



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN**

**EFFECTO DEL PROCESO DE NIXTAMALIZACIÓN POR  
MICROONDAS SOBRE EL CONTENIDO DE FUMONISINAS  
EN LAS TORTILLAS DE MAÍZ**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
INGENIERA EN ALIMENTOS**

**PRESENTA:  
DENISSE ANELEM CÁRDENAS RODRÍGUEZ**

**ASESOR:  
Dr. ABRAHAM MÉNDEZ ALBORES**



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

U.N.A.M.  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLÁN  
**ASUNTO: VOTO APROBATORIO**

**M. EN C. JORGE ALFREDO CUELLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE**

**ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos a comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

**Efecto del proceso de nixtamalización por microondas sobre el contenido de fumonisinas en las tortillas de maíz**

Que presenta la pasante: Denisse Anelem Cárdenas Rodríguez

Con número de cuenta: 404064529 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 ESPÍRITU"**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 09 de mayo de 2014.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

|                      | NOMBRE                           | FIRMA |
|----------------------|----------------------------------|-------|
| <b>PRESIDENTE</b>    | IBQ. Leticia Figueroa Villarreal |       |
| <b>VOCAL</b>         | Dra. Elsa Gutiérrez Cortez       |       |
| <b>SECRETARIO</b>    | Dr. Abraham Méndez Albores       |       |
| <b>1er. SUPLENTE</b> | QFB. Luis Alberto Parra Oaxaca   |       |
| <b>2do. SUPLENTE</b> | Dr. Omar Reyes Martínez          |       |

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

HHA/pm

## PRÓLOGO

El presente trabajo de investigación se desarrolló en el Laboratorio 14 (Alimentos, Micotoxinas y Micotoxicosis) de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria. Con parte de la información se publicó un artículo científico en la revista Iranian Journal of Public Health (ISSN:2251-6085, Factor de impacto 0.405, Journal citation reports, 2012).

---

## AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirme concluir una etapa tan importante en mi vida.

A mi papá (†):

Gracias por haber sido mi padre y amigo, por darme la vida, por protegerme y haberme enseñado que un acto de amor vale más que cualquier cosa en la vida. Gracias por caminar siempre a mi lado, hasta pronto ¡Te amo papá!

A mi mamá:

Por ser la maravillosa mujer que eres, por tu ejemplo, apoyo incondicional, y por la fortaleza que siempre me das aún en los momentos más difíciles. Gracias por todo, sin ti nunca hubiera llegado hasta donde estoy.

A mi hermano:

Gracias a ese hombre fuerte y valiente que para mí siempre será mi hermanito, por enseñarme tantas cosas, sobre todo gracias por incluir a Viry en nuestra familia y gracias a ambos por darme la oportunidad de disfrutar a mi pequeña Nathali.

A mis familias Cárdenas y Rodríguez:

Empezando con mis abuelitos gracias, por formar estas maravillosas familias, a las cuales es un orgullo pertenecer, gracias a todos mis tíos, primos, sobrinos, por estar siempre en las buenas y en las malas, gracias por creer en mí.

A mis amigas:

Claudia, Diana (†), Madeleine, Rosario, Vero, Yuliana, por su amistad, apoyo, alegría, y por tantos momentos maravillosos a su lado. Las quiero tanto.

A mis amigos:

Cristina, Damián, por su empuje y apoyo en la realización de este trabajo y sobre todo por su amistad, sé que siempre podré contar con ustedes.

A todos los que han estado conmigo en el tren de la vida Jenni, Sandra, Daniel, Joany, Ely, Ana, Sul, Nacho, Pepe, Nery, entre tantas grandes personas; sin duda el viaje no sería el mismo sin ustedes.

A mi asesor:

Dr. Abraham Méndez Albores por permitirme trabajar a su lado, por su amistad, apoyo incondicional y por enseñarme que siempre hay que ver más allá de lo que tenemos frente a nosotros.

A mis sinodales:

Gracias a todos por tomarse el tiempo de revisar este trabajo y sobre todo gracias por sus valiosas aportaciones.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por darme la oportunidad de pertenecer a esta gran institución.

*“Por mi raza hablará el espíritu”*

---

---

## ÍNDICE GENERAL

|                   |    |
|-------------------|----|
| Índice de tablas  | iv |
| Índice de figuras | v  |
| Abreviaturas      | vi |
| RESUMEN           | 1  |
| JUSTIFICACIÓN     | 2  |
| INTRODUCCIÓN      | 3  |

## CAPÍTULO I

|                                                                         |           |
|-------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1.1 Generalidades del maíz</b>                                       | <b>5</b>  |
| 1.1.1 Origen del maíz                                                   | 5         |
| 1.1.2 Estructura del grano de maíz                                      | 5         |
| 1.1.3 Composición química del grano de maíz                             | 7         |
| 1.1.4 Producción de maíz en México                                      | 9         |
| 1.1.5 Producción y consumo de maíz por variedad                         | 10        |
| <b>1.2 La tortilla de maíz</b>                                          | <b>10</b> |
| 1.2.1 Proceso de elaboración de las tortillas por el método tradicional | 11        |
| 1.2.2 Nixtamalización                                                   | 11        |
| 1.2.3 Molienda del nixtamal                                             | 12        |
| 1.2.4 Elaboración de las tortillas                                      | 12        |
| 1.2.5 Cambios importantes durante la elaboración de las tortillas       | 12        |
| 1.2.6 Transformación granos masa                                        | 12        |
| 1.2.7 Transformación masa-tortilla                                      | 13        |
| 1.2.8 Parámetros de calidad de la tortilla de maíz                      | 14        |
| <b>1.3 Procesos alternativos de nixtamalización</b>                     | <b>14</b> |
| 1.3.1 Proceso de nixtamalización ecológico                              | 14        |
| 1.3.2 Proceso de nixtamalización por extrusión                          | 14        |
| 1.3.3 Proceso de nixtamalización dieléctrico                            | 15        |
| 1.3.4 Proceso de nixtamalización con vapor                              | 15        |
| 1.3.5 Proceso de nixtamalización con infrarrojo                         | 16        |
| 1.3.6 Proceso de nixtamalización por microondas                         | 16        |
| • Generalidades de las microondas                                       | 17        |
| • El horno de microondas                                                | 19        |
| <b>1.4 Contaminación del maíz por microorganismos</b>                   | <b>20</b> |
| 1.4.1 Micotoxinas                                                       | 21        |
| 1.4.2 Fumonisinas                                                       | 21        |
| 1.4.3 Efecto de las fumonisinas                                         | 24        |

