro de Investigación para el Mejoramiento del Maíz y el Trigo (CIMMYT). El maíz se sembró en el mes de mayo del 2004 en la estación experimental Bajío del INIFAP localizado en Celaya, Guanajuato, México. El manejo de la cosecha se llevó a cabo de acuerdo a las recomendaciones del INIFAP. Las mazorcas se cosecharon de manera manual en Noviembre del 2004 y el grano se almacenó a 4 °C hasta su empleo.

Composición Química

El contenido de humedad de los granos de maíz, antes y durante la etapa de cocción se determinó empleando el método 925.10 del AOAC (1990). El contenido de cenizas, proteína y extracto etéreo se analizó con los métodos 08-01,4613 y 30-25 del AACC (200); todos los análisis se realizaron por triplicado.

Determinación de endospermo córneo y harinoso

Para determinar el contenido de endospermo corneo y harinoso en los granos de maíz, se removieron de manera manual el pericarpio y el germen después de remojar 100 gramos de maíz en agua destilada durante tres horas, posteriormente los granos de maíz se secaron a 40 °C durante dos horas, se realizó la remoción del endospermo suave o harinoso mediante un instrumento de precisión dental utilizando una punta de diamante de baja velocidad (COA internacional USA) la relación endospermo corneo/harinoso se calculó pesando cada uno de los tipos de endospermo

Determinación de la dureza del grano de maíz y del endospermo

La dureza del grano de maíz y del endospermo se determinó en 100 granos empleando un analizador de textura (modelo TA-XT2 Texture Technologies Corp. Fairview Road, Scarsdale, N.Y.) para determinar la fuerza de rompimiento requerida para fracturar los granos. La misma prueba se llevó a cabo para determinar la dureza del endospermo córneo y el endospermo harinoso. El área bajo la curva de la fuerza de deformación utilizada para fracturar los granos, se analizó con un software para análisis de textura como fue reportado por Martínez-Bustos et al.(1999).

Preparación de las harinas instantáneas

Con el fin de mantener un mejor control del proceso de nixtamalización durante las etapas de cocción y de reposo, así como para demostrar la reproducibilidad de las muestras, se desarrolló un Proceso de Nixtamalización con Control de Temperatura (NCCP) con el propósito de controlar la temperatura de cocción y para monitorear la temperatura durante la etapa de cocción y de enfriamiento en tiempo real. La Figura 1A muestra el esquema representativo del sistema. T1 y T2 indican los termopares empleados para controlar la temperatura del sistema y T3 y T4 son los termopares utilizados para monitorear la temperatura del reservorio, los cuales retroalimentan la información al sistema de control de temperatura. Los datos de los termopares T1, T2, T3 y T4 son recolectados empleando un puerto RS232 en interfase con una computadora personal. La Figura 1B muestra la temperatura del tratamiento térmico alcalino de los granos de maíz durante la cocción (primera etapa) y el reposo (segunda etapa) para la muestra control 0,1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 y 15 horas a 72 °C/60 min. La primera parte de la figura corresponde a la etapa de calentamiento hasta que la muestra alcanza la temperatura de referencia 72 °C (región I). En la segunda parte de esta figura, la temperatura permanece constante hasta que la humedad de la muestra alcanza valores entre 34 - 36% (tiempo de cocción), la cual se determinó al finalizar la etapa de cocción (Región II).

Después de este tiempo, se apagó el sistema de calentamiento y los granos permanecieron en el licor de cocción (definición del tiempo de reposo) marcado como región III. El mismo procedimiento se llevó a cabo para las muestras cocidas a 82 y a temperatura de 92 °C.

En la etapa inicial de cocción del proceso de nixtamalización, de cada muestra se preparó cocinando 3 Kg de granos de maíz QPM H-368C en una solución de 6 L de agua destilada y 30 g de hidróxido de calcio que corresponde el 1% (grado alimenticio, Fermont, Monterrey, N.L., México) en base al peso de maíz. Los granos de maíz se adicionaron al reservorio y se calentaron hasta alcanzar la temperatura de referencia para cada tratamiento. Subsecuentemente, la muestra permaneció en el reservorio a esta temperatura, cada una a un tiempo específico de cocción. Después de la etapa de cocción, el sistema se apagó y la temperatura disminuyó gradualmente. Los cambios en la temperatura fueron monitoreados hasta que la muestra alcanzó el tiempo de reposo previamente establecido y enseguida inicia el drenado y el lavado de los granos.

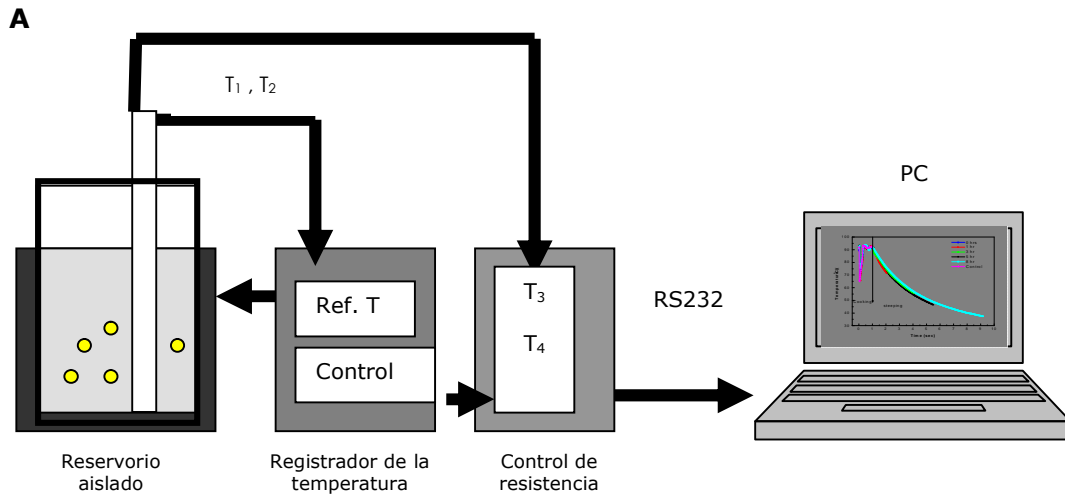


Figura 1
A. Control computarizado usado para muestras nixtamalizadas

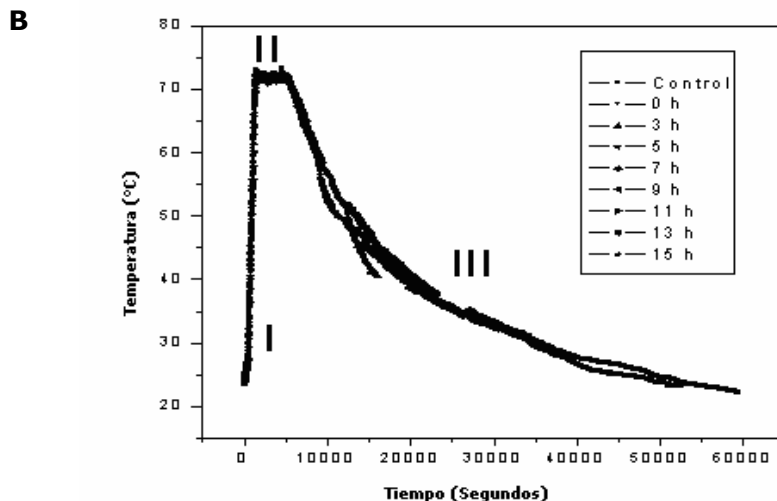


Figura 1
B. Historia térmica del tratamiento térmico y tiempo de reposo de muestras cocidas a 72 °C por 60 min con un contenido de humedad de 36% con una concentración de 1% (p/v) de Ca. La región I corresponde al inicio de la cocción; región II corresponde a la temperatura de cocción constante; y la región III del enfriamiento durante el tiempo de reposo

