



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**

**EFFECTO DE LA TEMPERATURA Y TIEMPO DE
REPOSO EN EL CONTENIDO DE CALCIO Y
FOSFORO EN HARINAS DE MAIZ
NIXTAMALIZADO OBTENIDAS MEDIANTE EL
PROCESO DE NIXTAMALIZACION
TRADICIONAL**

ACTIVIDAD DE INVESTIGACION

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE :

INGENIERA EN ALIMENTOS

PRESENTA:

LAURA OLIVIA CAMPOS SOLIS

ASESOR: DRA. ELSA GUTIERREZ C.

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

2010



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.

DEDICATORIAS

A mi mami, *Olivia Solís* por su apoyo incondicional, gracias por enseñarme a ser mejor cada día y dar siempre lo mejor de mí sin importar la situación, eres una gran mujer y serás siempre la inspiración para alcanzar mis metas, gracias también por enseñarme que todo se aprende y que todo esfuerzo es al final recompensa. Tu esfuerzo, se convirtió en tu triunfo y el mío. I love you so much!

A mi papi, *Antonio Campos*, gracias por apoyarme en este logro tan importante, gracias por estar ahí, te adoro con todo mi corazón!

A mi hermana *Natalia Campos*, por ser la mejor hermana que alguien puede tener, y por siempre estar ahí cuando te necesito.

A la memoria de mis abuelos *Paty* y *Rafael*, porque fueron un gran ejemplo a seguir.

A mis tías *Gigi*, *Paty* y *Mony*, por su gran apoyo, gracias por enseñarme a luchar por lo que quiero y por haber formado una parte muy importante en mi educación, gracias por existir, las amo!

A mi familia porque de una u otra forma estuvieron ahí para apoyarme.

"Whatever the mind of a man can conceive, it can achieve"
W. Clement Stone

AGRADECIMIENTOS

A mi Alma Máter la *Universidad Nacional Autónoma de México* y a la *Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 1*, por permitirme formar parte de ellas y ayudarme a ser una gran estudiante y ahora profesionalista.

A la *Dra. Elsa Gutiérrez Cortes*, agradezco sus enseñanzas, apoyo, paciencia y confianza para la realización de este trabajo.

A mis maestros, que participaron en mi desarrollo profesional durante mi carrera, sin su ayuda y conocimientos no estaría en donde me encuentro ahora.

“Run towards your fears, embrace them, on the other side of your greatest fears lives your greatest life.”
Robin Sharma

ÍNDICE

Dedicatorias	i
Agradecimientos	ii
Índice	iii
Índice de Figuras	iv, v
Article (CEREAL CHEMISTRY)	86(5):516–521

Effect of Temperature and Steeping Time on Calcium and Phosphorus Content in Nixtamalized Corn Flours Obtained by Traditional Nixtamalization Process

Abstract	86(5);516
Materials and Methods	86(5);517
Results and Discussion	86(5);518
Conclusions	86(5);520
Acknowledgements	86(5);521
Literature Cited	86(5);521

Artículo (Traducción)	1
-----------------------	---

Efecto de la Temperatura y Tiempo de Reposo en el Contenido de Calcio y Fósforo en Harinas de Maíz Nixtamalizado Obtenidas Mediante el Proceso de Nixtamalización Tradicional

Resumen	1
Materiales y Métodos	2
Resultados y Discusión	3
Conclusiones	6
Créditos/Agradecimientos	7
Bibliografía	7
Anexo	9

ÍNDICE DE FIGURAS

ARTICLE (CEREAL CHEMISTRY)

Effect of Temperature and Steeping Time on Calcium and Phosphorus Content in Nixtamalized Corn Flours Obtained by Traditional Nixtamalization Process

Figura		Página
1	Calcium content of native corn, commercial corn flours, control sample, and instant corn flours as a function of steeping time for samples cooked at 72, 82, and 92°C (1% lime, w/v) using traditional nixtamalization process.	518
2	LV-SEM images of outside and superficial views of pericarp fraction of QPM H-368C corn kernel, a: Native corn, b-f: Nixtamalized corn pericarp cooked at 92°C (1% lime, w/v) and steeping times of 0, 3, 5, 7, and 9hr.	518
3	X-ray diffraction patterns of nixtamalized corn pericarp at 92°C (1% lime w/v) and steeping times of 0, 3, 5, 7, and 9hr.	519
4	Phosphorus content of native corn, commercial corn flours, control sample and instant corn flours as a function of the steeping time for samples cooked at 72, 82, and 92°C (1% lime, w/v) using the traditional nixtamalization process.	519
5	Phosphorus/calcium ratio of native corn, commercial corn flours, control sample and instant corn flours as a function of the steeping time for samples cooked at 72, 82, and 92°C (1% lime, w/v) using the traditional nixtamalization process.	520
6	Dry matter loss of control sample and instant corn flours as a function of the steeping time for samples cooked at 72, 82, and 92°C (1% lime, w/v) using the traditional nixtamalization process.	520

ARTICULO (Traducción)

Efecto de la Temperatura y Tiempo de Reposo en el Contenido de Calcio y Fósforo en Harinas de Maíz Nixtamalizado Obtenidas Mediante el Proceso de Nixtamalización Tradicional

Figura		Página
1	Contenido de calcio en maíz nativo, harinas de maíz comerciales, muestra control y harinas de maíz instantáneas en función del tiempo de reposo en muestras sometidas a una cocción a 72, 82 y 92 °C (1% Ca(OH) ₂ , p/v) utilizando el proceso de nixtamalización tradicional.	3
2	Imágenes LV-SEM de la superficie de la fracción de pericarpio del grano de maíz QPM H-368C. a. Maíz nativo, b-f Pericarpio de maíz nixtamalizado sometidas a una cocción a 92 °C (1% Ca(OH) ₂ , p/v) y 0, 3, 5, 7 y 9 h de tiempo de reposo.	4
3	Patrones de difracción de rayos-X del pericarpio del maíz nixtamalizado a 92 °C (1% Ca(OH) ₂ , p/v) y 0, 3, 5, 7 y 9 h de tiempo de reposo.	5
4	Contenido de fósforo en maíz nativo, harinas de maíz comerciales, muestra control y harinas de maíz instantáneas en función del tiempo de reposo en muestras sometidas a una cocción a 72, 82 y 92 °C (1% Ca(OH) ₂ , p/v) utilizando el proceso de nixtamalización tradicional.	5
5	Relación Ca ²⁺ /P en maíz nativo, harinas de maíz comerciales, muestra control y harinas de maíz instantáneas en función del tiempo de reposo en muestras sometidas a una cocción a 72, 82 y 92 °C (1% Ca(OH) ₂ , p/v) utilizando el proceso de nixtamalización tradicional.	6
6	Pérdida de materia seca en muestra control y harinas de maíz instantáneas en función del tiempo de reposo en muestras sometidas a una cocción a 72, 82 y 92 °C (1% Ca(OH) ₂ , p/v) utilizando el proceso de nixtamalización tradicional.	6

Effect of Temperature and Steeping Time on Calcium and Phosphorus Content in Nixtamalized Corn Flours Obtained by Traditional Nixtamalization Process

I. Rojas-Molina,^{1,2} E. Gutiérrez,³ A. Rojas,⁴ M. Cortés-Álvarez,¹ L. Campos-Solís,³ M. Hernández-Urbiola,^{5,6} J. L. Arjona,³ A. Cornejo,^{3,7} and M. E. Rodríguez-García^{7,8}

ABSTRACT

Cereal Chem. 86(5):516–521

This report shows the effect of temperature (72, 82, and 92°C) during the cooking stage and steeping time (0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, and 15 hr) on calcium and phosphorus contents in nixtamalized corn flours obtained by the traditional nixtamalization process (NCF). In addition, calcium and phosphorus contents in industrial nixtamalized corn flours were analyzed for comparative purposes. Atomic absorption spectroscopy and UV-vis spectroscopy methods were used to study the calcium and phosphorus contents as well as the Ca²⁺/P ratio in NCF and industrial nixtamalized corn flours. Additionally, deposition and identification of calcium compounds in the nixtamalized corn pericarp were analyzed by low-vacuum scanning electron microscopy, energy dispersive spectrometry, and X-ray diffraction techniques. Dry matter loss in NCF is also reported. As the temperature increased, Ca²⁺ content was enhanced, while the phosphorus content decreased with statistical differences ($P \leq 0.05$) between thermal treatments. Ca²⁺ content in industrial nixtamalized corn flours was significantly lower ($P \leq 0.05$) than that of NCF. On the other hand, no statistical differences ($P \leq 0.05$) were found between phosphorus content in commercial nixtamalized corn flours and NCF. Calcium

compounds, identified as calcite, were detected in corn pericarp. Statistical differences ($P \leq 0.05$) were observed in phosphorus content in NCF obtained at different cooking temperatures. In addition, a decrease in phosphorus levels significantly correlated with the steeping time at 92°C ($r = -0.91$). At 72, 82, and 92°C, the average Ca²⁺/P ratio in NCF was 0.45 ± 0.03 , 0.61 ± 0.05 , and 0.82 ± 0.05 , respectively, indicating a correlation between this parameter and the cooking temperature. However, no correlation was found between the Ca²⁺/P ratio and the steeping time. This behavior is attributed to calcium attached to corn kernel. In commercial nixtamalized corn flours, the Ca²⁺/P ratio was significantly lower ($P \leq 0.05$) than that of NCF. There was a significant correlation ($P \leq 0.01$) between dry matter loss and steeping time ($r = 0.99$) in NCF, this fact influenced the Ca²⁺/P ratio due to the calcium attached to pericarp. At 82 and 92°C, maximum values of Ca²⁺/P ratio were detected in NCF at 7 hr of steeping time and at 9 hr at 72°C. These results can be used with industrial purposes to assess a maximum calcium-to-phosphorus ratio, and at the same time, to avoid the loss of pericarp to increase the functional properties of NCF.

Mineral components in diet are essential for the gain of bone mineral density during the growth period and are responsible for the magnitude of the age-related bone mineral loss (Michaelsen et al 1994). Specifically, calcium intake plays an important role in skeletal health (Cashman 2002). In the United States of North America and Europe, dairy foods are the main providers of calcium in the diet. Whereas in México, corn tortillas are the principal source of this mineral. The tortillas and nixtamalized products (i.e., chips, taco shells, tamales, and instant corn flours) are produced by the nixtamalization process. At this point, it is important to denote that the thermoalkaline treatment comprises the cooking and steeping stage of corn kernels with Ca(OH)₂, whereas nixtamalization process involves the cooking and steeping stages, including the wet and dry milling of processed corn kernels to obtain tortillas, instant corn flours, etc. These products are abundant in calcium due to the Ca(OH)₂ addition to corn kernels dur-

ing the cooking step of this process (Bressani 1990; Serna-Saldivar et al 1990). Wyatt and Triana (1994) explained that Mexican traditional diet is high in phosphorus, which exists mainly in phytate form. The lime cooking process reduces phytic acid content in raw corn kernel, although losses differ 29.9–36.1%, depending on the processing conditions (Gomez-Aldapa et al 1996; Urizar and Bressani et al 1997; Bressani et al 2002).

Several researches employing biological models describe that, even if the corporal calcium concentration is adequate and the daily calcium ingestion covers dietary recommendations, bones demineralization takes place if the Ca²⁺/P ratio in diet is not satisfactory (Anderson and Draper 1972). Nnakwe and Kies (1985) reported that rats fed with rich phosphorus diets showed high risk of bone fracture. Similarly, Spencer et al (1988) showed that high phosphorus content in diet has a negative effect in calcium deposition in bones. Calvo and Park (1996) observed that phosphorus modifies significantly the calcium metabolism. Wyatt et al (2000) studied the growth and composition of femur bones in rats fed with diets prepared with different calcium and phosphorus contents at the same levels as those found in the Mexican traditional diet. These authors detected that the Ca²⁺/P ratio has a greater effect on bone mass formation and on bone calcium deposition than the calcium content itself.

Martinez-Flores et al (2000) evaluated the calcium bioavailability in rats fed with diets elaborated with raw corn, tortillas prepared with extruded dough added with Ca(OH)₂, tortillas prepared with extruded dough without Ca(OH)₂, and tortillas prepared by the traditional nixtamalization process. These authors found that the femur bones of rats fed with extruded tortillas with alkali, and rats fed with tortillas prepared by the traditional nixtamalization process were thicker, larger, and showed a higher crystalline quality, fracture resistance, and calcium content than the femur bones of rats fed with extruded tortillas without alkali and rats fed with raw corn. They also observed that diets prepared with corn-ex-

¹ Facultad de Ciencias Naturales, Licenciatura en Nutrición, Universidad Autónoma de Querétaro, Av. de las Ciencias S/N, C.P. 76230, Juriquilla, Qro, México.