---

---

|                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------|----|
| 1.4.4 Control de las fumonisinas                                  | 25 |
| 1.4.5 Métodos analíticos para determinar fumonisinas              | 26 |
| 1.4.6 Prevención de la contaminación con fumonisinas              | 26 |
| 1.4.7 Destoxificación de fumonisinas por proceso térmico-alkalino | 27 |

## CAPÍTULO II

|                                       |    |
|---------------------------------------|----|
| <b>2.1 Propuesta de investigación</b> | 29 |
| 2.1.1 Hipótesis                       | 29 |
| 2.1.2 Objetivo general                | 29 |
| 2.1.3 Objetivos particulares          | 29 |
| 2.1.4 Cuadro metodológico             | 30 |

|                                 |    |
|---------------------------------|----|
| <b>2.2 Materiales y métodos</b> | 31 |
| 2.2.1 Materia prima             | 31 |
| 2.2.2 Maíz                      | 31 |
| 2.2.3 Cepa del hongo            | 31 |

### Objetivo Particular 1

|                                                  |    |
|--------------------------------------------------|----|
| <b>2.3 Propiedades físicas del grano de maíz</b> | 31 |
| 2.3.1 Tamaño del grano de maíz                   | 31 |
| 2.3.2 Peso de 1000 granos                        | 31 |
| 2.3.3 Peso hectolítrico                          | 32 |

|                                       |    |
|---------------------------------------|----|
| <b>2.4 Propiedades fisicoquímicas</b> | 32 |
| 2.4.1 Contenido de humedad            | 32 |
| 2.4.2 pH                              | 32 |
| 2.4.3 Color                           | 33 |

|                                                       |    |
|-------------------------------------------------------|----|
| <b>2.5 Preparación de las unidades experimentales</b> | 34 |
| 2.5.1 Crecimiento del hongo                           | 34 |
| 2.5.2 Inoculación del maíz                            | 34 |

|                                                      |    |
|------------------------------------------------------|----|
| <b>2.6 Proceso de nixtamalización por microondas</b> | 35 |
| 2.6.1 Elaboración de las tortillas                   | 36 |
| 2.6.2 Cocimiento de las tortillas                    | 36 |
| 2.6.3 Propiedades de calidad de las tortillas        | 37 |
| • Grado de inflado                                   | 37 |
| • Capacidad de enrollamiento (Rolabilidad)           | 37 |
| • Pérdida de peso en la cocción                      | 37 |

### Objetivo particular 2

|                                              |    |
|----------------------------------------------|----|
| <b>2.7 Cuantificación de las fumonisinas</b> | 38 |
| <b>2.8 Diseño Experimental</b>               | 39 |

---

---

## CAPÍTULO III

### Resultados y discusión

#### Objetivo particular 1

|                                                         |    |
|---------------------------------------------------------|----|
| <b>3.1. Propiedades físicas del grano de maíz</b>       | 40 |
| <b>3.2 Propiedades fisicoquímicas del grano de maíz</b> | 41 |
| 3.2.1 Contenido de humedad del grano de maíz            | 41 |
| 3.2.2 pH del grano de maíz                              | 41 |
| 3.2.3 Color del grano de maíz                           | 41 |
| <b>3.3 Propiedades fisicoquímicas de la masa</b>        | 42 |
| 3.2.1 Contenido de humedad de la masa                   | 42 |
| 3.2.2 pH de la masa                                     | 43 |
| <b>3.4 Propiedades fisicoquímicas de las tortillas</b>  | 44 |
| 3.4.1 Contenido de humedad de las tortillas             | 44 |
| 3.4.2 pH de las tortillas                               | 44 |
| 3.4.3 Color de las tortillas                            | 45 |
| <b>3.5 Propiedades de calidad de las tortillas</b>      | 46 |
| 3.5.1 Grado de inflado                                  | 46 |
| 3.5.2 Rolabilidad                                       | 47 |
| 3.5.3 Pérdida de peso                                   | 48 |

#### Objetivo particular 2

|                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------|----|
| <b>3.6 Fumonisinas totales en el maíz, la masa y las tortillas</b> | 49 |
| <b>CONCLUSIONES</b>                                                | 52 |
| <b>RECOMENDACIONES</b>                                             | 53 |
| <b>REFERENCIAS</b>                                                 | 54 |
| <b>ANEXO</b>                                                       | 63 |