Los granos de maíz se cocieron a 72, 82 y 92 °C durante 65, 40 y 25 minutos respectivamente. Después de la cocción se suspendió el calentamiento y los granos de maíz fueron reposados a diferentes tiempos desde 0 hasta 15 horas. El licor de cocción (nejayote) se drenó y las muestras de nixtamal se lavaron dos veces consecutivas con agua en una relación 2:1 (v/p) y con una agitación de los granos en el agua de lavado durante 1 minuto. Después del proceso de lavado y drenado, se molieron 2.6 Kg de la muestra en un molino de piedras (FUMASA, M100, Querétaro) hasta obtener la masa y posteriormente se deshidrató utilizando un horno de vacío. Las condiciones de secado se ajustaron a una temperatura de 40 °C durante 8 horas. A continuación el material se pulverizó con un molino de martillos (PULVEX 200, México DF. México) equipado con una malla de 0.8 mm.

Los 0.4 Kg de maíz remanentes, procedentes de cada muestra fueron utilizados para determinar el contenido de calcio en las diferentes estructuras anatómicas del grano de maíz. El pericarpio, endospermo y germen de los granos lavados fueron separados manualmente y secados en un horno con flujo de aire a 40 °C durante 8 h (cada uno de los componentes alcanzó un contenido de humedad final del 12%). Puesto que el endospermo constituye aproximadamente el 80% del grano total, el 10% de las capas más externas y el subsiguiente 10% del endospermo no dañado de los granos de maíz, se removieron de manera manual, cada uno de los granos se lijó por 5 de sus 6 caras con una lija de metal (Fandeli, SicB-99, 1200, USA) y siguiendo el procedimiento descrito por Fernández et al; (2004).

Espectroscopia de Absorción Atómica

El pericarpio, endospermo y el germen provenientes de una muestra conformada por 200 g de granos lavados se separaron manualmente. El primer raspado (10%), segundo raspado (10%) y el 80% remanente de los endospermos fueron analizados para determinar su contenido de calcio y presentar un esquema más detallado de la difusión del calcio en esta estructura. El contenido de calcio en las harinas instantáneas de maíz, en las diferentes estructuras anatómicas del grano (pericarpio, endospermo y germen), así como en las distintas capas del endospermo en función del tiempo de reposo y en el pericarpio durante la etapa de cocción, se determinó con el método 968.08 de la AOAC (1998). La concentración de calcio se determinó con un espectrofotómetro de doble cátodo (Analyst 300 Perkin Elmer, USA) equipado con una lámpara de deuterio, un corrector de respaldo y una lámpara de cátodo hueco. Las condiciones de operación del equipo fueron: 12 PSI de aire seco, 70 PSI de acetileno, una flama a 422.7 nm, lámpara con 10 Ma de corriente y con una apertura de 0.7 nm. El fósforo se determinó de acuerdo con el método 965.17 de la AOAC (2000).

Caracterización de las muestras de maíz

Los análisis de la morfología y la composición del pericarpio para cada muestra se llevaron a cabo con la técnica de microscopía electrónica de barrido a bajo vacío, LV-SEM, JSM 5600LV, con una resolución de 5 nm en el modo de bajo vacío, ajustado con un espectrómetro de rayos X con energía de dispersión (Noran instrument, model Voyager 4.2.3). Las muestras de maíz se colocaron en el portamuestras de aluminio adheridas con cinta de carbón. Los análisis se efectuaron con las siguientes condiciones en el equipo: un voltaje de aceleración electrónica de 20 kV, con una presión en el rango de 12-20 Pa en la cámara de la muestra, las imágenes se obtuvieron en la superficie a partir de la señal electrónica de barrido.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos a partir de los experimentos fueron estadísticamente analizados utilizando el programa Statgraphics (Graphics Software System, STCC, Inc. USA). Las comparaciones entre los tratamientos se realizaron con un análisis de varianza (ANOVA) y con la prueba de rangos múltiples con una probabilidad $p < 0.05$. En donde se estudio el efecto de la temperatura de cocción y el tiempo de reposo en el contenido de calcio en las harinas instantáneas de maíz nixtamalizado.

RESULTADOS.

La composición química de los granos de maíz fue como sigue: contenido de humedad $12.1\% \pm 0.10$, contenido de cenizas, proteína y extracto etéreo fue $1.34\% \pm 0.05$, $6.66\% \pm 0.25$ y $5.12\% \pm 0.08$ respectivamente. El contenido de cenizas y extracto etéreo en el maíz QPM H-368C está cercano a los datos previamente reportados para una variedad de maíz QPM amarillo, estos valores son de 1.5% y 4.8% respectivamente (Serna et al. 1992). Por el contrario el contenido de proteína en esta variedad QPM es menor con respecto a una variedad de maíz QPM blanco (10.4%) y amarillo (9.5%),

reportado por los mismos autores y para el maíz QPM Nutricia (10%) y una variedad de maíz normal (9.4%) observado por Bressani et al; (1990). Sin embargo un valor similar (6.5%) fue reportado para otro híbrido de maíz QPM (CML176xCML186) cultivado en la estación experimental del INIFAP región Bajío. El valor promedio para la dureza de 100 granos de maíz fue de 14.82 ± 1.34 Kg. También la dureza del endospermo córneo y harinoso se determinó en los mismos granos. Los valores fueron de 12.44 ± 1.11 y 7.99 ± 1.24 Kg respectivamente.

La figura 2A muestra el contenido de humedad en los granos de maíz en función del tiempo de cocción y la figura 2B muestra este mismo parámetro en función del tiempo de reposo.