² Corresponding authors. Phone: 52-442-1921200, Ext. 5308. Fax: 52-442-2342928. E-mail: jirojasmolina@yahoo.com.mx or marioga@fata.unam.mx

³ Laboratorio Experimental Multidisciplinario-Ingeniería en Alimentos, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Cuautitlán, Av. 1° de mayo S/N, C.P. 54740, Cuautitlán, México.

⁴ Laboratorio de Investigación Química y Farmacológica de Productos Naturales, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Qro, México.

⁵ Posgrado en Ciencias Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, México.

⁶ Universidad del Valle de México, Campus Querétaro, Querétaro, Qro, México.

⁷ Departamento de Investigación y Posgrado, Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Querétaro, Cerro de las Campanas S/N, Qro, México.

⁸ Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, Departamento de Nanotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Juriquilla, Qro, C.P. 76230, A.P. 1-1010, México.

truded tortillas added with $\text{Ca}(\text{OH})_2$ and tortillas obtained by the traditional nixtamalization process allowed a better Ca^{2+}/P ratio (1.18 and 1.24, respectively) than diets prepared with raw corn (0.77), and corn-extruded tortillas without alkali (0.79). That work showed that the nixtamalization process is a factor that contributes to enhance the Ca^{2+}/P ratio, allowing the calcium bioavailability. Nevertheless, these authors studied only one processing condition; consequently, they did not suggest the levels in processing conditions variables where the Ca^{2+}/P ratio is the most suitable.

Bressani et al (2004) studied the processing conditions on phytic acid, calcium, iron, and zinc contents of lime-cooked maize. They found a significant dependence of calcium concentration on the lime concentration, cooking, and steeping time but not on the steeping temperature. However, these authors did not consider the influence of these and other factors (i.e., cooking temperature on the Ca^{2+}/P ratio of nixtamalized corn). Likewise, Gutierrez et al (2007) explained that cooking temperature modifies the water and calcium diffusion into the corn kernels, this mass transference is associated with changes in pericarp.

The Ca^{2+}/P ratio is an essential parameter to consider in a diet focused on preventing and controlling the diseases associated with bone structure abnormalities. For humans, the ideal Ca^{2+}/P ratio in diet is 1.0–1.5 to preserve the bone mineral density in adult men (Whiting et al 2002).

On the other hand, the dry matter loss is important in the nixtamalization process because this parameter is associated with the washing process directed to remove excess calcium ions located in external layers of pericarp and endosperm (Fernandez-Muñoz et al 2004; Rojas-Molina et al 2007).

In this context, the main objective of this work was to evaluate the effect of temperature during cooking stage and steeping time on calcium and phosphorus content in nixtamalized corn flours obtained by the traditional nixtamalization process. These analyses employed atomic absorption spectrometry, low-vacuum scanning electron microscopy, X-ray diffraction characterization, and UV-vis spectrophotometry techniques to identify the processing conditions that afford a Ca^{2+}/P ratio of 1.0–1.5 in nixtamalized corn flours. Furthermore, calcium and phosphorus contents, as well as Ca^{2+}/P ratio in two industrial nixtamalized corn flours were analyzed for comparative purposes. The results derived from this investigation provide valuable information concerning the conditions that can be used in nixtamalization processes to increase the bioavailability of the calcium contained in nixtamalized corn products and, consequently, to enhance their functional properties in the human organism.

MATERIALS AND METHODS

Samples Preparation

The study was conducted with a Quality Protein Maize hybrid H-368C provided by the National Institute of Forestry and Agropecuary research (INIFAP-Bajío Experimental Station Guajuato, Mexico). Corn kernels (3 kg) were cooked at 92, 82, and 72°C for 25, 40, and 65 min, respectively. The steeping times were 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, and 15 hr for each temperature. The nixtamalization process was performed by using the methodology reported by Gutierrez et al (2007). Each sample was prepared separately from the others, constituting an independent event to obtain five repetitions for each experiment. Additionally, cooked corn samples (400 g) were used to obtain pericarp samples by manually separating this structure from the nixtamalized corn kernels. Subsequently, pericarp samples were dried using a vacuum oven at 40°C for 6 hr to a relative moisture content of 10%. In addition, native corn (NC) and samples of two commercial nixtamalized corn flours called sample A (SA) and sample B (SB) for comparative purposes. Three repetitions were made for each sample.

Residual Calcium Content in Nixtamalized Corn Flours

The calcium content in NC, CTT, NCF, SA, and SB was determined by the dry ashing method 968.08 (AOAC). The residual calcium content was measured with 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, using a 422.7 nm flame, a 10 mA lamp current, and a 0.7 nm slit width. Average from three measurements for each sample was reported.

Sample Characterization by LV-SEM

The morphologic analysis of corn pericarp samples, with and without thermo alkaline process, was performed in a low-vacuum scanning electron microscope (LV-SEM), JSM 5600LV, with a resolution of 5 nm in LV mode, fitted with an energy dispersive X-ray spectrometer (Noran instrument, model Voyager 4.2.3). Before the analysis, the pericarp samples were fixed on the specimen holder with a carbon tape and mounted on an aluminum specimen holder. The analysis was performed using equipment conditions of 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. Micro-compositional analysis of the pericarp was done using an energy dispersive spectrometer, also known as EDS. The pericarp characterization was done for 10 samples in 25 different regions, turning each of them in order to move the focus position on the microscope. Further surface views of isolated pericarp were captured to obtain the micrographs.

X-ray Diffraction Characterization

X-ray diffraction analyses were performed for pericarp samples removed from corn kernels cooked with lime at 92°C and 0, 3, 5, 7, and 9 hr of steeping time. Previous steeping times were selected according to Gutierrez et al (2007) because at 0 hr, the cooking stage ends; 3 hr is related to the partial permeability (percolation) of the pericarp; 5 hr is associated with the separation between pericarp and endosperm; and 7 and 9 hr represent the partial removal of pericarp that promotes the entrance of calcium and water to the internal layers of the corn kernels. Native and processed pericarp samples were ground to a fine powder and passed through a 150- μm screen. The powder samples were then densely packed into an Al frame. The X-ray diffraction patterns of the samples were recorded on a diffractometer (Siemens D5000) operating at 35 kV and 15 mA, with a CuK_α radiation wavelength of $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$. The measurements were made from 4° to 30° on a 2 θ scale with a step size of 0.05°. Spectrum analysis software (Diffract/AT, Socavin VI.2) was used to analyze the X-ray diffraction patterns from experimental samples.

Phosphorus Content in Nixtamalized Corn Flours

Phosphorus content in NC, CTT, NCF, sample SA, and sample SB was determined according to AOAC Official Method 965.17 (2000). The Ca^{2+}/P ratio was obtained from the division of calcium and phosphorus content observed for each sample at different steeping times. All the measurements were done three times.

Dry Matter Loss of Corn During Traditional Nixtamalization Process

After the indicated steeping times (0–15 hr) at each temperature (72, 82, and 92°C), the samples were washed twice and the water from the first and second washes, as well as the steeping water, was evaporated in a low-vacuum furnace (40°C) to dryness (8% moisture content). The total remaining solids were used to calculate the total dry matter lost as a function of the steeping time (Fernandez-Muñoz et al 2004). The measurements were conducted in quadruplicate.

Statistical Analyses

One-way analysis of variance (ANOVA) was performed using the Statgraphics ANOVA procedure (Graphics Software System, Manufistics) and applying the multiple range test with a probability $P \leq 0.05$. The effect of temperature and steeping time on the calcium, CaCO_3 , and phosphorus content, as well as on dry matter loss were studied as the factors.

RESULTS AND DISCUSSION

Calcium Content in Nixtamalized Corn Flours

Figure 1 shows the calcium content of NCF as a function of the steeping time for three cooking temperatures (72, 82, and 92°C). Figure 1 also shows the calcium content of two commercial nixtamalized corn flours (SA and SB), as well as native corn (NC), and corn with thermal treatment (CTT). It is evident that the industrial and traditional nixtamalization process significantly increased ($P < 0.05$) the calcium content in instant corn flours compared to that of NC and CTT. However, it is worth noting that calcium content in corn flours obtained by the traditional nixtamalization process at 72, 82, and 92°C is higher (0.14 ± 0.02 , 0.17 ± 0.03 , and 0.19 ± 0.03 , respectively) than calcium content in corn flours produced by industrial processes (0.13 ± 0.01). This means that calcium content in NCF is an average 33.85% higher than calcium content in industrialized samples SA and SB. These results may be explained in that in some industrial nixtamalization processes, the corn kernel is cooked by steam injection in the presence of $\text{Ca}(\text{OH})_2$ as the corn slowly passes along a large conveyor. Then the cooked corn is washed to remove excess lime and ground with a hammer mill, avoiding the steeping step (Montemayor and Rubio 1983). In other processes, the corn kernel is

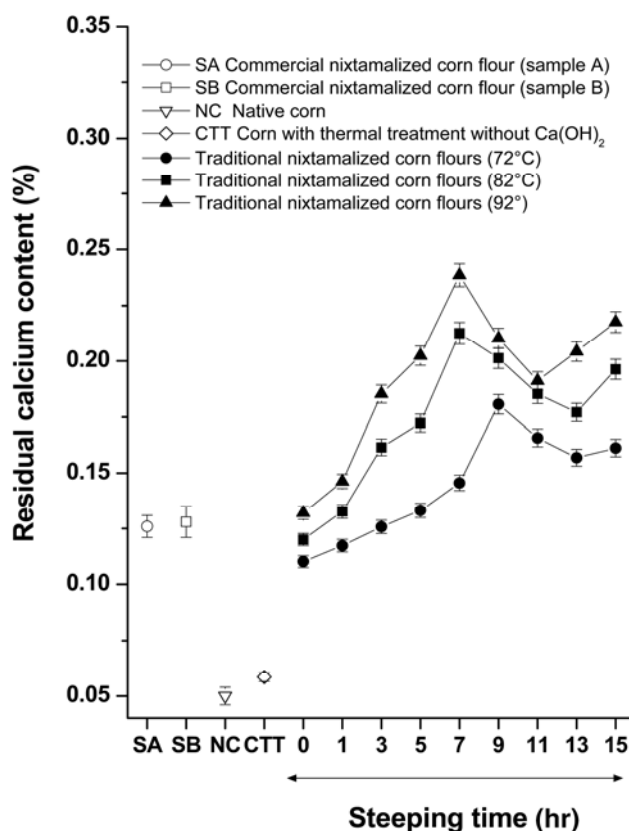


Fig. 1. Calcium content of native corn, commercial corn flours, control sample, and instant corn flours as a function of steeping time for samples cooked at 72, 82, and 92°C (1% lime, w/v) using traditional nixtamalization process.

subjected to the cooking stage for ≈ 30 –50 min. It is then allowed to soak for 60–120 min and washed. Consequently, the steeping step is shorter than in the traditional nixtamalization process (Bressani et al 1997; Gutierrez et al 2007). Regarding this, Bressani et al (2004) reported that steeping time showed a highly significant effect in increasing the calcium content. Another possible explanation for the low content of calcium in commercial nixtamalized corn flours is associated with the fact that in the industrial nixtamalization process, the hull or pericarp of corn kernel sometimes is intentionally removed during the washing step to avoid undesirable color sources (i.e., lignin) to the nixtamalized corn products (Gonzalez et al 2004). This point is very important from a nutritional point of view because pericarp exhibits a high capacity to attach calcium in the hemicelluloses matrix (Reguera et al 2003) and in the micropores formed during the thermoalkaline process (Gutierrez et al 2007). Consequently, the partial removal of corn pericarp implies the loss of a source of calcium and fiber in the diet. Calcium ion diffusion into the endosperm through the pericarp promotes structural changes in the endosperm. This fact is related to the total or partial gelatinization of the starch (Rojas-Molina et al 2007).

Samples Characterization by LV-SEM

Figure 2a–d shows micrographs of an external surface view of the pericarp from raw corn and pericarp from corn kernels cooked with lime at 92°C obtained by LV-SEM. Figure 2a shows the pericarp from a native corn kernel where the elongated filaments (EF) are associated with cellulose fibers, hemicellulose, and lignin as was reported by (Gutierrez et al 2007). Figure 2b shows the corn kernel pericarp at the end of the cooking stage (0 hr of steeping). The superficial layer of pericarp (waxy layer) was removed as a result of the thermoalkaline treatment (Hurtado et al 2005), thus the inner layers are exposed to the alkaline solution. Figure 2b also shows the deposition of white granules (WG) see Fig. 2b–f). Using EDS, these particles were identified as calcium compounds. Figure 2c and d shows the pericarp state for samples with 3 and 5 hr of steeping time, respectively. It is evident that the calcium compounds attached to this structure increased as a function of the steeping time. The insert in Fig. 2d shows the separation between pericarp and endosperm at 5 hr of steeping time as reported by Gutierrez et al (2007). In contrast, Fig. 2e and f show that the white granules diminished compared with previous steeping times. Decrease of calcium compounds in pericarp has been associated with dry matter loss resulting from fat and fiber located mainly in the germ and pericarp that are removed during the nixtamalization process (Ortega et al 1986; Almeida-Dominguez et al 1998). SEM images of pericarp samples at 82 and 72°C showed the same trend at longer steeping times than those at 92°C.