---

## LISTA DE TABLAS

|     |                                                           |    |
|-----|-----------------------------------------------------------|----|
| 1.1 | Variedades y usos del maíz                                | 10 |
| 3.1 | Propiedades físicas del grano de maíz                     | 40 |
| 3.2 | Propiedades fisicoquímicas del grano de maíz              | 41 |
| 3.3 | Parámetros del color determinados en el grano de maíz     | 42 |
| 3.4 | Propiedades fisicoquímicas de las masas                   | 43 |
| 3.5 | Propiedades fisicoquímicas de las tortillas               | 44 |
| 3.6 | Parámetros del color determinados en las tortillas        | 46 |
| 3.7 | Propiedades de calidad de las tortillas                   | 47 |
| 3.8 | Fumonisinas totales en el maíz, las masas y las tortillas | 49 |

---

## LISTA DE FIGURAS

|     |                                                                                                         |    |
|-----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.1 | Estructura del grano de maíz                                                                            | 6  |
| 1.2 | Principales estados productores de granos de maíz en México                                             | 9  |
| 1.3 | Diagrama del proceso de nixtamalización por microondas                                                  | 16 |
| 1.4 | Esquema del espectro electromagnético                                                                   | 17 |
| 1.5 | Elementos de una onda electromagnética                                                                  | 18 |
| 1.6 | Esquema de un horno de microondas                                                                       | 19 |
| 1.7 | Estructura química de fumonisina B <sub>1</sub> , Esfinganina y Esfingosina                             | 23 |
| 1.8 | Estructura química de fumonisina B <sub>1</sub> (FB <sub>1</sub> ) y su hidrolizado (HFB <sub>1</sub> ) | 28 |
| 2.1 | Esquematización de las coordenadas del color Hunter Lab                                                 | 34 |
| 2.2 | Esquema ilustrativo de la elaboración del nixtamal y la masa                                            | 35 |
| 2.3 | Troquelado de las tortillas                                                                             | 36 |
| 2.4 | Cocción de las tortillas                                                                                | 36 |
| 2.5 | Columnas de inmunoafinidad                                                                              | 39 |

---

## ABREVIATURAS

|                     |                                                                |
|---------------------|----------------------------------------------------------------|
| AACC                | American Association of Cereal Chemists                        |
| AOAC                | Association of Official Analytical Chemists                    |
| AS-900              | Variedad del maíz utilizado en la experimentación (ASPROS 900) |
| b.s.                | Base seca                                                      |
| Ca(OH) <sub>2</sub> | Hidróxido de calcio (cal)                                      |
| CE                  | Comisión Europea                                               |
| Cm                  | Centímetro (s)                                                 |
| DBO                 | Demanda Bioquímica de Oxígeno                                  |
| DQO                 | Demanda Química de Oxígeno                                     |
| FB <sub>1</sub>     | Fumonisina B <sub>1</sub>                                      |
| FB <sub>2</sub>     | Fumonisina B <sub>2</sub>                                      |
| FB <sub>3</sub>     | Fumonisina B <sub>3</sub>                                      |
| FDA                 | Food and Drug Administration                                   |
| FESC                | Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (UNAM)              |
| g                   | Gramo (s)                                                      |
| GC                  | Cromatografía de gases                                         |
| GHz                 | Giga Hertz                                                     |
| h                   | Hora (s)                                                       |
| ha                  | Hectárea (s)                                                   |
| hL                  | Hectolitro                                                     |
| HFB <sub>1</sub>    | Hidrolizado de Fumonisina B <sub>1</sub>                       |
| HFB <sub>2</sub>    | Hidrolizado de Fumonisina B <sub>2</sub>                       |
| HPLC                | Cromatografía de líquidos de Alta Resolución                   |
| IARC                | Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer          |

---

---

|                |                                                                |
|----------------|----------------------------------------------------------------|
| kg             | Kilogramo (s)                                                  |
| L              | Litro (s)                                                      |
| MS             | Espectrometría de masas                                        |
| m <sup>3</sup> | Metro (s) cúbicos                                              |
| MHZ            | Mega Hertz                                                     |
| min            | Minuto (s)                                                     |
| mL             | Mililitro (s)                                                  |
| mm             | Milímetro (s)                                                  |
| ng             | Nanogramo (s)                                                  |
| O <sub>2</sub> | Oxígeno                                                        |
| pH             | Potencial hidrógeno                                            |
| PNM            | Proceso de nixtamalización por microondas                      |
| PNT            | Proceso de nixtamalización tradicional                         |
| rpm            | Revoluciones por minuto                                        |
| Sa             | Esfinganina                                                    |
| s              | segundos                                                       |
| So             | Esfingosina                                                    |
| TLC            | Cromatografía en capa fina                                     |
| Ton            | Toneladas                                                      |
| UNIGRAS        | Unidad de investigación de Granos y Semillas (UNAM)            |
| °C             | Grados centígrados                                             |
| $\Delta a$     | Diferencias Absolutas del valor a de las coordenadas del color |
| $\Delta b$     | Diferencias Absolutas del valor b de las coordenadas del color |
| $\Delta E$     | Diferencia total del color                                     |
| $\Delta L$     | Diferencias absolutas del valor L de las coordenadas del color |