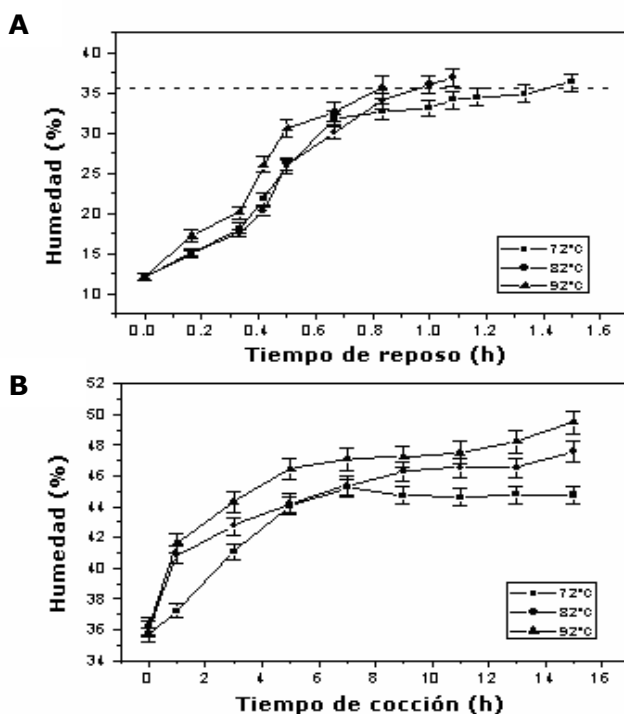


Figura 2
A. Contenido de humedad en granos de maíz en función de la temperatura de cocción
B. Contenido de humedad en granos de maíz en función al tiempo de reposo (1% Ca)

Es importante señalar que al final de la etapa de cocción la humedad alcanzó un valor constante ($35.5\% \pm 1.43$), independientemente de la temperatura y el tiempo de cocción, este valor se correlacionó con la remoción parcial del pericarpio. Este último es un criterio comúnmente utilizado por los operadores para indicar el final de la etapa de cocción. La Figura 2B muestra que el valor de humedad máximo que se alcanzó en los tiempos de reposo mas largos (15 horas) fueron: 44.8, 47.6 y 49.5% para 72, 82 y 92 °C respectivamente. Estos resultados están acorde con lo señalado por Billeb et al; (2001). Estos investigadores reportaron un valor de humedad promedio para 11 variedades de maíz después de 12 horas de remojo (después de la nixtamalización) de 47.9% para muestras cocidas a 92 °C. La Figura 2B también indica que la difusión de agua es dependiente de la temperatura, es decir, a medida que la temperatura de cocción aumenta, la absorción de agua también se incrementa, este aspecto está relacionado con la permeabilidad del pericarpio la cual se discutirá en las siguientes secciones.

En la figura 3 se muestra el contenido de calcio para las harinas de maíz nixtamalizadas elaboradas a tres diferentes temperaturas (72, 82 y 92 °C) en función del tiempo de reposo (0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 y 15 horas), mediante el método tradicional de nixtamalización. El contenido de calcio en el grano nativo fue de 0.06% (p/p).

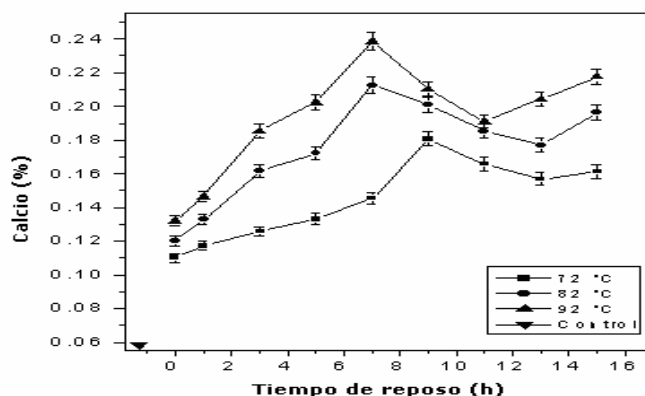


Figura 3. Contenido de Ca en harinas de maíz nixtamalizada en función del tiempo de reposo para muestras a temperaturas de 72, 82 y 92 °C (1% Ca, p/v) y para muestra de control (sin Ca) usando el proceso tradicional de nixtamalización

Se observó que el contenido de calcio en las muestras procesadas a 72, 82 y 92 °C presentan el mismo perfil, estos resultados están acorde con los datos publicados por Fernández *et al*; (2004) quienes determinaron el contenido de calcio en harinas de maíz variedad Toluca nixtamalizadas a 92 °C. Se detectó un valor máximo en el contenido de calcio de 0.24, 0.21 y 0.18% p/p para la temperatura de 92, 82 y 72 °C respectivamente. Serna *et al*; (1991) también describieron un incremento en el contenido de calcio en el grano de maíz nativo procesado y transformado en tortilla desde 0.01% hasta 0.16% respectivamente. Empleando un modelo fenomenológico, Fernández *et al*; (2002, 2004) concluyeron que la difusión de los iones de calcio al interior del grano de maíz durante la nixtamalización no es un proceso lineal, debido a la morfología del grano. Lo anterior significa que el grano de maíz debe considerarse como un sistema multicapa (pericarpio-germen-endospermo), cuyas estructuras muestran propiedades fisicoquímicas diferentes. Por esta razón, en las siguientes secciones se reporta el contenido de calcio en el pericarpio, germen y endospermo en función del tiempo de reposo, así como el contenido de Ca^{2+} en las capas más externas del endospermo (10% con respecto al peso total del endospermo), las capas subsiguientes (correspondientes al siguiente 10%) y finalmente, en el 80% remanente. En el presente trabajo también se muestra un estudio detallado realizado con la técnica de microscopía electrónica de barrido a bajo vacío (LV-SEM), para demostrar los cambios en el estado físico del pericarpio, que podrían explicar el fenómeno de difusión de calcio durante el proceso la nixtamalización.

Los cambios en el contenido de calcio en función del tiempo de reposo se presentan en la Figura 3, los cuales pueden explicarse empleando dos tendencias o esquemas. La primera de ellas comprende desde las 0 h de reposo hasta el valor máximo detectado en el contenido de calcio para cada temperatura, en la cual probablemente la difusión de los iones de calcio tiene lugar en el pericarpio, las capas más externas del endospermo y germen. La segunda tendencia, comprende a partir de este valor máximo hasta las 15 h de reposo, en donde la difusión de iones de calcio tiene lugar únicamente en el endospermo y el germen (ver Figura 3). Estas tendencias, pueden subdividirse a su vez en dos regiones. Para la primera tendencia en el caso de las muestras sometidas a 92 °C, esta subdivisión está relacionada con los cambios en la pendiente en el contenido de calcio contra tiempo de reposo. En el segundo esquema en la primera región, el contenido de calcio disminuye y posteriormente se incrementa. A partir de esta figura para todas las temperaturas evaluadas, es posible observar que presentan el mismo perfil. A medida que la temperatura del tratamiento se incrementa, el contenido de calcio también aumenta. Un punto importante es el hecho de que el valor máximo relativo al final del primer esquema para cada temperatura, se desplaza a tiempos de reposo más prolongados, cuando la temperatura del tratamiento disminuye. Para las muestras sometidas a 92 °C, en los tiempos iniciales de reposo ($0 < t < 7$ h), se pueden distinguir dos tipos de pendientes, para $0 < t < 3$ h y para $3 < t < 7$ h. El incremento en la primera región es debido a la difusión de los iones de calcio en el pericarpio y después de un tiempo crítico característico (**tc**), este incremento se atribuye a la percolación del pericarpio. En todos los casos durante el primer esquema, es interesante observar que a medida que la temperatura de cocción se incrementa, hay un desplazamiento en el contenido