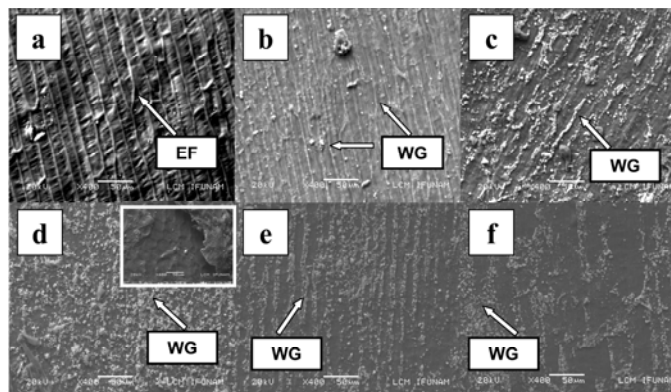


Fig. 2. LV-SEM images of outside and superficial views of pericarp fraction of QPM H-368C corn kernel. **a:** Native corn. **b–f:** Nixtamalized corn pericarp cooked at 92°C (1% lime, w/v) and steeping times of 0, 3, 5, 7, and 9 hr. EF = elongated filaments, WG = white granules.

X-ray Diffraction Characterization

Figure 3 shows X-ray diffraction patterns of pericarp corn kernels with thermoalkaline treatment cooked at 92°C and steeped at 0, 3, 5, 7, 9, and 15 hr. The patterns were displaced for a better comparison. The X-ray diffraction patterns of pericarp samples exhibited an amorphous material pattern; this may be explained by the fact that pericarp consists mainly of hemicelluloses (70%). This compound is an amorphous heteropolysaccharide (Gonzalez et al 2004), consequently, it predominates in the X-ray diffraction pattern of the samples. Lines in Fig. 3 identify hexagonalscalenohedral class calcite crystals (CaCO_3) (card 05-0586 ICDD International Diffraction Data). CaCO_3 is formed from the chemical reaction of $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (alkaline solution) + CO_2 (atmospheric) \rightarrow CaCO_3 + H_2O as described by Galvan-Ruiz et al (2007). X-ray identification corresponds to white particles in the pericarp after the cooking step (Fig. 2b,c,d,e,f). It is important to note that at longer steeping times, the characteristic peaks in X-ray diffraction patterns for calcite showed a better definition mainly at a 30° diffraction angle 2θ . Similarly, Gonzalez et al (2004) reported that the peak intensity located at this 2θ angle position increased when the $\text{Ca}(\text{OH})_2$ concentration used to isolate hull nixtamalization also increased, even though Gonzalez et al (2004) do not give any explanation for this finding. The same authors suggest that removal of the amorphous fraction in pericarp (mainly hemicelluloses) gives a better resolution of the material with major crystalline order.

Phosphorus Content in Nixtamalized Corn Flours

Values of phosphorus content in NC, commercial nixtamalized corn flours (SA and SB), CTT, and NCF are shown in Fig. 4. Phosphorus content in samples SA, SB, and in NCF obtained at 72, 82, and 92°C was an average of 0.27 ± 0.01 , 0.22 ± 0.01 , 0.31 ± 0.02 , 0.28 ± 0.02 , and 0.23 ± 0.01 , respectively. These results agree with Bressani et al (2001), who reported a phosphorous content of 0.22–0.35 for industrial nixtamalized corn flours. Figure 4 also shows that phosphorus content in NCF significantly decreased ($P \leq 0.05$) compared with that in NC and CTT. In addition, Fig. 4 shows that as temperature increased, the phosphorus content diminished with significant differences ($P \leq 0.05$) between processing temperatures. Additionally, there was a significant correlation between phosphorus content and cooking temper-

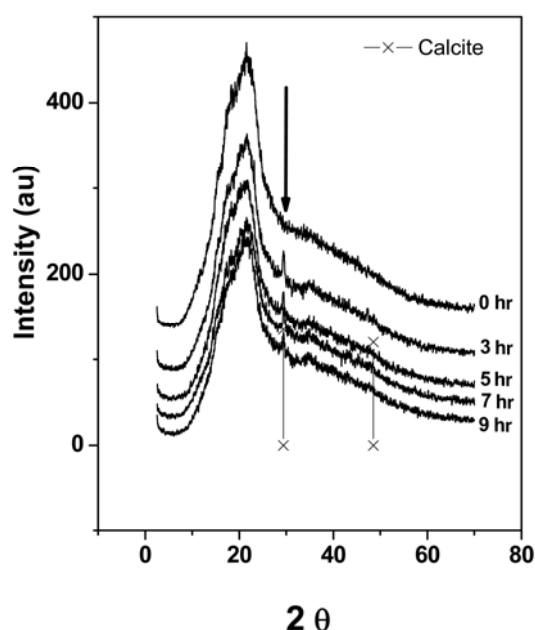


Fig. 3. X-ray diffraction patterns of nixtamalized corn pericarp at 92°C (1% lime, w/v) and steeping times of 0, 3, 5, 7, and 9 hr.

ature ($r = -0.95$). Steeping time did have an important effect in reducing the phosphorus content, mainly at 92°C, where a significant correlation between phosphorus levels and steeping time was detected ($r = -0.91$). Phytic acid and its salts are the main chemical forms of phosphorus storage in cereal seeds and oilseeds (Wyatt and Triana-Tejas 1994; Zhou and Erdman 1995), and phytic phosphorus content in corn kernels represents 61–77% of total phosphorus (Nelson et al 1968; O'Dell et al 1972; Haug and Lantzsch 1983; Eeckhout and De Paepe 1994). Therefore, our results are in agreement with Gomez-Aldapa et al (1996), Urizar and Bressani (1997), and Bressani et al (2002) because they reported losses of phytic acid in nixtamalized maize flours. Our data also agree with those obtained by Bressani et al (2004), who found a significant effect of steeping time in reducing the phytic acid level in alkaline cooked maize. However, there were not significant interactions ($P \leq 0.0001$) for temperature and steeping time as reported by Bressani et al (2004). This discrepancy could be attributed to corn cultivar and alkaline processing conditions used in both researches.

Calcium/Phosphorus Ratio in Nixtamalized Corn Flours

Figure 5 shows the Ca^{2+}/P ratio as a function of steeping time. It is evident that the Ca^{2+}/P ratio in NCF increased significantly ($P \leq 0.05$) with respect to the ratio obtained for NC and CTT, although, the Ca^{2+}/P ratio changes were not proportional to the steeping time, indicating that the Ca^{2+}/P ratio is directly related to the changes in Ca^{2+} and P contents. In a similar trend to that presented by data shown in Fig. 1, maximum Ca^{2+}/P ratio values for 82 and 92°C were detected at 7 hr, while for 72°C, a maximum Ca^{2+}/P ratio was obtained at 9 hr. On the other hand, the Ca^{2+}/P ratios obtained for commercial nixtamalized corn flours (SA and SB) were lower than the value observed in NCF. These findings

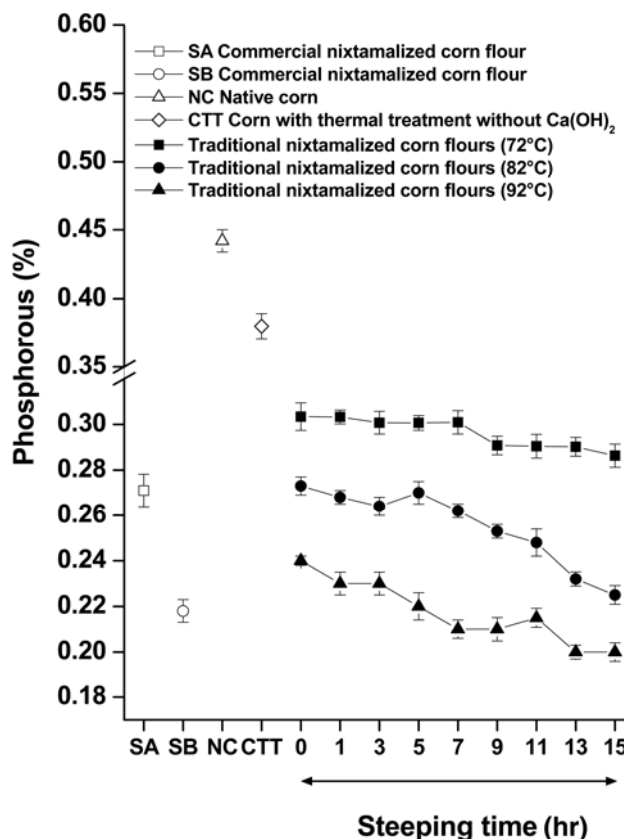


Fig. 4 Phosphorus content of native corn, commercial corn flours, control sample and instant corn flours as a function of the steeping time for samples cooked at 72, 82 and 92°C (1% lime, w/v) using the traditional nixtamalization process.

are a consequence of the low calcium content in samples SA and SB due to the use of short steeping times during the industrial processes used to elaborate these flours (Bressani et al 1997). Additionally, it is important to consider that calcium absorption in the pericarp is significantly higher than that in the endosperm and germ (Gutierrez et al 2007). Furthermore, Fig. 5 presents data that constitute evidence that the Ca^{2+}/P ratio increases ($P \leq 0.05$) as a function of cooking temperature.

Dry Matter Loss of Corn During Traditional Nixtamalization Process

The dry matter loss for NCF was an average of 1.62 ± 0.77 , 2.38 ± 0.72 , and 3.33 ± 1.43 for 72, 82, and 92°C, respectively, with statistical differences between treatments ($P \leq 0.05$). These values are lower than those reported by Pflugfelder et al (1988), Serna-Saldívar et al (1993), and Almeida-Dominguez et al (1998), who observed losses of 4.42–18.79%. The lower values for the dry matter loss obtained in this research are attributable to the characteristics of the QPM pericarp, which is not completely removed during cooking and steeping stages (Sproule et al 1988). In addition, dry matter loss has been related to the washing procedure (Bressani and Billeb 2001). There was a significant correlation ($P \leq 0.01$) between steeping time and dry matter loss at 72, 82, and 92°C ($r = 0.99$, $r = 0.98$, and $r = 0.99$, respectively). Increase in dry matter loss as a function of temperature and steeping time is shown in Fig. 6 was also observed by Sahai et al (2000). These authors describe that cooking temperature, lime concentration, and steeping time during nixtamalization govern total dry matter loss. Figure 6 shows there are critical conditions in temperature (92°C) and steeping time (7–15 hr), where the dry matter loss is maximum. This feature is very important because matter loss has been associated with the loss of fat and fiber mainly located in the germ and pericarp that are removed during the nixtamalization process (Ortega et al 1986; Almeida-Dominguez et al 1998). This implies that pericarp is eliminated mainly during the washing stage, which represents an important loss of calcium attached to this anatomical structure of corn kernel.

CONCLUSIONS

The results derived from this work showed that calcium content in NCF and commercial nixtamalized corn flours is higher than

that of NC and CTT. In NCF, calcium concentration increased with cooking temperature and steeping time. However, as it was previously reported, this rise in calcium content was not proportional to the steeping time. A shorter steeping stage used in industrial production processes of commercial nixtamalized corn flours is partly responsible for the differences between the calcium concentrations in NCF and commercial nixtamalized corn flours. Other authors reported that the highest calcium concentration in total corn kernels is attached to the corn pericarp. Therefore, low calcium content in commercial nixtamalized corn flours is also attributable to the industrial nixtamalization process, where the pericarp of corn kernel is intentionally removed during the washing step to avoid undesirable color addition to the nixtamalized corn products. LV-SEM images in this report showed that changes in calcium content in NCF as a function of the steeping time can be partially ascribed to the morphological and physicochemical changes that take place in the pericarp corn kernel during the thermoalkaline process. In addition, X-ray diffraction patterns indicated that a fraction of the calcium retained in pericarp reacts with atmospheric CO_2 giving as a result the formation of CaCO_3 . This fact is very important from a nutritional point of view because CaCO_3 is an adequate calcium source for humans. Phosphorus content in NCF and commercial nixtamalized corn flours was lower than that in NC and CTT. In contrast to the calcium content, phosphorus concentration decreased with the temperature process due to elimination of phytic acid, as previously reported. The highest Ca^{2+}/P ratios were detected in NCF obtained at high temperatures (92°C), where the calcium content is the highest and the phosphorus concentration is the lowest. The Ca^{2+}/P ratio was lower in commercial nixtamalized corn flours, suggesting that industrial nixtamalized corn flours must be enriched with calcium. The dry matter loss increased with the temperature process and a high correlation between dry matter loss and steeping time was detected. Dry matter loss influences the Ca^{2+}/P ratio because the pericarp attaches the highest calcium concentration. Furthermore, it is well known that pericarp constitutes part of the dry matter loss. Finally, the results obtained in this work indicate that the optimum conditions to be used in industrial nixtamalization processes to obtain maximum bioavailability of the calcium contained in nixtamalized corn products must consider a thermal treatment at 92°C and steeping times no longer than 9 hr.