---

---

---

## RESUMEN

Las fumonisinas (una familia de micotoxinas cancerígenas encontradas en los alimentos) causan daño a la salud humana y animal en diferentes partes del mundo, además de tener implicaciones económicas. Es por esta razón, que en el presente trabajo se investigó la eficiencia sobre la degradación de estas micotoxinas al utilizar un proceso de nixtamalización amigable con el ambiente para producir tortillas (principal alimento de la población mexicana). Para tal efecto, maíz contaminado con 2136.67 ng/g de fumonisinas totales fue transformado en tortillas, iniciando con una mezcla de maíz quebrado, agua e hidróxido de calcio, la cual fue sometida a cocción en un horno de microondas con una frecuencia de operación de 2.45 GHz durante 3.75 min y posteriormente reposada durante 3.5 h a temperatura ambiente. El nixtamal fue molido para obtener la masa que fue utilizada para elaborar las tortillas. El contenido de fumonisinas totales se determinó utilizando columnas de anticuerpos monoclonales. La masa presentó una concentración de 1998.33 ng/g de fumonisinas totales, lo cual representó una reducción del 6.5% del contenido inicial de la toxina. Sin embargo, la concentración de fumonisinas fue reducida significativamente en las tortillas hasta 985.33 ng/g, debido al proceso de cocción, lo que corresponde a una degradación acumulativa del 54%. La concentración de fumonisinas en las tortillas se encontró por debajo del nivel máximo tolerable, considerando que la Unión Europea establece como límite reglamentario 1000 ng/g de fumonisinas en productos a base de maíz. Por otra parte, las propiedades fisicoquímicas y tecnológicas de las tortillas estuvieron dentro de los márgenes aceptables de calidad. De acuerdo a los resultados obtenidos, la nixtamalización con microondas no es un método factible para reducir el contenido de fumonisinas a niveles aceptables en la masa; sin embargo, una reducción efectiva de estas toxinas ocurrió cuando la masa fue transformada en tortillas.

Palabras clave: Maíz, fumonisinas, nixtamalización, microondas, tortillas.

---

## JUSTIFICACIÓN

Frecuentemente, el maíz destinado para la industria de la masa y la tortilla se encuentra contaminado con fumonisinas, representando un serio problema para la salud pública en México. Se conoce que el proceso térmico-alkalino (nixtamalización) degrada hasta en un 80% el contenido de estas sustancias tóxicas. Recientemente, Pérez-Flores (2011) desarrolló en la FESC un proceso rápido de nixtamalización mediante cocción por microondas, dicho proceso posee grandes ventajas sobre el método tradicional, tales como: la no producción de nejayote, la reducción de uso de agua, así como la reducción de costos (tiempo/energía), entre otras. Si bien se han logrado avances en lo que respecta a la calidad nutricional y sensorial de las tortillas elaboradas con el método de nixtamalización por microondas, aún no se han realizado estudios respecto a la degradación de las fumonisinas. Consecuentemente, el presente proyecto pretende evaluar la efectividad destoxificante de dicho proceso al utilizar maíces contaminados con fumonisinas.

---

## INTRODUCCIÓN

El maíz es un cereal de gran importancia tanto en México como a nivel mundial, no solo porque en muchos países constituye la principal fuente de alimento en forma directa, sino también porque es la materia prima de diversos productos alimenticios, farmacéuticos y de uso industrial.

Desde el punto de vista alimentario, económico y social, el maíz es el cultivo más importante en México. Siendo el de mayor presencia en el país con el 51% de la superficie sembrada y cosechada. Forma parte de la alimentación diaria en la forma de tortillas, alcanzando valores per cápita de 70 kg/año aprox.

Frecuentemente los maíces destinados para la producción de la masa y la tortilla se encuentran contaminados con hongos, y ciertas especies como *Fusarium verticillioides*, son potenciales productoras de fumonisinas. Se ha comprobado que este tipo de micotoxinas causan diversas enfermedades en los animales, tales como: leucoencefalomalacia en equinos, edema pulmonar en porcinos, así como toxicidad del riñón y cáncer en hígado de ratas. En cuanto a su efecto en la salud humana, este ha sido difícil de determinar; sin embargo, se han relacionado con una alta incidencia de cáncer de esófago e hígado en ciertas áreas endémicas en China y Sudáfrica.

La contaminación del maíz por hongos y sus metabolitos es inevitable, y son pocos los trabajos que se han realizado respecto a la degradación de las fumonisinas. Se ha reportado que el proceso térmico-alcalino (nixtamalización) degrada parcialmente a las fumonisinas en el grano destinado para la elaboración de las tortillas.

El proceso tradicional de nixtamalización (PTN) consiste en el cocimiento del grano de maíz en abundante agua y cal, a temperaturas cercanas a la de ebullición, con un tiempo de reposo prolongado. Posteriormente, la solución de cocimiento (nejayote) se desecha y, al grano se le aplica un par de lavados, para luego someterlo a molienda, obteniéndose de esta manera la masa para la elaboración de las tortillas. Si bien el PTN reduce la concentración de las

---

---

fumonisinias en cierto grado, aún no se ha reportado en qué etapa del proceso se lleva a cabo esta disminución, se cree que es en la etapa de cocción en presencia del hidróxido de calcio, y muy probablemente, en el proceso físico de lavado, desechándose gran parte de estas sustancias en el nejayote y en el agua de lavado.

El PTN, aunque es muy antiguo, hasta la fecha se continúa utilizando con pocos cambios en las etapas de preparación. Esta falta de modernización ha originado que lo que antes, a pequeña escala, no representaba problemas, hoy en día sean pronunciados, como lo es la producción de grandes cantidades de nejayote, efluente altamente contaminante por su alto contenido de materia orgánica y elevada alcalinidad.

Tomando en cuenta estas observaciones y tratando de dar solución al problema, diversos investigadores se han dado a la búsqueda de nuevas tecnologías, con ventajas sobre el proceso tradicional, tales como: la aceleración del proceso, reducción de uso de agua, eliminación de efluentes contaminantes, reducción de costos de operación (energía/tiempo), y al mismo tiempo tratar de conservar la calidad de los productos obtenidos. Recientemente, se ha desarrollado un proceso de nixtamalización por microondas (PNM), en el cual el maíz es fragmentado y mezclado con agua y cal, cocidos en un horno de microondas, reposados y finalmente molidos para obtener masa fresca para elaborar tortillas.