máximo de calcio hacia tiempos de reposo mas reducidos. Este tiempo crítico **tc** está relacionado con la permeabilidad parcial (percolación) del pericarpio. Lo anterior significa que a este tiempo característico para esta etapa del proceso, la solución alcalina promueve cambios fisicoquímicos en la estructura del pericarpio, permitiendo la entrada directa de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y agua hacia el germen y el endospermo. Si se compara la figura 2 y la figura 3, es posible establecer que la difusión de agua y calcio presentan cinéticas diferentes. En la figura 2, también es posible establecer que la entrada de agua hacia el interior de los granos de maíz es dependiente del tiempo. Como se puede observar en la figura 3, este desplazamiento es dependiente de la temperatura. Después de este tiempo característico, los iones de calcio tienen libre acceso para su difusión hacia las capas más externas del endospermo y germen. Sin embargo, es importante recordar de acuerdo con Zazueta *et al*; (2002), que la entrada de calcio hacia el interior del grano también tiene lugar a través de la cofia directamente hacia el germen. Fernández *et al*; (2002, 2004) calculó este parámetro para muestras elaboradas a 72 y 92 °C resultando de 3.5 y 5.21 h respectivamente, además observaron que el **tc** se incrementa a medida que la temperatura también aumenta. Los resultados del presente trabajo sugieren que este parámetro tiene una tendencia opuesta. Los valores de **tc** calculados de acuerdo con la metodología descrita por Rodríguez *et al*; (1996), para cada tratamiento resultaron de 6.7, 4.46 y 3.2 h para 72, 82 y 92 °C respectivamente. La discrepancia en los resultados con los trabajos anteriormente señalados, podría estar relacionada con la preparación de la muestra, o bien, a las características que presentan los granos de maíz las cuales son diferentes para cada variedad. Por otro lado, Hurtado *et al*; (2005) demostraron que la difusión simultánea de iones de calcio y agua durante la etapa de cocción son dependientes de la temperatura. Durante la etapa de cocción, este fenómeno ocurre a tiempos de cocimiento reducidos para las muestras procesadas a altas temperaturas (92 °C). Estos resultados podrían atribuirse a la entrada de agua hacia el interior del grano de maíz y a la remoción de la capa cerosa que cubre al pericarpio y a los cambios que ocurren en sus estructuras. En el segundo esquema la disminución en el contenido de calcio observada para $7 < t < 11$ h, tal como fue reportada anteriormente (Fernández *et al*. 2004) está relacionada con la pérdida de materia seca, principalmente debido a la pérdida de pericarpio. El incremento en la última sección del segundo esquema, está relacionado con la fijación de calcio en las capas internas del endospermo y el germen.

El incremento en el contenido de calcio en función de la temperatura para las harinas instantáneas de maíz nixtamalizado, podría estar relacionado con las transformaciones fisicoquímicas en las distintas estructuras anatómicas del grano de maíz, principalmente en el pericarpio, que representa la capa que está directamente expuesta a la solución alcalina (nejayote). Estas suposiciones fueron corroboradas con estudios de SEM-LV en el pericarpio que se muestran en las siguientes secciones. Con el propósito de obtener un conocimiento más fidedigno del proceso de difusión del calcio en el grano, fue necesario estudiar el proceso de difusión en cada una de las estructuras morfológicas de los granos de maíz nixtamalizados. El contenido de calcio para las harinas de maíz nixtamalizadas mostrado en la Figura 3, es el resultado de un proceso de difusión de iones de calcio al interior del grano, el cual ocurre de manera casi simultánea en el pericarpio, el endospermo y el germen. Por esta razón es necesario estudiar el proceso de difusión en cada una de estas estructuras de manera individual.

La figura 4 muestra el contenido de calcio en el pericarpio en función del tiempo de reposo, para los granos de maíz tratados a 72, 82 y 92 °C, así como para las muestras correspondientes al control (sometidas al tratamiento térmico alcalino en ausencia de $\text{Ca}(\text{OH})_2$).

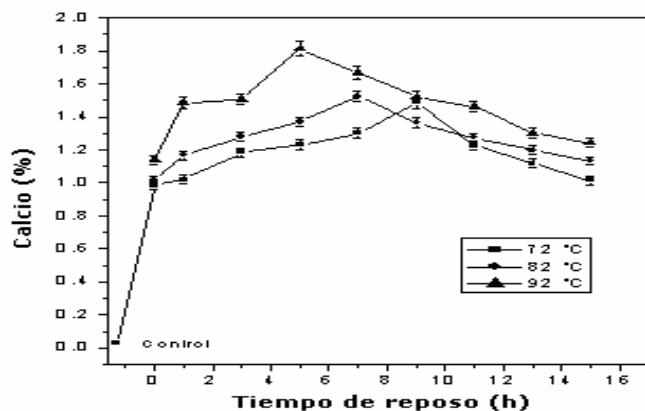


Figura 4. Contenido de calcio en el pericarpio en función del tiempo de reposo para granos de maíz nixtamalizados a 72, 82 y 92 °C (1% de Ca, p/v)

Es importante enfatizar que se detectó un valor máximo en el contenido de calcio, así como un desplazamiento de este pico a tiempos largos de reposo a medida que la temperatura disminuye. Empleando el mismo esquema que en la sección anterior, en los tiempos iniciales de reposo, el incremento en el contenido de calcio pudiera atribuirse a la habilidad del pericarpio para fijar calcio (González et al. 2004) y a la capacidad de estructura para retener agua y calcio en el interior de los microporos que se forman durante el proceso térmico-alcalino. La disminución en el contenido de calcio es debido a la pérdida de las capas más externas del pericarpio y a su remoción durante el proceso de lavado (segundo esquema). Con el propósito de corroborar estos resultados, se llevó a cabo un análisis con microscopía electrónica de barrido de bajo vacío de las transformaciones morfológicas que se presentan en el pericarpio durante la etapa de reposo para las muestras cocidas a 92 °C que se presentan en la siguiente sección.

En la figura 5 A, B, C y D se presentan las imágenes obtenidas por SEM del pericarpio del maíz objeto de estudio en diferentes periodos de la etapa de reposo.