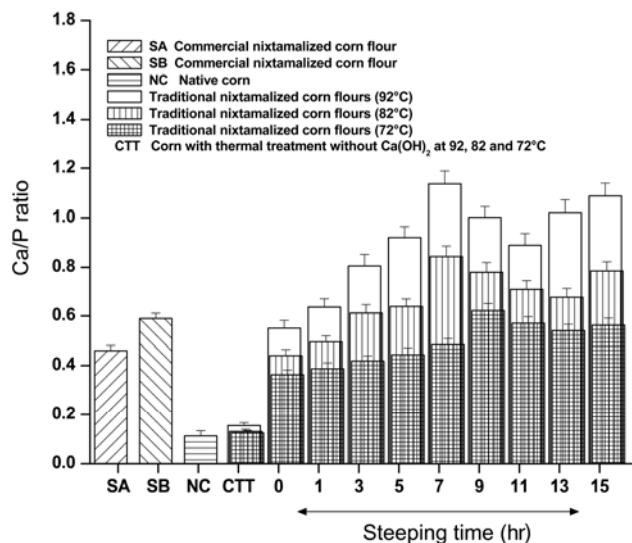


Fig. 5 Phosphorus/calcium ratio of native corn, commercial corn flours, control sample and instant corn flours as a function of steeping time for samples cooked at 72, 82, and 92°C (1% lime, w/v) using the traditional nixtamalization process.

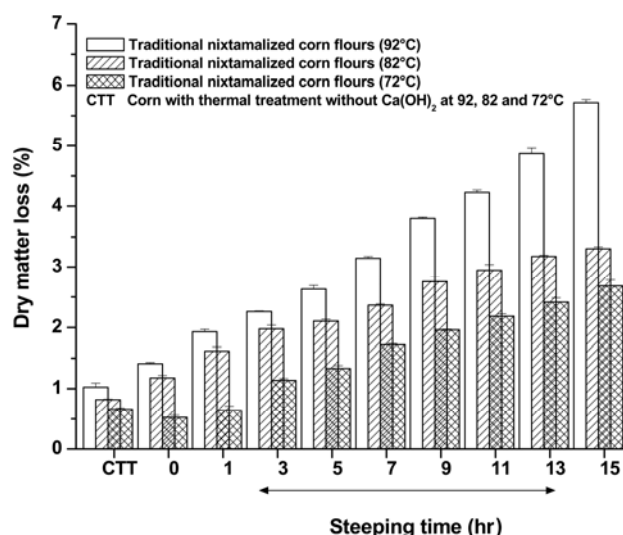


Fig. 6 Dry matter loss of control sample and instant corn flours as a function of the steeping time for samples cooked at 72, 82, and 92°C (1% lime, w/v) by using the traditional nixtamalization process.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was partially supported by CONACYT (Researchers Consolidation Program, convocation 2008, Project No. 89227), México. We would like to thank I.Q. Carmen Vásquez Ramos (Physicochemical Food Laboratory CFATA-UNAM), M. en C. Roberto Hernández Reyes (Instituto de Física-UNAM) for their technical support. We would also like to thank the UAQ and FES-Cuautitlán Campo 1 for the facilities granted to the authors for the development of this study.

LITERATURE CITED

- Almeida-Domínguez, H. D., Ordoñez-Durán, G. G., and Almeida, N. G. 1998. Influence of kernel damage on corn nutrient composition, dry matter losses and processability during alkaline cooking. *Cereal Chem.* 75:124-128.
- Anderson, G. H., and Draper, H. H. 1972. Effect of dietary phosphorus on calcium metabolism in intact and parathyroidectomized adult rats. *J. Nutr.* 102:1123-1132.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis, 17th Ed. Methods 955.01 and 965.17, 968.08. The Association: Gaithersburg, MD.
- Bressani, R. 1990. Chemistry, technology and nutritive value of maize tortillas. *Food Rev. Int.* 6:225-264.
- Bressani, R., and Billeb, A. C. 2001. Características de cocción por nixtamalización de once variedades de maíz. *Arch. Lat. Nut.* 51:86-94.
- Bressani, R., Rooney, L. W., and Serna, S. O. 1997. Nutritional quality of nixtamalized corn masa flour. Achievement through fortification with micronutrients. Pages 120-150 in: *Fortification of Corn Masa Flour with Iron and/or Other Nutrients—A Literature and Industry Experience Review*. SUSTAIN U.S. AID: Washington, DC.
- Bressani, R., Turcios, J. C., Reyes, L., and Mérida, R. 2001. Caracterización física y química de harinas industriales nixtamalizadas de maíz de consumo humano en América Central. *Arch. Lat. Nut.* 51:309-315.
- Bressani, R., Turcios, J. C., and de Ruiz, A. S. 2002. Nixtamalization effects on the contents of phytic acid, calcium, iron and zinc in the whole grain, endosperm and germ of maize. *Food Sci. Technol. Int.* 8:81-86.
- Bressani, R., Turcios, J. C., de Ruiz, A. S., and Palacios de P. P. 2004. Effect of processing conditions on phytic acid, calcium, iron and zinc contents of lime-cooked maize. *J. Agric. Food Chem.* 52:1157-1162.
- Calvo, M. S., and Park, Y. K. 1996. Changing phosphorus content of the U.S. diet: Potential for effects on bone. *J. Nutr.* 126(Suppl4):1168S-1180S.
- Cashman, K. D. 2002. Calcium intake, calcium bioavailability and bone health. *Brit. J. Nutr.* 87(Suppl2):S169-S177.
- Eeckhout, W., and De Paepe, M. 1994. Total phosphorus, phytate-phosphorus and phytase activity in plant feedstuffs. *Animal Feed Sci. Technol.* 47:19-29.
- Fernández-Muñoz, J. L., Rojas-Molina, I., González-Dávalos, 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.
- Galván-Ruiz, M., Baños, L., and Rodríguez-García, M. E. 2007. Lime characterization as a food additive. *Sens. Instrum. Food Qual. Safety* 1:169-175.
- Gomez-Aldapa, C. A., Martínez-Bustos, F., Figueroa-Cárdenas, J. D., Ordorica-Falomir, C. A., and González-Hernández, J. 1996. Cambios en algunos componentes químicos y nutricionales durante la preparación de tortillas de maíz elaboradas con harinas instantáneas obtenidas por extrusión continua. *Arch. Latinoam. Nutr.* 46:315-316.
- 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. *J. Agric. Food Chem.* 52:3831-3837.
- Gutiérrez, E., Rojas-Molina, I., Pons-Hernández, J., Guzmán, H., Aguas-Ángel, B., Arenas, J., Fernández, P., Palacios, A., Herrera, G., and Rodríguez, M. E. 2007. Study of calcium ion diffusion in nixtamalized Quality Protein Maize as a function of the cooking temperature. *Cereal Chem.* 84:186-194.
- Harvey, J. A., Zobitz, M. M., and Pak, C. Y. 1988. Dose dependency of calcium absorption: A comparison of calcium carbonate and calcium citrate. *J. Bone Mineral Res.* 3:253-258.
- Haug, W., and Lantzsch, H. J. 1983. Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. *J. Sci. Food Agric.* 34:1423-1426.
- Heaney, R. P. 1991. Calcium supplements: Practical considerations. *Osteoporosis Int.* 1:65-71.
- 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.
- Kenny, A. M., Prestwood, K. M., Biskup, B., Robbins, B., Zayas, E., Kleppinger, A., Burleson, J. A., and Raisz, L. G. 2004. Comparison of the effects of calcium loading with calcium citrate or calcium carbonate on bone turnover in postmenopausal women. *Osteoporosis Int.* 15:290-294.
- Martínez-Flores, H. E., Figueroa, C. J., Martínez-Bustos, F., González-Hernández, J., Rodríguez-García, M. E., Baños-López, A. 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. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 53:155-162.
- Michaelsen, K. F., Astrup, A. V., Mosekilde, L., Richelsen, B., Schroll, M., and Sorensen, O. H. 1994. The importance of nutrition for the prevention of osteoporosis. *Ugeskr Laeger.* 156:958-960.
- Montemayor, E., and Rubio, M. 1983. Alkaline cooked corn flour: Technology and Uses in Tortilla and Snack Products. *Cereal Foods World* 28:577.
- Nelson, T. S., Ferrara, L. W., and Storer, N. L. 1968. Phytate phosphorus content of feed ingredients from plants. *Poult. Sci.* 47:1372-1274.
- Nnakwe, N., and Kies, C. 1985. Mouse bone composition and breaking strength. Pages 89-104 in: *Nutritional Bioavailability of Calcium*. C. Kies, ed. ACS: Washington, DC.
- O'Dell, B. L., de Boland, A. R., and Koirtzohann, S. R. 1972. Distribution of phytate and nutritionally important elements among morphological components of cereal grains. *J. Agric. Food Chem.* 20:718-721.
- Ortega, E. L., Villegas, E., and Vassal, S. K. 1986. A comparative study of protein changes in normal and quality protein maize during tortilla making. *Cereal Chem.* 63:446-451.
- Pflugfelder, R. L., Rooney, L. W., and Waniska, R. D. 1988. Dry matter losses in commercial corn masa production. *Cereal Chem.* 65:127-132.
- Reguera, E., Yee-Madeira, H., Fernández-Bertrán, J., and Sánchez-Sinencio, F. 2003. On the state of calcium in nixtamalized corn grains as detected by Mössbauer spectroscopy and related techniques. *Hyperfine Interact.* C5:333-338.
- Rojas-Molina, I., Gutierrez-Cortez, E., Palacios-Fonseca, A., Baños, L., Pons-Hernandez, J. L., Guzman, H., Pineda-Gomez, P., and Rodríguez, M. E. 2007. Study of the structural and thermal changes in the endosperm of Quality Protein Maize during traditional nixtamalization process. *Cereal Chem.* 84:304-312.
- Sahai, E., Surjewan, I., Mua, J. P., Buendia, M. O., Rowe, M., and Jackson, D. S. 2000. Dry matter loss during nixtamalization of a white corn hybrid: Impact of processing parameters. *Cereal Chem.* 77:254-258.
- Serna-Saldívar, S. O., Gomez, M. H., and Rooney, L. W. 1990. The technology, chemistry and nutritive value of alkaline-cooked corn products. Pages 143-307 in: *Advances in Cereal Science and Technology*. Y. Pomeranz, ed. AACC International: St. Paul, MN.
- Serna-Saldívar, S. O., Gomez, M. H., Almeida-Domínguez, H. D., Islas-Rubio, A. R., and Rooney, L. W. 1993. A method to evaluate the lime-cooking properties of corn. *Cereal Chem.* 70:762-764.
- Spencer, H., Kramer, L., and Osis, D. 1988. Do protein and phosphorus cause calcium loss? *J. Nutr.* 118:657-660.
- 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.
- Urizar, A. L., and Bressani, R. 1997. Efecto de la nixtamalización del maíz sobre el contenido de ácido fítico, calcio, hierro total y disponible. *Arch. Latinoam. Nutr.* 47:217-223.
- 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.
- Wyatt, C. J., and Triana-Tejas, A. 1994. Soluble and insoluble Fe, Zn, Ca and phytates in foods commonly consumed in Northern Mexico. *J. Agric. Food Chem.* 42:2204-2209.
- Wyatt, C. J., Hernández-Lozano, M., Méndez, R. O., Valencia, M. E. 2000. Effect of different calcium and phosphorus content in Mexican diets on rat femur bone growth and composition. *Nutr. Res.* 20: 427-437.
- Zhou, J. R., and Erdman, Jr., J. W. 1995. Phytic acid in health and disease. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 35:495-508.

[Received February 26, 2009. Accepted June 17, 2009.]