Las ventajas del PNM sobre el PTN son: la reducción de los tiempos de cocción, aumento del rendimiento masa/tortilla, mayor aporte nutricional, además de no generar efluentes contaminantes, ya que en este proceso solo se utiliza el agua necesaria para que se lleven a cabo las reacciones químicas propias de la nixtamalización.

Debido a las diferencias entre las etapas y condiciones de procesamiento, en este trabajo se hizo necesario evaluar el efecto que dichos cambios producen sobre las fumonisinias, así como determinar algunas propiedades de calidad de las tortillas obtenidas con el PNM.

---

---

## **CAPÍTULO I**

### **ANTECEDENTES**

#### **1.1 Generalidades del maíz**

##### **1.1.1 Origen del maíz**

Se considera que el maíz fue de las primeras plantas cultivadas. La evidencia más antigua del maíz como alimento proviene de algunos lugares arqueológicos en México, donde pequeñas mazorcas de maíz estimadas en más de 5000 años de antigüedad fueron encontradas en cuevas de los habitantes primitivos (Wilkes, 1979).

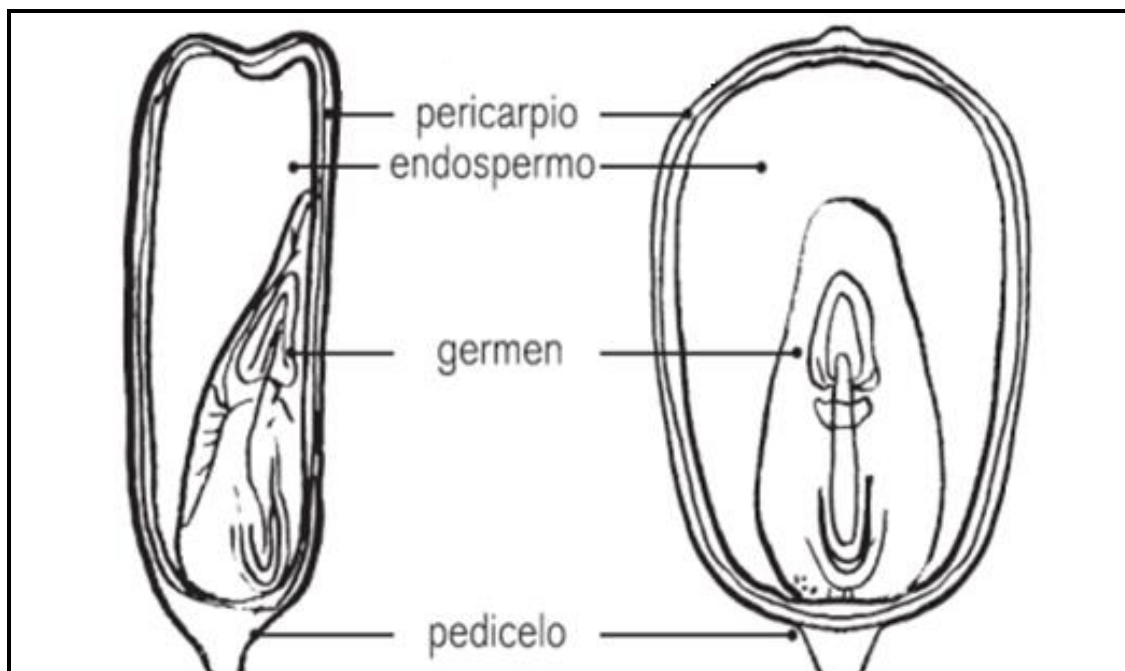
La distribución del maíz a partir de su centro de origen en México, a varias partes del mundo, ha sido tan notable y rápida como su evolución a planta cultivada y productora de alimentos. Los habitantes de varias tribus indígenas de América Central y México llevaron esta planta a otras regiones de América Latina, al Caribe y después a Estados Unidos de América y Canadá. Los exploradores del viejo mundo llevaron el maíz a Europa y posteriormente los comerciantes lo llevaron a Asia y África (FAO, 2001).

##### **1.1.2 Estructura del grano de maíz**

La planta de maíz está dotada de un amplio sistema radicular fibroso y es una especie que se reproduce por polinización cruzada de la flor femenina (elote) y la masculina (espiguilla), que se encuentra en diferentes lugares de la planta. Las panojas (mazorcas) son las estructuras donde se desarrolla el grano, en un número variable de hileras (12 a 16), que producen de 300 a 1000 granos, que pesan entre 190 y 300 g cada 1000 granos.

---

El grano individual del maíz (Figura 1.1), botánicamente es una cariósida y está formado por cuatro estructuras principales: 1) el pericarpio o cáscara, 2) el endospermo, 3) el germen o embrión, y 4) el pedicelo o piloriza.



Fuente: Paredes-López et al., 2008

**Figura 1.1** Estructura del grano de maíz

**1) Pericarpio:** es la capa exterior de cubierta protectora dura y fibrosa que encierra al grano. Comprende el pericarpio, la testa y la cofia, en un pequeño casquete que cubre la punta del grano y protege el embrión. Todos los componentes del pericarpio constituyen el 5.3% del peso del grano. En el cereal maduro tiene la función de impedir el ingreso de hongos y bacterias.

**2) Endospermo:** Es la reserva energética del grano, representa el 80-84% del peso total del grano. Compuesto por 87% de almidón, 8% de proteínas y 5% de agua, funciona como proveedor de energía a la planta durante su desarrollo. Las partículas de almidón se presentan de forma esférica, mientras que las estructuras laminares están formadas por proteínas. La distribución del contenido de agua produce dos morfologías diferentes, el líquido se concentra en la parte interna del grano, mientras que la parte cercana a la cáscara presenta un menor contenido de agua, por lo tanto la morfología del

---

endospermo seco tiene un aspecto mucho más compacto que la sección del endospermo húmedo (Benítez y Pfeiffer, 2006).