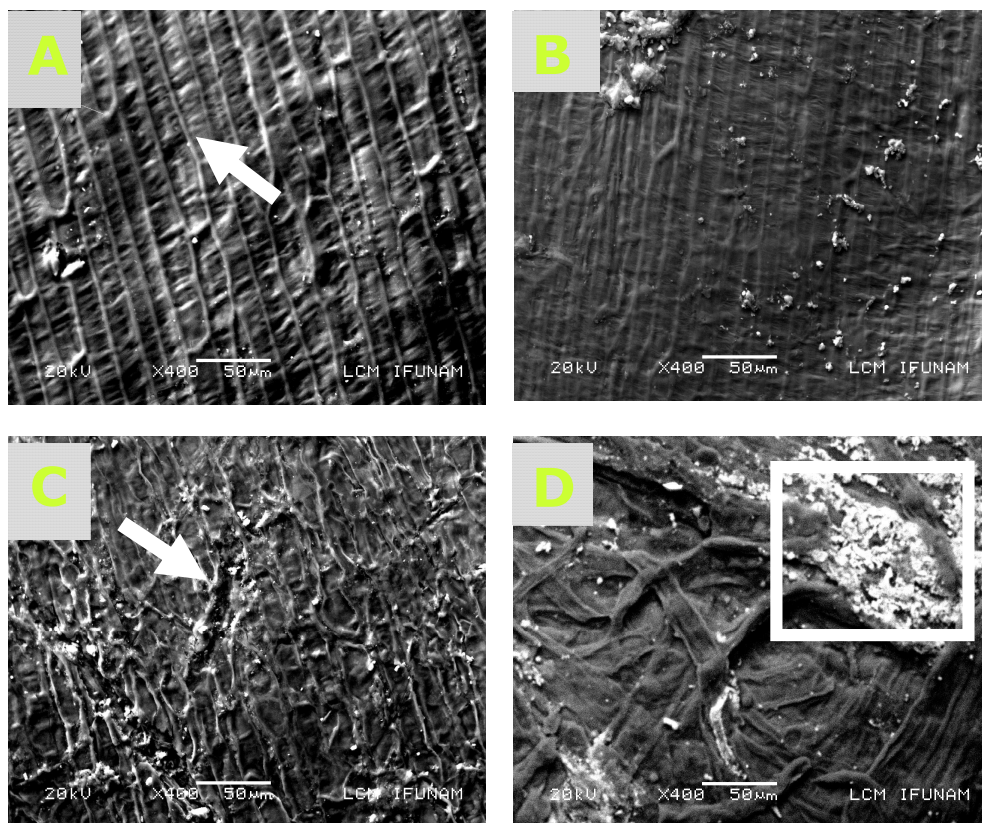


Figura 5 Imágenes obtenidas por microscopía electrónica de barrido (SEM) del pericarpio de QPM H-368C con granos de maíz cocidos a 92°C (1%, p/v)

- A. Pericarpio de maíz nativo sin tratamiento térmico**
- B. 0 hr**
- C. 1 hr**
- D. 3 hr de tiempo de reposo respectivamente**

La figura 5A es una imagen que corresponde al pericarpio del grano de maíz nativo, es decir, sin ningún tratamiento, en el cual es posible observar que las capas más externas de esta estructura, están formadas por fibras diagonales unidireccionadas. Estas fibras están constituidas principalmente de celulosa, hemicelulosa y lignina. La figura 5B muestra el aspecto que presenta el pericarpio al final de la etapa de cocción. La capa delgada que cubre al pericarpio (epidermis), la cual es una capa cerosa, desaparece como resultado del tratamiento térmico-alcalino (Hurtado et al. 2005), y las fibras unidireccionadas comienzan a entrar en un proceso de degradación. De acuerdo con un microanálisis elemental llevado a cabo con la técnica de SEM de bajo vacío, las áreas blancas en la superficie del

pericarpio están relacionadas con compuestos de calcio que fueron identificados por difracción de rayos X como cristales de carbonato de calcio.

La figura 5C muestra el estado del pericarpio para las muestras correspondientes a 1 h de reposo. Es posible observar el inicio del proceso de desfoliación del pericarpio (ver flecha blanca). La figura 5D corresponde a las 3 h de reposo, en donde la capa de células cruzadas se hace visible y también la acumulación de carbonato de calcio se incrementa en las capas más internas del pericarpio (ver cuadrado blanco). Un estudio más detallado en el tejido del pericarpio para este tiempo característico muestra la existencia de microporos. Los microporos detectados en el tejido del pericarpio (Figura 6A, 3 h, 1000X) para esta temperatura característica, corroboran el hecho de que ocurre la percolación del pericarpio lo que constituye en conjunto rutas que permiten la libre entrada de calcio y agua hacia el interior del grano de maíz.

Este hecho explica los cambios en la pendiente y el incremento en la concentración de Ca en los periodos iniciales de la etapa de reposo.

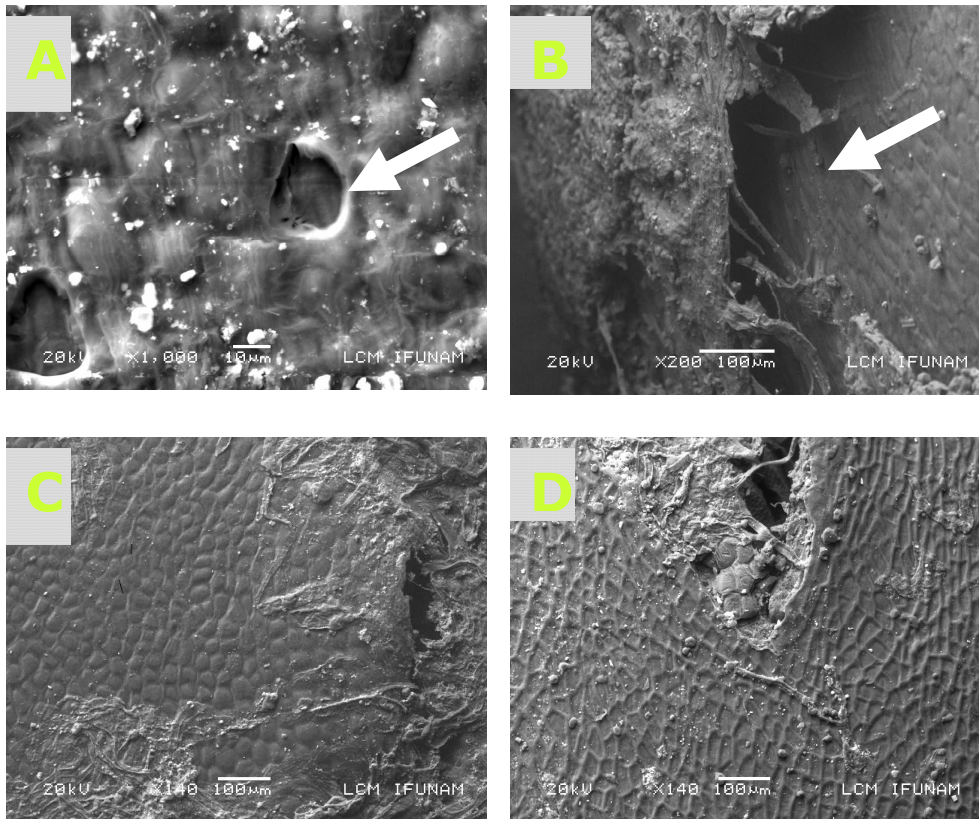


Figura 6. Imágenes de pericarpio y endospermo en granos de maíz QPM H.368C nixtamalizados a 92 °C (1% Ca, p/v) diferentes horas de reposo, A-D, tiempos de reposo de 3, 5, 7 y 9 hr

La figura 6B muestra el estado del pericarpio y el endospermo para las 5 h de reposo (200X) la pérdida de pericarpio es evidente así como la separación entre el pericarpio y el endospermo, de modo que las capas más externas del endospermo se hacen visibles. De acuerdo con la figura 4, ocurre una pérdida en el contenido de calcio presente en el pericarpio para tiempos prolongados de reposo, esto es en parte atribuido a la pérdida de materia seca. La figura 6C muestra el estado del pericarpio/endospermo a las 7 h de reposo (140X). Los macroporos presentes en el endospermo son debido a la interacción directa entre los componentes del endospermo y la solución alcalina, principalmente la matriz proteínica; sin embargo, algunas capas delgadas del pericarpio aún permanecen unidas al endospermo. A las 9 h de reposo, en la figura 6D (140X), los macroporos incrementan su tamaño permitiendo la entrada de Ca y agua a las capas más internas del endospermo y germen. El efecto del proceso de lavado es evidente en la superficie del pericarpio y del endospermo. Las imágenes subsiguientes obtenidas por SEM son representativas de los cambios físicos de las estructuras externas

de los granos de maíz, los cuales son importantes para un análisis cuantitativo futuro, relacionado con el proceso de difusión del calcio, debido a que ellas representan las condiciones iniciales para determinar la difusión de agua y calcio en el grano.