Efecto de la Temperatura y Tiempo de Reposo en el Contenido de Calcio y Fósforo en Harinas de Maíz Nixtamalizado Obtenidas mediante el Proceso de Nixtamalización Tradicional

I. Rojas-Molina^{1*}, E. Gutiérrez², A. Rojas³, M. Cortés-Álvarez¹, L. Campos-Solís², M. Hernández-Urbiola^{4,5}, J.L. Arjona², A. Cornejo^{2,6} and M.E. Rodríguez-García^{6,7}

RESUMEN

Este artículo muestra el efecto de la temperatura (92, 82 y 72 °C) durante la etapa de cocción y tiempo de reposo (0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 y 15 h) en el contenido de calcio y fósforo en harinas de maíz nixtamalizado obtenidas mediante el proceso de nixtamalización tradicional (HMN). Adicionalmente el contenido de calcio y fósforo en harinas de maíz nixtamalizado comerciales fueron analizados con el objeto de compararlas. Las técnicas de Espectroscopía de Absorción Atómica y Espectroscopía UV-VIS fueron utilizadas para estudiar el contenido de calcio y fósforo, así como la relación Ca^{2+}/P en HMN y harinas de maíz nixtamalizado comerciales. La fijación e identificación de los compuestos de calcio en el pericarpio de granos de maíz nixtamalizados fueron analizados mediante las técnicas de Microscopía Electrónica de Barrido a Bajo Vacío (LV-SEM), Espectroscopía de Energía Dispersa y Difracción de Rayos-X. Además se reportó la pérdida de materia seca. Se encontró que a medida que la temperatura aumenta, el contenido de Ca^{2+} también aumenta, mientras que el contenido de fósforo disminuye con diferencias estadísticas ($P \leq 0.05$) en tratamientos térmicos. El contenido de Ca^{2+} en harinas de maíz nixtamalizado comerciales fue significativamente menor ($P \leq 0.05$) que en harinas de maíz nixtamalizado por el método tradicional (HMN). Por otro lado no se encontraron diferencias estadísticas ($P \leq 0.05$) entre los contenidos

de fósforo en HMN comerciales y HMN. Los compuestos de calcio identificados como calcita fueron detectados en el pericarpio de granos de maíz. Se observaron diferencias estadísticas ($P \leq 0.05$) en el contenido de fósforo en HMN obtenidas a diferentes temperaturas de cocción. Adicionalmente la disminución de los niveles de fósforo, está correlacionada con el tiempo de reposo a 92 °C ($r = -0.91$). A 72, 82 y 92 °C, el promedio de la relación Ca^{2+}/P en HMN fue de 0.45 ± 0.03 , 0.61 ± 0.05 y 0.82 ± 0.05 , respectivamente indicando una correlación entre este parámetro y la temperatura de cocción. Sin embargo, no se encontró correlación entre la relación Ca^{2+}/P y el tiempo de reposo, Este comportamiento se le atribuye al calcio fijado al grano de maíz. En HMN comerciales la relación Ca^{2+}/P fue significativamente menor ($P \leq 0.05$) que en la HMN. Hubo una relación significativa ($P \leq 0.01$) entre la pérdida de materia seca y el tiempo de reposo ($r = 0.99$) en HMN, este factor influencia la relación Ca^{2+}/P debido al calcio fijado en el pericarpio. A 82 y 92 °C, los valores máximos de la relación Ca^{2+}/P fueron detectados en HMN con un tiempo de reposo de 7h, y 9h a 72 °C. Estos resultados se pueden utilizar con objetivos industriales, para alcanzar el valor máximo de la relación Ca^{2+}/P y al mismo tiempo evitar la pérdida del pericarpio para incrementar las propiedades funcionales de las HMN.

En la dieta los componentes minerales son esenciales para el aumento de la densidad mineral ósea durante el período de crecimiento y son responsables de la magnitud de la pérdida de minerales del hueso relacionados con la edad (Michaelsen et al 1994). Específicamente la absorción de calcio juega un papel importante en la salud ósea (Cashman 2004). En los Estados Unidos de Norteamérica y Europa, los lácteos son las principales fuentes de calcio en la dieta. Mientras que en México las tortillas son la principal fuente de este mineral. Las tortillas y los productos nixtamalizados (vgr. frituras, tacos fritos, tamales y harinas de maíz instantáneas) son producidos mediante el proceso de nixtamalización. Es importante resaltar que el tratamiento térmico alcalino contempla las etapas de cocción y tiempo de reposo de los granos con $Ca(OH)_2$ mientras que el proceso de nixtamalización

Involucra las etapas antes mencionadas y posteriormente la molienda húmeda y seca de los granos de maíz procesados para obtener tortillas, harinas de maíz instantáneas, etc. Estos productos son abundantes en calcio debido al hidróxido de calcio añadido a los granos de maíz durante la etapa de cocción de este proceso (Bressani 1990, Serna-Saldívar et al 1990). Wyatt y Triana (1994) explicaron que la dieta mexicana tradicional es alta en fósforo que existe principalmente en forma de fitato. El proceso de cocción alcalina reduce el contenido de ácido fítico en granos de maíz crudos, aunque las pérdidas varían de 29.9 a 36.1% dependiendo de las condiciones de proceso (Gómez-Aldapa et al 1996, Urizar y Bressani et al 1997, Bressani et al 2002).

Algunas investigaciones donde se utilizaron modelos biológicos describen que, aunque la concentración de calcio en el cuerpo sea la adecuada y la ingesta diaria cubra las recomendaciones de la dieta, la desmineralización de los huesos se presenta si la relación Ca^{2+}/P en la dieta no es satisfactoria (Anderson y Draper 1972). Nnawke y Kies (1985) reportaron que las ratas alimentadas a base de dietas ricas en fósforo mostraron un alto riesgo de fractura ósea. De manera similar, Spencer et al (1988) mostraron que las dietas con un alto contenido en fósforo tienen un efecto negativo en la fijación del calcio en los huesos. Calvo y Park (1996) observaron que el fósforo modifica de manera significativa el metabolismo del calcio. Wyatt et al (2000) estudiaron el crecimiento y la composición del fémur de ratas alimentadas a base de dietas con diferentes

1 Facultad de Ciencias Naturales, Licenciatura en Nutrición, Universidad Autónoma de Querétaro, Av. de las Ciencias S/N, C.P. 76230, Juriquilla, Querétaro, México.

2 Laboratorio Experimental Multidisciplinario-Ingeniería en Alimentos, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Cuautitlán, Av. 1° de mayo S/N, C.P. 54740, Cuautitlán, México.

3 Laboratorio de Investigación Química y Farmacológica de Productos Naturales, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México.

4 Posgrado en Ciencias Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, México.

5 Universidad del Valle de México, Campus Querétaro, Querétaro, Qro, México.

6 Departamento de Investigación y Posgrado, Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Querétaro, Cerro de las Campanas S/N, Querétaro, México.

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

contenidos de calcio y fósforo con los niveles encontrados en la dieta mexicana tradicional. Estos autores detectaron que la relación Ca^{2+}/P tiene un mayor efecto en la formación de la masa ósea y en el depósito de calcio que en el contenido de calcio mismo.

Martínez-Flores et al (2000) evaluaron la biodisponibilidad del calcio en ratas alimentadas a base de dietas elaboradas con maíz crudo, tortillas preparadas con masa extruida adicionada con hidróxido de calcio, tortillas preparadas con masa extruida sin hidróxido de calcio y tortillas preparadas mediante el proceso de nixtamalización tradicional. Estos autores encontraron que el fémur de ratas alimentadas a base de tortillas obtenidas mediante el proceso de extrusión [con $Ca(OH)_2$] y de ratas alimentadas a base de tortillas preparadas mediante el proceso de nixtamalización tradicional eran más duros y gruesos y mostraron una mayor calidad cristalina, tenían una mayor resistencia a la fractura y concentración de calcio que el fémur de ratas alimentadas a base de tortillas obtenidas mediante el proceso de extrusión [sin $Ca(OH)_2$] y a base de maíz crudo. También observaron que las dietas preparadas con tortillas extruidas adicionadas con $Ca(OH)_2$ y las tortillas obtenidas mediante el proceso de nixtamalización tradicional dan lugar a una mejor relación Ca^{2+}/P (1.18 y 1.24 respectivamente) que las dietas preparadas con maíz crudo (0.77) y tortillas extruidas sin álcali (0.79). Dicho trabajo puso en evidencia que el proceso de nixtamalización es un factor que contribuye a la mejora de la relación Ca^{2+}/P , favoreciendo la biodisponibilidad del calcio. Sin embargo, estos autores solo estudiaron una condición de proceso, no sugirieron niveles de variación en las condiciones de proceso donde la relación Ca^{2+}/P fuera la más adecuada.

Bressani et al (2004) estudiaron las condiciones de proceso en los contenidos de ácido fólico, calcio, hierro y zinc, en la cocción alcalina del maíz. Encontraron una dependencia significativa de la concentración de calcio con la cocción y el tiempo de reposo, pero no con la temperatura de reposo. Aunque estos autores no consideraron la influencia de estos y otros factores tales como la temperatura de cocción en la relación Ca^{2+}/P en el maíz nixtamalizado. De igual manera Gutiérrez et al (2007) explicaron que la temperatura de cocción modifica la difusión de agua y calcio al interior de los granos de maíz, esta transferencia de masa está asociada con los cambios en el pericarpio.

La relación Ca^{2+}/P es un parámetro esencial que se debe considerar en una dieta enfocada a la prevención y control de enfermedades asociadas con anomalías en la estructura ósea. Para los humanos la relación Ca^{2+}/P en la dieta varía de 1.0 a 1.5 para conservar la densidad mineral del hueso en hombres adultos (Whitting et al 2002).

Por otro lado, la pérdida de materia seca es importante en el proceso de nixtamalización, este parámetro está asociado con el proceso de lavado para remover el exceso de iones calcio en las capas externas del pericarpio y el endospermo (Fernández-Muñoz et al 2004, Rojas-Molina et al 2007).

En este contexto, el objetivo principal de este trabajo fue evaluar el efecto de la temperatura durante la etapa de cocción y el tiempo de reposo en el contenido de calcio y fósforo en harinas de maíz nixtamalizado (HMN) obtenidas mediante el proceso de nixtamalización tradicional. Estos análisis fueron realizados mediante las técnicas de Espectrofotometría de Absorción Atómica, Microscopía Electrónica de Barrido a Bajo Vacío, Difracción de Rayos-X y Espectrofotometría UV-VIS, para identificar las condiciones de proceso que alcancen una relación Ca^{2+}/P entre 1.0 y 1.5 en harinas de maíz nixtamalizado. Además los contenidos de

calcio y fósforo, así como la relación Ca^{2+}/P en dos HMN comerciales fueron analizadas con el objeto de compararlas. Los resultados que se obtuvieron en esta investigación proveen valiosa información que concierne a las condiciones que se pueden utilizar en procesos de nixtamalización para aumentar la biodisponibilidad del calcio contenido en productos de maíz nixtamalizados, y en consecuencia para mejorar sus propiedades funcionales en el organismo humano.

MATERIALES Y METODOS

Preparación de las muestras

Este estudio se llevó a cabo utilizando maíz híbrido de alta calidad protéica variedad híbrido 368C (QPM H-368C) proporcionado por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP-Delegación Experimental del Bajío Guanajuato México). Los granos de maíz (3kg) fueron cocidos a 92, 82 y 72 °C durante 25, 40 y 65 min respectivamente. Los tiempos de reposo fueron 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 y 15 h para cada temperatura. El proceso de nixtamalización fue realizado utilizando la metodología reportada por Gutiérrez et al (2007). Cada muestra fue preparada por separado constituyendo un evento independiente para obtener cinco repeticiones para cada experimento. Las muestras de maíz cocido (400g) fueron utilizadas para obtener muestras de pericarpio separándolo manualmente de los granos de maíz nixtamalizados. Posteriormente las muestras de pericarpio fueron secadas utilizando un horno de vacío a 40 °C durante 6 horas, hasta alcanzar un contenido de humedad del 10%. Además el maíz nativo (MN) y las muestras de dos harinas de maíz nixtamalizado comerciales, muestra A (MA) y muestra B (MB) fueron analizadas con el objeto de compararlas. El análisis de cada muestra se realizó por triplicado.

Contenido de calcio residual en Harinas de Maíz Nixtamalizado

El contenido de calcio en maíz nativo (MN), maíz con tratamiento térmico sin $Ca(OH)_2$ (MTT), harina de maíz nixtamalizado (HMN), harina de maíz comercial muestra A (MA) y muestra B (MB) fue determinado por el método de cenizas 968.08 (AOAC, 1998). El contenido de calcio residual fue medido con un Espectrómetro de absorción atómica de doble flama (AAAnalyst 300 Perkin Elmer), equipado con una lámpara de deuterio, con un corrector de trasfondo y una lámpara de cátodo hueco (específica para Calcio). El equipo fue operado a 12 psi de aire seco, 70 psi de acetileno, usando una flama de 422.7 nm, una lámpara de uso corriente a 10 mA y un ancho de corte de 0.7 nm. Se reportaron los promedios de 3 mediciones para cada muestra.