**3) Germen:** se sitúa en el extremo más bajo del grano, ocupando 9.5 a 12.5% del peso total del grano. Posee dos partes destacables, el eje embrionario (planta nueva) y el escutelo, que constituye una gran reserva de alimento. Contiene un alto porcentaje de aceites (35-40%).

**4) Pedicelo (piloriza):** Constituye un 0.8% del peso total del grano. Es una estructura celular mediante la cual se une el grano al olote. Está compuesto de haces vasculares que terminan en la porción basal del pericarpio, consta de una capa exterior de abscisión con la función probable de sellar la punta del grano maduro. A esta capa le sigue una serie de células parenquimatosas en forma de estrella unidas entre sí por medio de sus puntas formando una estructura frágil y porosa, conectadas con la capa de células cruzadas del pericarpio (Inglett, 1970).

### **1.1.3 Composición química del grano de maíz**

La composición química del maíz está conformada por: carbohidratos (almidón), proteínas, fibra cruda, azúcares, minerales y otras sustancias orgánicas como vitaminas. Cabe mencionar que cada una de las partes del grano de maíz difiere considerablemente en su composición química, la cual a su vez varía ampliamente por causas tanto genéticas como ambientales.

El almidón es el mayor componente del maíz, del cual el 98% se encuentra en el endospermo, aunque cantidades importantes se han encontrado en el embrión, el germen y la punta. Básicamente el contenido de almidón del grano entero es de 72-73% del peso seco del maíz (Kent, 1987).

El granulo de almidón contiene aproximadamente 27% de amilosa (una molécula esencialmente lineal formada aproximadamente por 1000 unidades de glucosa) y 73% de amilopectina (una molécula ramificada que posee aproximadamente 40 000 o más unidades de glucosa) (Paredes-López et al., 2008).

---

Las proteínas constituyen aproximadamente el 10% y la gran mayoría se encuentra en el germen del grano. No obstante, tanto el endospermo como el pedicelo, llegan a tener hasta 9% de proteínas clasificadas en cuatro tipos de acuerdo con su solubilidad: albúminas (solubles en agua), globulinas (solubles en soluciones salinas), prolaminas (solubles en soluciones alcohólicas), y glutelinas (solubles en soluciones alcalinas o ácidas diluidas).

En el maíz, las prolaminas se encuentran principalmente en el endospermo y han recibido el nombre de zeínas, mientras que las glutelinas, se encuentran en la matriz proteínica de esta misma estructura; ambas proteínas constituyen cerca del 90% de las proteínas del grano integral. Por el contrario, las proteínas del germen son casi en su totalidad albúminas y globulinas (Paredes-López et al., 2008). La zeína tiene cantidades insuficientes de dos aminoácidos esenciales, la lisina y el triptófano (Hoseney, 1991).

El grano de maíz contiene aproximadamente 4.5% de lípidos, encontrándose los ácidos linoléicos, palmítico, araquidónico, entre otros. El 80% de los lípidos se encuentran en el germen y una pequeña cantidad de fosfolípidos y glucolípidos se encuentran distribuidos en el endospermo del grano (Morrison, 1988).

El maíz es fuente importante de selenio (0.08 mg/kg), potasio (0.08 mg/kg), magnesio (0.37%), cloro (0.12%), calcio (0.05%), sodio (0.03%), yodo (385 mg/kg), fósforo (0.29%) y azufre (0.14%), entre otros (Kent, 1987).

El germen del grano contiene 78% de los minerales, de los cuales el componente inorgánico más abundante es el fósforo, principalmente en forma de sales de potasio y magnesio del ácido fítico (Paredes-López et al., 2008).

El grano de maíz contiene dos vitaminas liposolubles, la provitamina A, o carotenoide, y la vitamina E o  $\alpha$ -tocoferol. Generalmente los carotenoides se encuentran en el maíz amarillo, en cantidades que pueden ser reguladas genéticamente, en tanto que el maíz blanco tiene un escaso o nulo contenido de ellos. La vitamina E, que es objeto de cierta regulación genética, se encuentra principalmente en el germen. La fuente de la vitamina E son cuatro

---

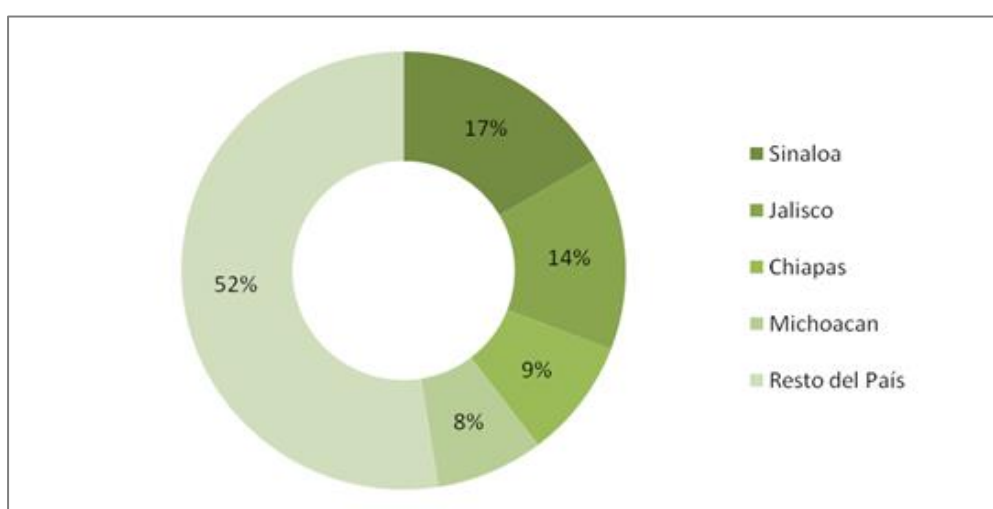
tocoferoles; el más activo biológicamente es el  $\alpha$ -tocoferol; aunque el  $\gamma$ -tocoferol es probablemente más activo como antioxidante (FAO, 1993).