La figura 7 muestra el contenido de calcio en el endospermo total en función del tiempo de reposo para las tres temperaturas estudiadas. Nuevamente el contenido de calcio se incrementa en función de la temperatura casi en forma lineal. Está claro que la difusión en el endospermo está gobernada por los cambios en el pericarpio de acuerdo con los estudios de SEM mostrados en las figuras 5 y 6. Correlacionando las figuras 2, 3 y 4, se puede concluir que el proceso de difusión de agua y calcio en el grano de maíz durante la etapa de reposo, está gobernado por las transformaciones que ocurren en el pericarpio.

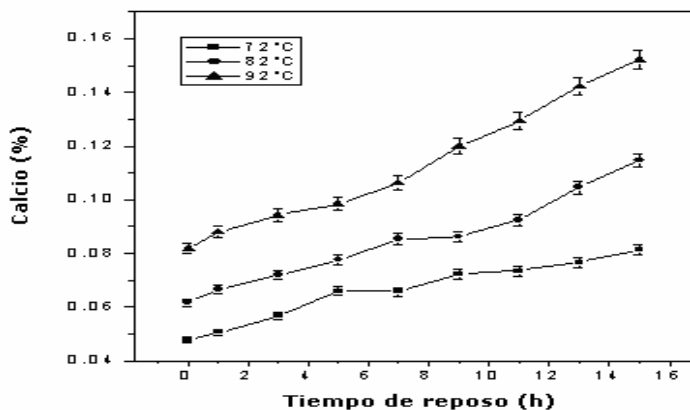


Figura 7. Contenido de calcio en el endospermo total en función del tiempo de reposo para muestras cocidas a 72, 82 y 92 °C usando el proceso tradicional de nixtamalización (1% Ca, p/v)

El endospermo representa aproximadamente el 86% del grano de maíz, por esta razón, es importante determinar cuantitativamente la concentración de calcio en función del grosor del endospermo. En la figura 8A y B se presenta una descripción más detallada del proceso de difusión del calcio en esta estructura.

Esta figura representa el contenido de calcio en las capas más externas del endospermo (10% correspondiente al primer raspado), el siguiente 10% (segundo raspado) y el 80% remanente del endospermo en función del tiempo de reposo para las tres temperaturas. El incremento en el contenido de calcio en las capas más externas del endospermo para los granos de esta variedad de maíz, desde 0 hasta 15 h de tiempo de reposo fue alrededor del 300%. El contenido de calcio es dependiente de la temperatura. A medida que la temperatura de cocción se incrementa el contenido de calcio también aumenta para los tiempos de reposo en todos los tratamientos. En la figura 7 también es posible identificar dos pendientes diferentes para las muestras sometidas a 82 y 92 °C. La primera pendiente es dependiente del estado físico del pericarpio, de acuerdo con las figuras 5 y 6. A través de la inspección de los granos de maíz nixtamalizados (0 a 3 h), es posible observar como el pericarpio está recubriendo al grano entero. Después de este tiempo, parte de la estructura del pericarpio desaparece como resultado de la degradación del pericarpio. Es entonces cuando las capas externas del endospermo tienen libre acceso a la solución alcalina y el proceso de difusión del calcio se incrementa en las capas más externas, dando como resultado el incremento en el contenido de calcio. En el caso de la temperatura de 72 °C, el contenido de calcio se incrementa casi en forma lineal, debido a que el pericarpio no presenta cambios significativos (degradación) y además, hay muy poca pérdida de materia seca. La pérdida de materia seca en función de la temperatura, se reduce si la temperatura también disminuye. El valor máximo observado para cada tratamiento fue de $2.75\% \pm 0.23$, $3.45\% \pm 0.21$ y $3.67\% \pm 0.19$ para 72, 82 y 92 °C respectivamente.

La figura 8 es muy importante desde el punto de vista nutricional, porque demuestra que el calcio en el endospermo, está presente únicamente en el 20% de esta estructura (capas más externas), ya que en el 80% remanente no se observaron cambios significativos. Está ampliamente documentado que las proteínas están presentes en el endospermo, por lo tanto su posible interacción con el calcio se circunscribe únicamente en el 20% de esta estructura. Los resultados preliminares obtenidos por

difracción de rayos X, muestran que la calidad cristalina de las capas más externas del endospermo, constituidas principalmente por amilosa y amilopectina desaparece o se reduce, como resultado del proceso de nixtamalización, en tanto que en el 80% remanente es posible identificar el patrón característico del almidón.

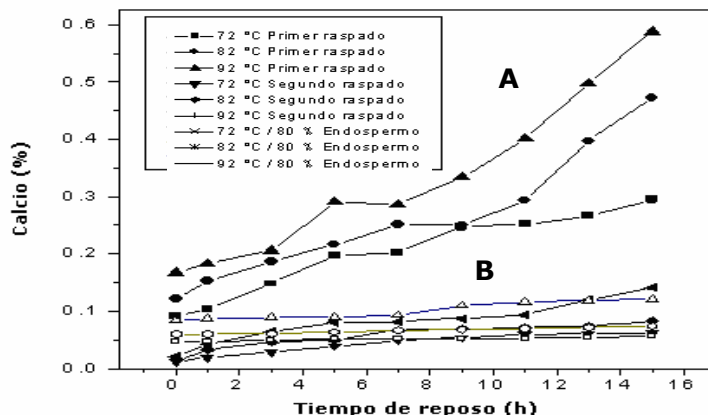


Figura 8.
A. Contenido de Ca en el endospermo en función del tiempo de reposo en el 10% del endospermo (capas mas externas),
B. Contenido de Ca en el 10% siguiente y en el 80% remanente, para muestras cocidas a 72, 82 y 92 °C (1% Ca, p/v)

El contenido de calcio en germen en función del tiempo de reposo se muestra en la figura 9.