Caracterización de las muestras por Microscopía Electrónica de Barrido a Bajo Vacío (LV-SEM)

El análisis morfológico de las muestras de pericarpio, con y sin proceso térmico alcalino, fue llevado a cabo en un microscopio electrónico de barrido a bajo vacío, LV-SEM, JSM5600LV, con una resolución de 5nm a bajo vacío instalado con un espectrofotómetro de rayos-X (Noran Instrument modelo Voyager 4.2.3). Previo al análisis las muestras de pericarpio fueron colocadas en un soporte con cinta de carbón electroconductor, montado en un soporte de aluminio. El análisis fue realizado bajo las siguientes condiciones de operación: un voltaje de aceleración electrónica de 20 kV y una presión dentro de la cámara de 12-20 Pa para obtener las imágenes

de la superficie fracturada con la señal del electrón aislado. El análisis de micro componentes del pericarpio fue realizado utilizando un espectrofotómetro de energía dispersa EDS. La caracterización del pericarpio fue realizada a 10 muestras en 25 diferentes regiones, girando cada una de ellas para mover el enfoque del microscopio. A lo largo las vistas de las superficies de los pericarpios aislados fueron capturadas para obtener las micrografías.

Caracterización por Difracción de Rayos-X

Los análisis de difracción de rayos-X fueron realizados a las muestras de pericarpio removido de los granos de maíz sometidos a una cocción alcalina a 92 °C y 0, 3, 5, 7 y 9 h de tiempos de reposo. Los tiempos de reposo antes mencionados fueron seleccionados de acuerdo a Gutiérrez et al (2007) por las siguientes razones, la etapa de cocción termina a las 0 h, 3 h está relacionada con la permeabilidad parcial (percolación) del pericarpio, 5 h está asociado con la separación del pericarpio y endospermo. Finalmente 7 y 9 h representan la remoción parcial del pericarpio que promueve la entrada de calcio y agua en las capas internas de los granos de maíz. Las muestras de pericarpio procesado y nativo fueron sometidas a reducción de tamaño hasta obtener un polvo fino y se hicieron pasar a través de una malla de 150 µm. Las muestras de polvo fueron empacadas en bolsas con cerrado hermético. Los patrones de difracción de rayos-X de las muestras fueron grabados en un difractómetro (Siemens D5000) operando a 35 kV y 15 mA con una radiación de CuK α y una longitud de onda $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$. Se utilizó el software de espectro (Diffract/AT, Socavin VI.2) para analizar los patrones de difracción de rayos-X de las muestras experimentales.

Contenido de Fósforo en Harinas de Maíz Nixtamalizadas

El contenido de fósforo en MN, MTT, HMN, MA y MB, fue determinado por el método oficial del AOAC 965.17 (2000). La relación Ca²⁺/P fue obtenida mediante la división del contenido de calcio y fósforo observado para cada muestra a diferentes tiempos de remojo. Todas las mediciones fueron realizadas por triplicado.

Pérdida de Materia Seca del Maíz durante el Proceso de Nixtamalización Tradicional

Después de los tiempos de reposo indicados (de 0 a 15 h) a cada temperatura (72, 82 y 92 °C), las muestras fueron lavadas dos veces y el agua del primer y segundo lavado, así como el agua de reposo fueron recolectadas y evaporadas en una estufa a bajo vacío (40 °C) hasta deshidratar (8% contenido de humedad).

Los sólidos totales fueron utilizados para calcular el total de la pérdida de materia seca como una función del tiempo de reposo (Fernández-Muñoz et al 2004). Las mediciones fueron llevadas a cabo por cuadruplicado.

Análisis Estadístico

El análisis de varianza fue llevado a cabo utilizando el procedimiento de la tabla ANOVA (Sistema de Software Gráfico, Manufistics, Inc. USA) aplicando un test de múltiple rango con una probabilidad $P \leq 0.05$. El efecto de la temperatura y tiempo de reposo en el contenido de calcio, carbonato de calcio y fósforo, así como la pérdida de materia seca fueron estudiados como factores.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido de Calcio en Harinas de Maíz Nixtamalizado

La Figura 1 muestra el contenido de calcio en harinas de maíz nixtamalizado en función del tiempo de reposo para tres temperaturas de cocción (72, 82 y 92 °C). Esta figura muestra también el contenido de calcio en dos harinas de maíz nixtamalizado comerciales (MA y MB), así como el maíz nativo (MN) y el maíz con tratamiento térmico (MTT). Es evidente que el proceso de nixtamalización tradicional e industrial aumentó significativamente ($P < 0.05$) el contenido de calcio en harinas de maíz instantáneas, en comparación al MN y MTT. Es importante denotar que el contenido de calcio en harinas de maíz obtenidas mediante el proceso de nixtamalización tradicional a 72, 82 y 92 °C es mayor (0.14 ± 0.02 , 0.17 ± 0.03 y 0.19 ± 0.03 , respectivamente) que el contenido de calcio en harinas de maíz obtenidas mediante el proceso industrial (0.13 ± 0.01). Esto significa que el contenido de calcio en harinas de maíz nixtamalizado es en promedio 33.85% mayor que el contenido de calcio en muestras de harina comercial MA y MB. La explicación a estos resultados es la siguiente, en el proceso de nixtamalización industrial el grano de maíz es sometido a una cocción en presencia de Ca(OH)₂ a través de un tornillo sin fin. Después, el grano de maíz es lavado para remover el exceso de cal y reducido de tamaño por medio de un molino de martillos evitando la etapa de reposo (Montemayor y Rubio 1983).

En otros procesos el grano de maíz es sujeto a la etapa de cocción durante 30-50 min. Después se deja reposar durante 60-120 min y es lavado, posteriormente el tiempo de reposo es menor que en el proceso de nixtamalización tradicional (Gutiérrez et al 2007,

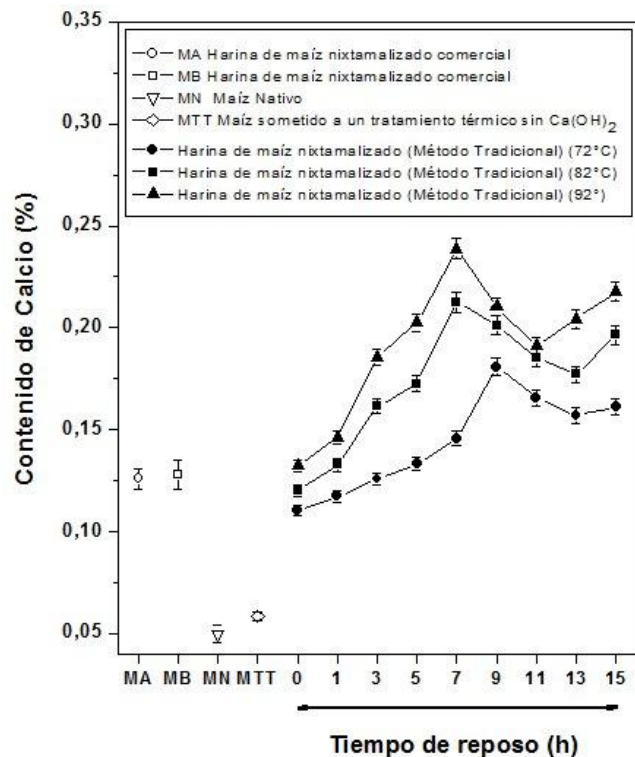


Fig. 1. Contenido de calcio en maíz nativo, harinas de maíz comerciales, muestra control y harinas de maíz instantáneas en función del tiempo de

reposo en muestras sometidas a una cocción a 72, 82 y 92 °C (1% Ca(OH)₂, p/v) utilizando el proceso de nixtamalización tradicional.

Bressani et al 1997). Bressani et al (2004) reportó que el tiempo de reposo tuvo un efecto significativo en el aumento del contenido de calcio. Otra posible explicación al bajo contenido de calcio en harinas de maíz nixtamalizado comerciales, está asociado con el hecho de que en el proceso de nixtamalización industrial la cáscara o pericarpio del grano de maíz en algunas ocasiones es removido intencionalmente durante la etapa de lavado, para evitar coloraciones indeseables (vgr. lignina) a los productos de maíz nixtamalizado (González et al 2004). Este punto es muy importante desde el punto de vista nutricional, ya que el pericarpio exhibe una alta capacidad de fijar calcio en la matriz de hemicelulosa (Reguera et al 2003) y en los microporos formados durante el proceso térmico alcalino (Gutiérrez et al 2007). En consecuencia, posteriormente la remoción parcial del pericarpio implica la pérdida de una fuente de calcio y fibra en la dieta. La difusión de iones calcio al endospermo a través del pericarpio, promueve cambios estructurales en el endospermo. Este hecho se relaciona con la gelatinización parcial o total del almidón (Rojas-Molina et al 2007).

Caracterización de las muestras por Microscopía Electrónica de Barrido a Bajo Vacío (LV-SEM)

La Figura 2. a-d muestra las micrografías de la vista de la superficie externa del pericarpio de maíz nativo al pericarpio de granos de maíz sometidos a una cocción alcalina a 92 °C obtenidos por LV-SEM. La Figura 2. a muestra el pericarpio del grano de maíz nativo, los filamentos elongados (FE) están asociados con fibras de celulosa, hemicelulosa y lignina que fueron reportados por Gutiérrez et al (2007). La Figura 2. b muestra el pericarpio del grano de maíz al final de la etapa de cocción (0 h de tiempo de reposo). La capa superficial del pericarpio (capa cerosa) fue removida como resultado del proceso térmico alcalino (Hurtado et al 2005), las capas internas son expuestas a la solución alcalina, esta figura muestra también el depósito de gránulos blancos (GB, ver Figura 2. b-f). Mediante el uso de Espectrometría de Energía Dispersa, estas partículas fueron identificadas como compuestos de calcio. Las Figuras 2.c y 2.d muestran el estado del pericarpio para las muestras con 3 y 5 h de tiempo de reposo respectivamente. Es evidente que los compuestos de calcio fijados en esta estructura aumentaron en función del tiempo de reposo. La Figura 2.d muestra la separación entre el pericarpio y endospermo a 5 h de tiempo de reposo como fue reportado por Gutiérrez et al (2007). En contraste las Figuras 2.e y 2.f evidencian que los gránulos blancos disminuyen en comparación con los tiempos de reposo previos. La disminución de compuestos de calcio en el pericarpio ha sido asociado a la pérdida de materia seca, la cual está constituida por grasa y fibra localizada principalmente en el gérmen y pericarpio removidos durante el proceso de nixtamalización (Ortega et al 1986, Almeida-Domínguez et al 1998). Las imágenes SEM de las muestras de pericarpio obtenidas a 82 y 72 °C muestran la misma tendencia en tiempos de reposo más largos que en los obtenidos a 92 °C.

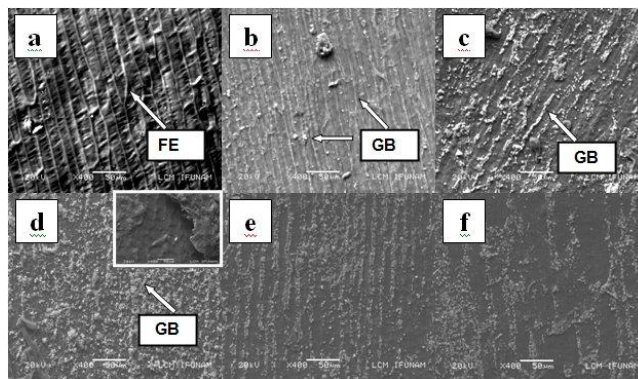


Fig. 2. Imágenes LV-SEM de la superficie de la fracción de pericarpio del grano de maíz QPM H-368C. a. Maíz nativo, b-f Pericarpio de maíz nixtamalizado sometidas a una cocción a 92 °C (1% Ca(OH)₂, p/v) y 0, 3, 5, 7 y 9 h de tiempo de reposo. GB = Gránulos Blancos.

Caracterización por Difracción de Rayos-X

La Figura 3 corresponde a los patrones de difracción de Rayos-X del pericarpio de granos de maíz sometidos a un tratamiento térmico alcalino a 92 °C y reposado a 0, 3, 5, 7, 9 y 15 h. Los patrones fueron desplazados para una mejor comparación. Los patrones de difracción de rayos-X de las muestras de pericarpio presentan un patrón de material amorfo, esto puede ser explicado por el hecho de que el pericarpio está constituido principalmente por hemicelulosa (70%). Este compuesto es un heteropolisacárido amorfo (González et al 2004), por lo tanto predomina en el patrón de difracción de rayos-X de las muestras. Las líneas verticales en la Figura 3 fueron identificadas como cristales de calcita de clase hexagonal (CaCO₃) (Tarjeta 05-0586 ICDD Datos de Difracción Internacional). El CaCO₃ se forma como resultado de la siguiente reacción química: Ca(OH)₂ (solución alcalina) + CO₂ (atmosférico) → CaCO₃ + H₂O, como fue descrito por Galván-Ruiz et al (2007). La identificación de Rayos-X corresponde a las partículas blancas encontradas en el pericarpio después de la etapa de cocción como se muestra en la Figura 2.b, c, d, e y f. Es importante denotar que a tiempos de reposo prolongados, los picos característicos en los patrones de difracción de rayos-X para la calcita mostraron una mejor definición a 30° del ángulo de difracción 2θ (ver flecha). De igual manera González et al (2004) reportaron que la intensidad del pico localizado a un ángulo de 2θ, se incrementó cuando la concentración de Ca(OH)₂ usada para aislar el pericarpio nixtamalizado también se incrementó, aunque estos autores no proporcionan una explicación para este hallazgo. Los mismos autores sugirieron que la remoción de las fracciones amorfas del pericarpio (principalmente hemicelulosas) proporcionan una mejor resolución del material con mayor calidad cristalina.