Las vitaminas hidrosolubles del maíz son: Vitamina B1 (tiamina), Vitamina B2 (riboflavina), Vitamina B3 (niacina), Vitamina B5 (ácido pantoténico), Vitamina B9 (ácido fólico) y colina (Kent, 1987).

#### 1.1.4 Producción de maíz en México

El maíz es el cultivo agrícola más importante en el país, ya que es la base de la alimentación de los mexicanos. Sin embargo, la producción nacional no es suficiente para cubrir los requerimientos, por lo que cada año se importan miles de toneladas de esta gramínea.

Sinaloa ocupa el primer lugar en la producción nacional de maíz grano desde el 2004. En el año 2011 registró una producción de 2.92 millones de toneladas, lo que representa el 17% de la producción nacional. El rendimiento promedio por hectárea en el estado fue de 6.96 ton/ha. El estado de Jalisco es el segundo mayor productor de maíz, con un total de 2.51 millones toneladas y un rendimiento de 4.8 ton/ha. El estado de Chiapas está en tercer lugar con una producción de 1.55 millones de toneladas y un rendimiento de 2.4 ton/ha. En la Figura 1.2 se muestran los principales estados productores de maíz del país.



Fuente: elaborada con datos de SARGAPA-SIAP, 2012

**Figura 1.2.** Principales estados productores de maíz grano en México

---

### 1.1.5 Producción y consumo de maíz por variedad

En México se producen diversas variedades de maíz para diferentes usos (Tabla 1.1). Sin embargo, las variedades más representativas en cuanto a producción son: maíz blanco y amarillo o forrajero.

**Tabla 1.1.** Variedades y usos del maíz

| Tipo de maíz   | Usos                                      |
|----------------|-------------------------------------------|
| Céreo o ceroso | Elaboración de adhesivos y gomas          |
| Cristalino     | Alimento                                  |
| Dulce          | Alimento para enlatados                   |
| Dentado        | Alimento en la industria                  |
| Palomero       | Botana                                    |
| Semidentado    | Alimento y para el mejoramiento genético  |
| Tunicado       | Mejoramiento genético del maíz en general |

Fuente: Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT, 2011)

El maíz blanco se produce principalmente para el consumo humano, con él se elaboran alimentos tradicionales como atole, pan, tamales, entre otros; y como tortillas procedentes del grano de maíz nixtamalizado.

Por su parte, las aplicaciones del maíz amarillo son el consumo humano, animal y de uso industrial, destacando la elaboración de féculas y como almidón, el cual es utilizado como insumo en la industria química, textil, alimentaria, entre otras. También se utiliza en la elaboración de botanas, frituras y similares; cereales para el desayuno y producción de alimentos para animales (insumo utilizado como alimento balanceado para mascotas y el sector pecuario) (SE, 2012).

### 1.2 La tortilla de maíz

La tortilla se define como un disco aplanado de masa de maíz nixtamalizado. Representando la principal forma de consumo de maíz en México, siendo el consumo per cápita de 70 kg por año aproximadamente (GIMSA 2012).

---

La tecnología para producir tortilla de maíz nixtamalizado (según el proceso tradicional) es muy antigua; y sus antecedentes se remontan a la cultura Maya y otras como la Azteca y Tolteca, quienes transmitieron este procedimiento de generación en generación, el cual ha perdurado a través de los años. En aquella época, el maíz nixtamalizado era molido en un metate para producir la masa que se utilizaba para formar discos de aproximadamente veinte centímetros de diámetro, los que se cocían en comales de barro. El producto resultante era llamado tlaxcalli por los aztecas y posteriormente fue bautizado como “tortilla” por los españoles. (Cruz-Huerta y Verdalet-Guzmán, 2007).

### **1.2.1 Proceso de elaboración de las tortilla por el método tradicional**

#### **1.2.2 Nixtamalización**

La palabra nixtamalización se deriva del Nahuatl “nextli” que significa “cenizas” o “cal”, y “tamalli” que quiere decir “masa de maíz” (Cruz-Huerta y Verdalet-Guzmán, 2007).

Este proceso consiste en el cocimiento del grano de maíz en suficiente agua (1:3) es decir, 1 kg de maíz por 3L de agua, adicionando hidróxido de calcio  $[Ca(OH)_2]$ , sometido a una temperatura menor a la de ebullición, durante un tiempo de 30 a 45 minutos, con un tiempo de reposo de 12 a 14 horas en la solución de cocción (nejayote). Posterior al reposo, el nixtamal es lavado para eliminar algunos componentes orgánicos como el pericarpio, el germen, fracciones del endospermo y el exceso de calcio (Arámbula-Villa et al., 2001).

En México, anualmente se producen 14.4 millones de m<sup>3</sup> de nejayote (Pedroza-Islas y Durán de Bazúa, 1990). En general los pequeños productores de tortilla utilizan más de 75 L de agua por día para procesar 50 kg de maíz, generando aguas residuales que son desechadas al drenaje (Niño-Medina et al., 2009). En tanto que los grandes productores como: Maseca, Minsa, Soriana, entre otras, casi siempre tratan al nejayote aeróbica/anaeróbicamente para reducir la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) y la demanda química de oxígeno (DQO).