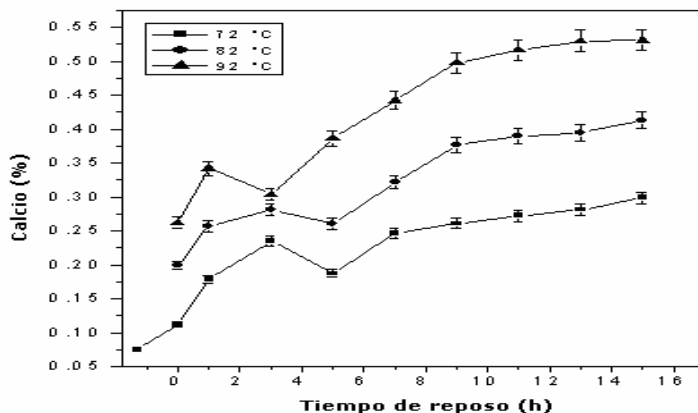


Figura 9. Contenido de calcio en el germen en función del tiempo de reposo para todas las temperaturas de cocción (1% Ca, p/v)

En este caso en la figura 9, si la temperatura de cocción se incrementa también el contenido de calcio aumenta. Comparando las figuras 8 y 9, es evidente que la cantidad de calcio presente en el germen (p/p) es mayor que la observada en el endospermo. Para todas las temperaturas estudiadas ocurre una disminución en la concentración de calcio para los tiempos de reposo comprendidos entre 3 y 5 h, para los tratamientos correspondientes a 92 y 72 °C respectivamente. La pérdida en el contenido de calcio en el germen se puede explicar como sigue: las células tubulares en el pericarpio están conectadas con el germen y tienen una función muy importante en la distribución y conducción de agua y calcio. Durante el proceso de nixtamalización y después de que ocurre la saturación del germen con el calcio, las células tubulares podrían distribuir el exceso de Ca desde el germen al pericarpio y al endospermo (Serna-Saldívar, 1996). Para tiempos de reposo más prolongados el incremento en el contenido de Ca podría estar relacionado con la formación de sales y la interacción con los ácidos grasos.

CONCLUSIONES.

La difusión del ión calcio en los granos de maíz es un proceso dependiente de la temperatura, el cual está gobernado por las transformaciones fisicoquímicas de sus estructuras, principalmente por las modificaciones que experimenta el pericarpio. Para todos los tratamientos estudiados, la difusión de agua y calcio están asociados con los cambios o transformaciones en las estructuras más externas (pericarpio). Después de un tiempo de reposo característico en el cual ocurre el proceso de percolación del pericarpio, tiene lugar la difusión simultánea de agua y calcio en el endospermo y el germen. Para periodos de reposo reducidos el incremento en el contenido de calcio en el germen y el endospermo está asociado con la entrada de calcio a través de la cofia (Zazueta et al. 2002). Un aspecto importante en este trabajo es el hecho de que la pérdida de calcio en el pericarpio para periodos de reposo más prolongados, está asociado con la pérdida de materia seca, debido a la defoliación de las estructuras del pericarpio. También para periodos prolongados de reposo el incremento en el contenido de calcio en el endospermo, está relacionado con la difusión de los iones hacia las capas más internas. Un estudio más detallado de la difusión del calcio en el endospermo, muestra que el calcio está presente únicamente en las capas más externas (20% del endospermo). Lo anterior significa que durante el proceso de nixtamalización los cambios que ocurren en esta fracción del endospermo, podrían representar un papel muy importante en las propiedades funcionales y nutritivas del producto final.

El estudio de la cantidad de calcio presente en los granos de maíz en función del tiempo de reposo y de la temperatura de cocción es muy importante desde el punto de vista nutricional. De acuerdo con la figura 3, los tiempos más prolongados en los productos nixtamalizados tienen como resultado la pérdida de calcio y una reducción en el contenido de fibra. Para cada tratamiento, el punto más alto de la curva (pico) en el contenido de calcio podría reflejar un tiempo de reposo óptimo para cada tratamiento para elaborar tortillas con un contenido de calcio adecuado. La reducción en la pérdida de materia seca para el maíz QPM H-368C (menor al 3.7%), permiten que esta variedad de maíz sea apropiada para elaborar productos nixtamalizados con mejores propiedades nutritivas que aquellos elaborados con las variedades de maíz normal, Plugfelder et al. (1988) encontraron pérdidas totales de materia seca para variedades de maíz normal de 8.5 hasta 12.5%. Los valores más reducidos en la pérdida de materia seca observados para las variedades de maíz QPM, estuvieron relacionados con el pericarpio, el cual no es removido totalmente durante la cocción y el reposo (Sproule et al. 1988). De acuerdo con estos resultados el incremento en la temperatura de cocción da lugar a un contenido de calcio más alto en las harinas de maíz nixtamalizadas, lo que significa que la relación Ca/P también se incrementa. La relación Ca/P observada para estas muestras fue de 0.752 ± 0.03 , 0.886 ± 0.06 y 0.995 ± 0.04 para 72, 82 y 92 °C respectivamente. Finalmente, dado que el proceso de nixtamalización se lleva a cabo bajo condiciones de sobresaturación (Fernández et al. 2004), la solubilidad de calcio en agua no desempeña un papel importante en este proceso.

AGRADECIMIENTOS.

Este trabajo fue apoyado de manera parcial por el CONCyTEQ, Querétaro, México. Expresamos nuestro agradecimiento a la M. en C. Ma. del Pilar Fernández Lomelín (Instituto de Geografía-UNAM), M. en C. Roberto Hernández Reyes (Instituto de Física-UNAM), I.A. Ma. de los Ángeles Cornejo (FES-C-UNAM), I.B. Araceli Aguilera (FCN-UAQ)] por su asesoría técnica y al Dr. Benito Juárez (Seminis-Monsanto, USA) por sus comentarios y la revisión de este artículo.

BIBLIOGRAFIA.