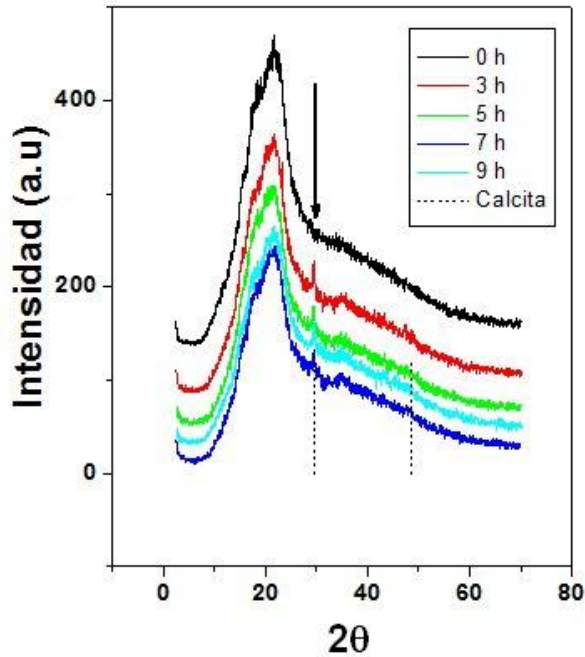


Fig. 3. Patrones de difracción de rayos-X del pericarpio del maíz nixtamalizado a 92 °C (1% Ca(OH)₂, p/v) y 0, 3, 5, 7 y 9 h de tiempo de reposo.

Contenido de Fósforo en Harinas de Maíz Nixtamalizado

Los valores del contenido de fósforo en maíz nativo (MN), harinas de maíz nixtamalizado comercial (MA y MB), MTT y HMN se muestran en la Figura 4. El contenido de fósforo en las muestras MA, MB y HMN obtenidas a 72, 82 y 92 °C fue en promedio 0.27 ± 0.01, 0.22 ± 0.01, 0.31 ± 0.02, 0.28 ± 0.02 y 0.23 ± 0.01 respectivamente, estos resultados concuerdan con Bressani et al (2001), quienes reportaron un contenido de fósforo en un rango de 0.22 a 0.35 para harinas de maíz nixtamalizado industriales. La Figura 4 muestra también que el contenido de fósforo en harinas de maíz nixtamalizado disminuye significativamente ($P \leq 0.05$) con respecto al del MN y MTT. La figura muestra que a medida que la temperatura aumentó el contenido de fósforo disminuyó con diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre las temperaturas de proceso. Hubo una correlación significativa entre el contenido de fósforo y la temperatura de cocción ($r = -0.95$). El tiempo de reposo tuvo un efecto muy importante en la reducción del contenido de fósforo, principalmente a 92 °C, donde se detectó una correlación significativa entre los niveles de fósforo y el tiempo de reposo ($r = -0.91$). El ácido fítico y sus sales son las principales formas químicas del almacenamiento de fósforo en semillas de cereal y oleaginosas (Wyatt y Triana 1994, Zhou y Erdman 1995), y el contenido de fósforo fítico en granos de maíz representa entre un 61 y 77% del fósforo total (Nelson et al 1968, O'Dell et al 1972, Haug y Lanstzsch 1983, Eeckhout y De Paepe 1994) por lo tanto nuestros resultados concuerdan con Gómez-Aldapa et al (1996), Urizar y Bressani (1997) y Bressani et al (2002), ya que ellos reportaron pérdidas de ácido fítico en harinas de maíz nixtamalizado. Nuestros datos también concuerdan con los obtenidos por Bressani et al (2004), quienes encontraron un efecto significativo del tiempo de reposo en la reducción de los niveles de ácido fítico en el maíz sometido a una cocción alcalina. Sin embargo no hubo interacciones significativas (P

≤ 0.0001) para la temperatura y tiempo de reposo, como fue reportado por Bressani et al (2004). Esta discrepancia se le puede atribuir a la variedad de maíz y a las condiciones del proceso alcalino utilizadas en ambas investigaciones.

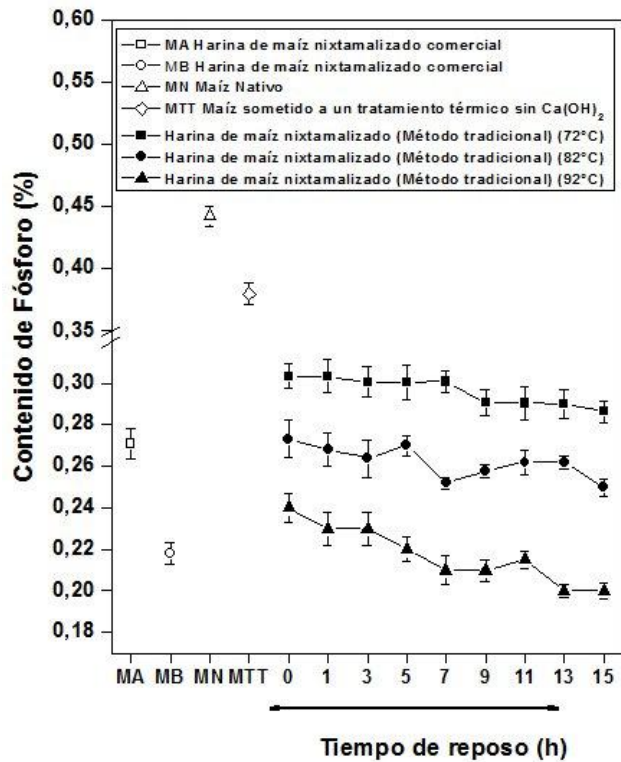


Fig. 4. Contenido de fósforo en maíz nativo, harinas de maíz comerciales, muestra control y harinas de maíz instantáneas en función del tiempo de reposo en muestras sometidas a una cocción a 72, 82 y 92 °C (1% Ca(OH)₂, p/v) utilizando el proceso de nixtamalización tradicional.

Relación Calcio/Fósforo en Harinas de Maíz Nixtamalizado

La Figura 5 muestra la relación Ca²⁺/P en función del tiempo de reposo. Es evidente que la relación Ca²⁺/P en harinas de maíz nixtamalizado aumentó significativamente ($P \leq 0.05$) con respecto a la relación obtenida por el MN y MTT, aunque los cambios en la relación Ca²⁺/P no fueron proporcionales al tiempo de reposo, indica que la relación Ca²⁺/P está relacionada directamente con los cambios en el contenido de Ca²⁺ y P. En una tendencia similar a la presentada por los datos mostrados en la Figura 1, los valores máximos de la relación Ca²⁺/P para 82 y 92 °C fueron detectados a 7h, mientras que para 72 °C el valor máximo de la relación Ca²⁺/P fue obtenido a 9 h. Por otro lado, las relaciones Ca²⁺/P obtenidas para harinas de maíz nixtamalizado comerciales (MA y MB) fueron menores que los valores observados en harinas de maíz nixtamalizado. Estos hallazgos son consecuencia del bajo contenido de calcio en las muestras MA y MB debido al uso de tiempos de reposo cortos durante el proceso industrial utilizado para su elaboración (Bressani et al 2007). Además la Figura 5 presenta los datos que constituyen una evidencia de que la relación Ca²⁺/P aumenta ($P \leq 0.05$) en función de la temperatura de cocción.

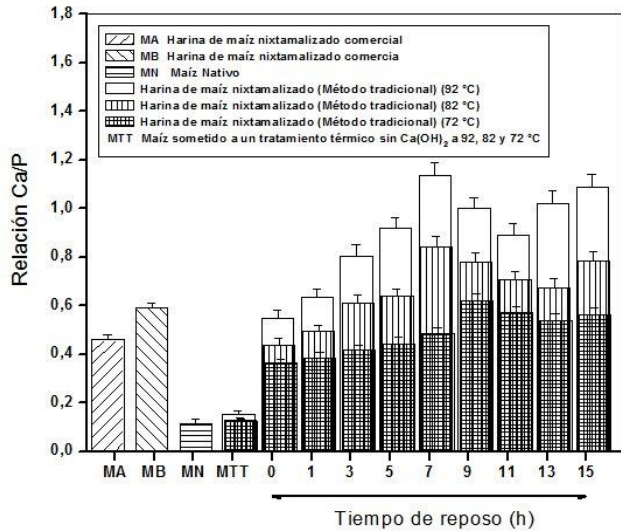


Fig. 5. Relación Ca^{2+}/P en maíz nativo, harinas de maíz comerciales, muestra control y harinas de maíz instantáneas en función del tiempo de reposo en muestras sometidas a una cocción a 72, 82 y 92 °C (1% $\text{Ca}(\text{OH})_2$, p/v) utilizando el proceso de nixtamalización tradicional.

Pérdida de Materia Seca del Maíz durante el Proceso de Nixtamalización Tradicional

La pérdida de materia seca de HMN fue en promedio 1.62 ± 0.77 , 2.38 ± 0.72 y 3.33 ± 1.43 para 72, 82 y 92 °C respectivamente con diferencias estadísticas entre cada tratamiento ($P \leq 0.05$). Estos valores son menores que aquellos reportados por Pflugfelder et al (1988), Serna-Saldívar et al (1993) y Almeida- Domínguez et al (1998), quienes observaron pérdidas en rangos de 4.42 a 18.79%. Los valores más bajos para la pérdida de materia seca obtenidos en esta investigación se le atribuyen a las características del pericarpio del maíz QPM, el cual no es removido completamente durante la cocción y el tiempo de reposo (Sproule et al 1988). La pérdida de materia seca ha sido relacionada con el procedimiento de lavado (Bressani y Billeb 2001). Hubo una correlación significativa ($P \leq 0.01$) entre tiempo de reposo y pérdida de materia seca a 72, 82 y 92 °C ($r = 0.99$, $r = 0.98$ y $r = 0.99$, respectivamente). El aumento de la pérdida de materia seca en función de la temperatura y el tiempo de reposo mostrados en la Figura 6 fue también observado por Sahai et al (2000). Estos autores describen que la temperatura de cocción, concentración de calcio y tiempo de reposo durante la nixtamalización gobiernan el total de la pérdida de materia seca. La Figura 6 evidencia que en efecto, hay condiciones críticas en la temperatura (92 °C) y tiempo de reposo (de 7 a 15 h) donde se encuentra el máximo de pérdida de materia seca. Esta característica es muy importante puesto que la pérdida de materia seca ha sido asociada con la pérdida de grasa y fibra principalmente localizadas en el germen y pericarpio removidos durante el proceso de nixtamalización (Ortega et al 1986, Almeida- Domínguez et al 1998). Esto implica que el pericarpio es eliminado principalmente durante la etapa de lavado, lo cual representa una pérdida importante de calcio fijado a esta estructura anatómica del grano de maíz.

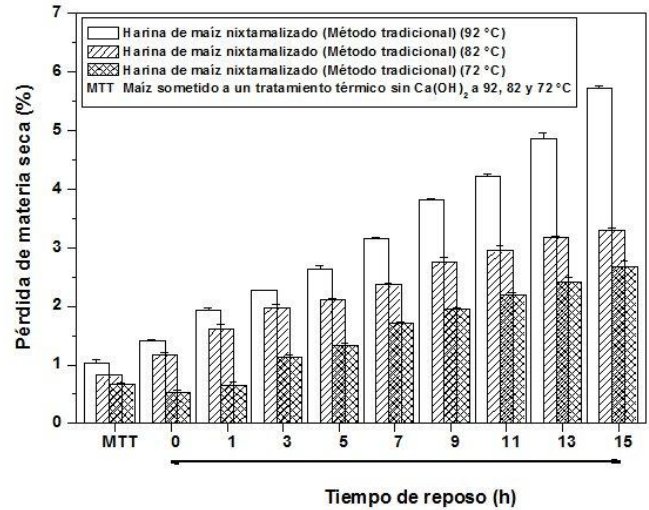


Fig. 6. Pérdida de materia seca en muestra control y harinas de maíz instantáneas en función del tiempo de reposo en muestras sometidas a una cocción a 72, 82 y 92 °C (1% $\text{Ca}(\text{OH})_2$, p/v) utilizando el proceso de nixtamalización tradicional.