- AACC. 2000. American Association of Cereal Chemists. Approved Methods of the AACC. St. Paul, Mn.USA
- AOAC. 1998 Official methods of analysis. 16th Ed. Official method 968.08. Association of Official Analytical Chemists: Gaithersburg, M.D. USA
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th, Official Methods 965.17, 17th Ed. Gaithersburg, MD, USA.
- Billeb, A.C., Bressani, R. 2001. Características de cocción por nixtamalización de once variedades de maíz. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 51(1):86-94
- Bressani, R., Elías, L.G. and Gómez, R.A. 1969. Protein quality of Opaque-2 corn. Evaluation in rats. J. Nutr. 97: 173-180.
- Bressani, R., Benavides, B., Acevedo, E., Ortíz, M.A. 1990. Changes in selected nutrient contents and in protein quality of common and quality-protein maize during rural tortilla preparation. Cereal Chem. 67(6): 515-518.
- Bryant, C.M. and Hamaker, B.R. 1997. Effect of lime on gelatinization of corn flour and starch. Cereal Chem. 74: 171-175.
- Cramer, C. F. 1968. Effect of Ca-P ratio and pH on calcium and phosphorus absorption from dog gut loops *in vivo*. Can J Physiol Pharmacol. 46: 171-3.
- Fernández-Muñoz, J.L., Rojas-Molina, I., González-Davalos, M.L., Leal, M., Valtierra, M.E., San Martín-Martínez E., and Rodríguez, M. E. 2004. Study of calcium ion diffusion in components of maize kernels during traditional nixtamalization process. Cereal Chem. 81(1): 65-69.
- Fernández-Muñoz, J.L., Rodríguez, M.E., Baños, L., Martínez, J.L., Martínez-Flores H.E., Pless, R., and Leal, M. 2002. Changes in Nixtamalized corn flour dependent of the post-cooking time. Cereal Chem. 79 (1): 162-166.
- González, R., Reguera, E., Mendoza, L., Figueroa, J.M. and Sánchez-Sinencio, F., 2004. Physicochemical changes in the Hull of corn grains during their alkaline cooking. Food Chem. 52: 3831-3837.
- Hurtado-Castañeda, D., Fernández, J., Gutiérrez, E., Rojas-Molina, I., Fernández-Muñoz, J.L. and Rodríguez, M.E. 2005. The diffusion of calcium ion into the organic layers studied by a differential photoacoustic system. Journal de Physique IV: 125: 833-836.
- Martínez-Bustos, F., Morales, S.E., Chang, Y.K., Herrera-Gómez, A., Martínez, J.J., Baños, L., Rodríguez, M.E. and Flores, M. H. 1999. Effect of infrared baking on wheat flour tortilla characteristics. Cereal Chem. 76(4):491-495.
- Martínez-Flores, H.E., Figueroa, J.D., Martínez-Bustos, F., González-Hernández, J., Rodríguez-García, M.E. Baños-López, L. and Garnica-Romo, M.G. 2002. Physical properties and composition of femurs of rat fed with diets based on corn tortillas made from different processes. International Journal of Food Sciences and Nutrition. 53: 155-162.
- Paredes-López, O., and Sarharopulos, M.E. 1982. Scanning electron microscopy of limed corn kernels for tortilla marking. J. Food Technol. 17:687.
- Plugfelder, R.L., Rooney, L.W. and Waniska, R.D. 1988. Dry matter losses in commercial corn masa production. Cereal Chem. 65(2):127-132.
- Rodríguez, M.E., Yáñez-Limón, J.M., Cruz-Orea, A., Alvarado-Gil, J.J., Zelaya-Ángel, O., Sánchez-Sinencio, F., Vargas, H., Figueroa, J.D.D., Martínez-Bustos, F., González-Hernández, J., Martínez-Montes, J., and Miranda, L.C.M. 1995. The influence of the slake content on the processing conditions of cooking tortilla: changes thermals, structural rheological properties. Z. Lebensm Unsters Forsch. 201:236-240.
- Rodríguez, M.E., Yáñez-Limón, J.M., Alvarado-Gil, J.J., Sánchez-Sinencio, F., Figueroa, F., Martínez, B.F., González-Hernández, J., Silva, M.D., and Miranda, L.C.M. 1996. Influence of the structural changes during alkaline cooking on the thermal, rheological, and dielectric properties of maize tortillas. Cereal Chem. 73: 593-600.
- Serna-Saldívar S. O. 1996. Morfología y Estructura Química. Page 37 in: Almacenamiento e industrialización de los cereales. AGT, eds. México.
- Serna-Saldívar, S. O., Gomez, M. H., Islas-Rubio, A. R., Bockholt, A.J. and Rooney, L. W. 1992. The alkaline Processing Properties of Quality Protein Maize. Pages 273-293 in: Quality Protein Maize. E. T. Mertz, ed. American Association of cereal Chemists Inc.: St. Paul, MN. USA.

Sproule, A.M., Saldívar, S.O., Bockholt, A.J., Rooney, L.W. and Knabe, D.A. 1988. Nutritional evaluation of tortillas and tortilla chips from quality protein maize. *Cereal Foods World* 33: 233-236.

Trejo-González, A., Fera-Morales, A., and Wild-Altamirano, C. 1982. The role of lime in the alkaline treatment of corn for tortilla production. Modifications of proteins: Food, nutritional, and pharmacological aspects. Pages 245-263 in: *Advances in Chemistry*. R.E. Freney and J.R. Whitaker, eds. ACS: Washington, DC

Whiting, S. J., Boyle, J. L., Thompson, A., Mirwald, R. L. and Faulkner, R. A. 2002. Dietary protein, phosphorus and potassium are beneficial to bone mineral density in adult men consuming adequate dietary calcium. *J. Am. Coll. Nutr.* 21(5): 402-409.

Zazueta, C. C., Ramos, G., Fernández-Muñoz, J. L., Rodríguez, M. E., Acevedo-Hernández, G., and Pless, R.C: 2002. A radioisotopic study of the entry of calcium ion into the maize kernels during nixtamalization. *Cereal Chem.* 79:500-503.

ANEXOS.

Este trabajo fue presentado en los siguientes congresos con modalidad póster o presentación oral, cuyas constancias aparecen en las siguientes paginas.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
CENTRO DE FÍSICA APLICADA
Y TECNOLOGÍA AVANZADA



1er CONGRESO NACIONAL DE NIXTAMALIZACIÓN: DEL MAÍZ A LA TORTILLA
Santiago de Querétaro, Qro., México, 17 al 21 de Octubre del 2004

Otorgan la presente

CONSTANCIA

por su valiosa participación a:

Brenda Aguas Angel

Con el póster:

“Difusión de calcio en maíz QPM, durante el proceso de nixtamalización, en función del tiempo de reposo”


Dr. Mario Enrique Rodríguez García
Director del Congreso


Dr. Víctor Manuel Castaño Meneses
Director de CFATA-UNAM,



Certificado

Certificamos que

BRENDA AGUAS ANGEL

Apresentou o trabalho

CONTENIDO DE CA Y RELACIÓN CA:P EN HARINAS DE MAÍZ NIXTAMALIZADO EN FUNCIÓN DE LA TEMPERATURA DE COCCIÓN Y TIEMPO DE REPOSO

ROJAS M.J.I.; CORTÉS A.M; PONS J.L.; GUTIÉRREZ C.E.; AGUAS B.; RODRÍGUEZ G.M.; MIRANDA R.R; CORTÉS A.M.E.

durante a Sessão de Temas Livres Alimentos no **14º Congresso Latino-Americano de Nutrição** realizado de 12 a 16 de novembro de 2006

Brasil - Florianópolis, 16 de novembro de 2006



Julio Sérgio Marchini
Secretário



Hélio Vannucchi
Presidente





Santiago de Querétaro, Qro., México, 22 al 25 de Octubre del 2006

Mediante la presente se hace constar que el trabajo titulado:

Study of calcium ion diffusion in nixtamalized quality protein maize as a function of the cooking temperature and the steeping time.


Presentado por:

Brenda Aguas Angel

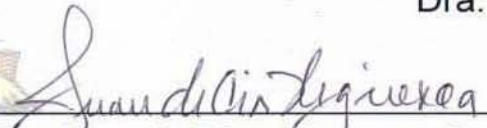
Fue presentado en el marco del congreso



Dr. Mario E. Rodríguez G.
Presidente



Dra. Maria Luisa Mendoza L.
Secretaria



Dr. Juan de Dios Figueroa C.
Vocal



3 CONGRESO INTERNACIONAL
DE INGENIERIA



La UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
a través de la FACULTAD DE INGENIERÍA otorga
el presente reconocimiento a

Brenda Aguas Angel

por haber participado como
modalidad póster

**“Estudio de la difusión de calcio en maíz con alta calidad
proteínica en función de la temperatura de cocción”**
en el 3er CONGRESO INTERNACIONAL DE INGENIERÍA.

Dr. Gilberto Herrera Ruiz
Director
Facultad de Ingeniería


Dra. Rocío Peniche Vera
Organizadora 3er Congreso
Internacional de Ingeniería


Dr. Eusebio Ventura Ramos
Jefe de la División de Posgrado
Facultad de Ingeniería