Conclusiones

Los resultados derivados de este trabajo mostraron que el contenido de calcio en HMN y harinas de maíz nixtamalizado comerciales es mayor que en MN y MTT. En HMN, la concentración de calcio aumenta con la temperatura de cocción y el tiempo de reposo. Sin embargo como se reportó previamente, este aumento en el contenido de calcio no fue proporcional al tiempo de reposo. Un tiempo de reposo más corto utilizado en los procesos industriales para la producción de harinas de maíz nixtamalizado comerciales es en parte responsable de las diferencias encontradas entre la concentración de calcio en HMN y harinas de maíz nixtamalizado comerciales. Con respecto a esto, otros autores reportaron que en el caso de la variedad de maíz analizada en el presente estudio, la mayor concentración de calcio en el total de los granos de maíz es fijado al pericarpio del maíz. Por consiguiente, un bajo contenido de calcio en harinas de maíz nixtamalizado comerciales también se le atribuye al hecho de que en el proceso de nixtamalización industrial, el pericarpio del grano de maíz es removido intencionalmente durante la etapa de lavado, para evitar fuentes de color indeseable a los productos de maíz nixtamalizado. Las imágenes de LV-SEM mostradas en este reporte evidencian que los cambios en el contenido de calcio en HMN en función del tiempo de reposo pueden ser parcialmente atribuidas, a los cambios morfológicos y fisicoquímicos que se llevan a cabo en el pericarpio del grano de maíz durante el proceso térmico alcalino. Los patrones de difracción de Rayos-X indican que una fracción de calcio retenido en el pericarpio reacciona con el CO_2 atmosférico, dando como resultado la formación de CaCO_3 . Este factor es muy importante desde un punto de vista nutrimental pues el CaCO_3 es una fuente de calcio adecuada para los humanos. El contenido de fósforo en HMN y harinas de maíz nixtamalizado comerciales fue menor que en MN y MTT. En contraste con el contenido de calcio, la concentración de fósforo disminuye con la temperatura de proceso debido a la eliminación de ácido fítico, como fue reportado anteriormente. Los valores máximos de la relación Ca^{2+}/P fueron detectados en HMN obtenidas a altas temperaturas (92 °C), donde el contenido de calcio

es mayor y la concentración de fósforo la más baja. La relación Ca^{2+}/P fue menor en las harinas de maíz nixtamalizado comerciales, sugiriendo que las harinas de maíz nixtamalizado industriales deben ser enriquecidas con calcio. La pérdida de materia seca aumenta con la temperatura de proceso y una alta correlación fue detectada entre la pérdida de materia seca y el tiempo de reposo. La pérdida de materia seca tiene influencia en la relación Ca^{2+}/P , debido a que en esta variedad de maíz el pericarpio fija la mayor concentración de calcio. Es bien conocido que el pericarpio constituye parte de la pérdida de materia seca. Finalmente los resultados obtenidos en este trabajo indican que para esta variedad de maíz las condiciones óptimas que se deben utilizar en procesos de nixtamalización industrial para obtener una máxima biodisponibilidad del calcio contenido en productos de maíz nixtamalizado considerando un tratamiento térmico de 92 °C y tiempo de reposo no mayor a 9 h.

Créditos/Agradecimientos

Este trabajo fue en parte apoyado por el CONACYT (Programa de Consolidación de Investigadores, Convocatoria 2008), México. Agradecemos a I.Q. Carmen Vásquez Ramos (Laboratorio de Fisicoquímica de Alimentos CFATA-UNAM), M. en C. Roberto Hernández Reyes (Instituto de Física-UNAM) por su soporte técnico. También agradecemos a la UAQ y a FES-Cuautitlán Campo I por las facilidades otorgadas a los autores para el desarrollo de este estudio.

Literatura citada

Almeida-Domínguez, H.D., Ordoñez-Durán, G.G. and Almeida, N.G. 1998. Influence of kernel damage on corn nutrient composition, dry matter losses and processability during alkaline cooking. *Cereal Chem.* 75(1):124-128.

Anderson, G.H. and Draper, H.H. 1972. Effect of dietary phosphorus on calcium metabolism in intact and parathyroidectomized adult rats. *J. Nutr.* 102: 1123-1132.

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 of Association of Official Analytical Chemists International, 17th Ed. Methods 955.01 and 965.17. The Association: Gaithersburg, MD.

Bressani, R. 1990. Chemistry, technology and nutritive value of maize tortillas. *Food Rev. Int.* 6(2): 225-264.

Bressani, R., Rooney, L.W. and Serna, S.O. 1997. Nutritional quality 398 of nixtamalized corn masa flour. Achievement through fortification with micronutrients. Pages 120-150 in: Fortification of corn masa flour with iron and/or other nutrients- A Literature and Industry Experience Review. SUSTAIN. U.S. Agency for International Development. Washington, D.C.

Bressani, R., Billeb, A.C. 2001. Características de cocción por nixtamalización de once variedades de maíz. *Arch. Lat. Nut.* 51(1): 86-94.

Bressani, R., Turcios, J.C., Reyes, L., Mérida, R. 2001. Caracterización física y química de harinas industriales nixtamalizadas de maíz de consumo humano en América Central. *Arch. Lat. Nut.* 51(3): 309-315.

Bressani, R., Turcios, J.C., de Ruiz, A.S. 2002. Nixtamalization effects on the contents of phytic acid, calcium, iron and zinc in the

whole grain, endosperm and germ of maize. *Food Sci. Technol. Int.* 8: 81-86.

Bressani, R., Turcios, J.C., de Ruiz, A.S. and Palacios de P. P. 2004. Effect of processing conditions on phytic acid, calcium, iron and zinc contents of lime-cooked maize. *J. of Agr. and Food Chem.* 52: 1157-1162.

Calvo, M.S. and Park, Y.K. 1996. Changing phosphorus content of the U.S. diet: potencial for effects on bone. *J. Nutr.* 126(4Suppl): 1168S-1180S.

Cashman, K.D. 2002. Calcium intake, calcium bioavailability and bone health. *British J. of Nutrition.* 87, Suppl. 2: S169-S177.

Eeckhout, W. and De Paepe, M. 1994. Total phosphorus, phytate-phosphorus and phytase activity in plant feedstuffs. *Animal Feed Sci. Technol.* 47: 19-29.

Fernández-Muñoz, J.L., Rojas-Molina, I., González-Dávalos, 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 422 process. *Cereal Chem.* 81(1): 65-69.

Galván-Ruiz, M., Baños, L. and Rodríguez-García, M.E. 2007. Lime characterization as a food additive. *Sensing and Instrumentation Food Quality and Safety.* 1 (4): 169-175.

Gomez-Aldapa, C.A., Martínez-Bustos, F., Figueroa-Cárdenas, J.D., Ordorica-Falomir, C.A., González-Hernández, J. 1996. Cambios en algunos componentes químicos y nutricionales durante la preparación de tortillas de maíz elaboradas con harinas instantáneas obtenidas por extrusión continua. *Arch. Latinoam. Nutr.* 46: 315-316.

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. *J. of Agr. and Food Chem.* 52: 3831-3837.

Gutiérrez, E., Rojas-Molina, I., Pons-Hernández, J., Guzmán, H., Aguas-Ángel, B., Arenas, J., Fernández, P., Palacios, A., Herrera, G. and Rodríguez, M.E. 2007. Study of calcium ion diffusion in nixtamalized Quality Protein Maize as a function of the cooking temperature. *Cereal Chem.* 84(2): 186-194.

Harvey, J.A., Zobitz, M. M. and Pak, C.Y. 1988. Dose dependency of calcium absorption: A comparison of calcium carbonate and calcium citrate. *J. of Bone and Mineral Res.* 3(3): 253-258.

Haug, W. and Lantzsch, H.J. 1983. Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. *J. Sci. Food Agric.* 34: 1423-1426.

Heaney, R.P. 1991. Calcium supplements: Practical considerations. *Osteoporosis International.* 1(2): 65-71.

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.

Kenny, A. M., Prestwood, K.M., Biskup, B., Robbins, B., 447 Zayas, E., Kleppinger, A., Burleson, J.A. and Raisz, L.G. 2004. Comparison of the effects of calcium loading with calcium citrate or calcium carbonate on bone turnover in postmenopausal women. *Osteoporosis International.* 15(4): 290-294.

Martínez-Flores, H.E., Figueroa, C. J., Martínez-Bustos, F., González-Hernández, J., Rodríguez-García, M.E., Baños-López,

- A.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. *Int. J. of Food Sci. and Nutrition*. 53: 155-162.
- Michaelsen, K.F., Astrup, A.V., Mosekilde, L., Richelsen, B., Schroll, M. and Sorensen, O.H.1994. The importance of nutrition for the prevention of osteoporosis. *Ugeskr Laeger*. 156: 958-960.
- Montemayor, E. and Rubio, M. 1983. Alkaline cooked corn flour: Technology and uses in tortilla and snack products. *Cereal Foods World* 28: 577.
- Nelson, T.S., Ferrara, L.W., Storer, N.L. 1968. Phytate phosphorus content of feed ingredients derived from plants. *Poultry Sci*. 47: 1372-1274.
- Nnakwe, N., Kies, C. 1985. Mouse bone composition and breaking strength. Pages 89-104 in: *Nutritional Bioavailability of Calcium*. C. Kies ed. The American Chemical Society.: Washington, D.C. .USA.
- O'Dell, B.L., de Boland, A.R. and Koirtjohann, S. R. 1972. Distribution of phytate and nutritionally important elements among the morphological components of cereal grains. *J. Agr. Food Chem*. 20: 718-721.
- Ortega, E. L., Villegas, E. and Vassal, S.K. 1986. A comparative study of protein changes in normal and quality protein maize during tortilla making. *Cereal Chem*. 63: 446-451.
- Pflugfelder, R.L., Rooney, L.W. and Waniska, R.D. 1988. Dry matter losses in commercial corn masa production. *Cereal Chem*. 65(2):127-132.
- Reguera, E., Yee-Madeira, H., Fernández-Bertrán, J. Sánchez-Sinencio, 472 F. 2003. On the state of calcium in nixtamalized corn grains as detected by Mössbauer spectroscopy and related techniques. *Hyperfine Interact*. C5: 333-338.
- Rojas-Molina, I., Gutiérrez-Cortez, E., Palacios-Fonseca, A., Baños, L., Pons-Hernández, J.L., Guzmán, H., Pineda-Gómez, P. and Rodríguez, M.E. 2007. Study of the structural and thermal changes in the endosperm of Quality Protein Maize during traditional nixtamalization process. *Cereal Chem*. 84(4): 304-312
- Sahai, E., Surjewan, I., Mua, J.P., Buendia, M. O., Rowe, M. and Jackson, D.S. 2000. Dry matter loss during nixtamalization of a white corn hybrid: Impact of processing parameters. *Cereal Chem*. 77(2): 254-258.
- Serna-Saldívar, S. O., Gomez, M. H. and Rooney, L. W. 1990. The technology, chemistry and nutritive value of alkaline-cooked corn products. Pages 143–307 in: *Advances in cereal science and technology*. Y. Pomeranz, ed. The American Association of Cereal Chemists Inc.: St. Paul, MN. USA.
- Serna-Saldívar, S. O., Gómez, M. H., Almeida-Domínguez, H.D., Islas-Rubio, A. R., and Rooney, L. W. 1993. A method to evaluate the lime-cooking properties of corn. *Cereal Chem*. 70: 762-764.
- Spencer, H., Kramer, L., Osis, D. 1988. Do protein and phosphorus cause calcium loss?. *J. Nutr*. 118:657-660.
- 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.
- Urizar, A.L. and Bressani, R. 1997. Efecto de la nixtamalización del maíz sobre el contenido de ácido fítico, calcio, hierro total y disponible. *Arch. Latinoam. Nutr*. 47: 217-223.
- Whiting S. J., Boyle J. L., Thompson A., Mirwald R. L. and 496 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.
- Wyatt, C.J. and Triana-Tejas, A. 1994. Soluble and insoluble Fe, Zn, Ca and phytates in foods commonly consumed in Northern Mexico. *J. Agric. Food Chem*. 42: 2204-2209.
- Wyatt, C.J., Hernández-Lozano, M., Méndez, R.O., Valencia, M.E. 2000. Effect of different calcium and phosphorus content in Mexican diets on rat femur bone growth and composition. *Nutrition Res*. 20(3): 427-437.
- Zhou, J. R. and Erdman, J. W. Jr. 1995. Phytic acid in health and disease C. R. C. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 35: 495-508.

ANEXO

Este trabajo fue presentado en el siguiente congreso con modalidad de póster y presentación oral, cuya constancia aparece en la siguiente página.