---

El nejayote representa uno de los efluentes más difíciles de tratar debido a que tiene un alto pH (10 a 14), contiene aproximadamente 5% de materia orgánica soluble e insoluble, restos de hidróxido de calcio (80% del hidróxido de calcio utilizado originalmente durante el proceso de nixtamalización) (Pedroza-Islas y Durán de Bazúa, 1990; Velazco-Martínez et al., 1997; Salmerón-Alcocer et al., 2003). Se han encontrado valores de DBO y DQO de 14.21 g O<sub>2</sub>/L y 40.038 g O<sub>2</sub>/L respectivamente (Valderrama-Bravo et al., 2012)

### **1.2.3 Molienda del nixtamal**

Una vez obtenido el nixtamal, este es lavado en abundante agua, para eliminar el pericarpio y el exceso de hidróxido de calcio, y es escurrido por un tiempo aproximado de 15 min. Una vez limpio se procede a su molienda.

La molienda del nixtamal se ha realizado de diferentes formas; utilizando instrumentos sencillos como el metate o el molino de mano, hasta equipos mecánico-eléctricos como el molino de piedras. La molienda se realiza agregando un poco de agua al nixtamal, dando origen a la masa. La masa que es una pasta suave, se conserva en un lugar húmedo y de ella se toman las cantidades necesarias para elaborar las tortillas (Rodríguez-García et al., 2008).

### **1.2.4 Elaboración de las tortillas**

Las tortillas de maíz son elaboradas a partir de testales de masa de 25-50 g y son moldeadas a mano o con prensa manual, formando un disco aplanado de aproximadamente 15 cm de diámetro y 2 mm de espesor.

### **1.2.5 Cambios importantes durante la elaboración de las tortillas**

### **1.2.6 Transformación grano-masa**

Durante el cocimiento y reposo del grano se llevan a cabo reacciones bioquímicas, entrecruzamientos e interacciones moleculares que modifican tanto las características fisicoquímicas, estructurales y reológicas de la masa (Rodríguez-García et al., 1996). Estos cambios se deben principalmente a

---

modificaciones que ocurren en la estructura del almidón, debido a que la masa resultante es una mezcla constituida por los polímeros del almidón mezclados con gránulos de almidón parcialmente gelatinizados, gránulos intactos, partes del endospermo y lípidos (Gómez et al., 1987).

El proceso térmico alcalino conlleva a importantes interacciones entre el calcio y los diferentes componentes químicos del maíz, que determinan las características sensoriales y fisicoquímicas y nutrimentales como; hidratar al grano, suavizar el pericarpio, desnaturalizar las proteínas, gelatinizar parcialmente el almidón y hacer más biodisponible a los aminoácidos lisina y triptófano, tales que le confieren a los productos una calidad adecuada.

### **1.2.7 Transformación masa-tortilla**

Al llevar a cabo la molienda del maíz nixtamalizado se forma la masa, que es una mezcla constituida por los polímeros de almidón (amilosa y amilopectina), mezclados con gránulos de almidón parcialmente gelatinizados, gránulos intactos, partes de endospermo y lípidos. Todos estos componentes forman una red compleja heterogénea dentro de una fase acuosa continua (Gómez et al., 1987).

La textura de la masa es crítica para la etapa de moldeo de las tortillas. Durante la nixtamalización, pequeñas cantidades de gránulos de almidón son gelatinizados y la mayor gelatinización se debe a la fricción durante la molienda, en esta etapa también se dispersan parcialmente los gránulos hinchados dentro de la matriz; los que actúan como pegamento que mantiene unidas las partículas de masa. Una gran cantidad de almidón gelatinizado (debido a un cocimiento excesivo) produce una masa pegajosa que es difícil de manejar. Por otro lado, poco cocimiento produce una masa sin cohesividad que da origen a tortillas con textura inadecuada (Bello-Pérez et al., 2002). Por lo tanto, la masa debe presentar cierto grado de adhesividad para poder pegarse a los rodillos formadores, pero que se logre despegar adecuadamente.

---

### **1.2.8 Parámetros de calidad de la tortilla de maíz**

La calidad es un concepto que viene determinado por la combinación de distintos factores, relacionados todos ellos con la aceptación del alimento por el consumidor.

Son parámetros determinantes de la calidad de las tortillas: 1) aroma a maíz nixtamalizado, 2) sabor característico, 3) rolabilidad o facilidad para formar el taco y “forma de cuchara”, 4) ausencia de contaminantes tales como las micotoxinas y 5) color, generalmente se prefieren blancas o amarillas, aunque hay regiones geográficas dentro de México en las que se pueden encontrar diversos colores: azules o rojas, siempre se prefieren colores brillantes.

### **1.3 Procesos alternativos de nixtamalización**

El proceso de nixtamalización tradicional (PNT) consume gran cantidad de tiempo y energía, además sus efluentes (nejayote) son altamente contaminantes, colocando a la industria del maíz nixtamalizado dentro de los principales contaminantes líquidos que se producen en el país. Con el objetivo de disminuir estos inconvenientes, se han propuesto modificaciones al proceso y buscado métodos alternativos para la producción de masas y harinas de maíz nixtamalizado. Entre las tecnologías alternativas se encuentran:

#### **1.3.1 Proceso de nixtamalización ecológico**

En este proceso se aprovecha integralmente el grano de maíz, 1 kg de maíz es molido y pasado por un tamiz de 5 mm, posteriormente es mezclado con 0.8 L de agua con 3 g de hidróxido de calcio, cocido por ebullición y reposado durante 2 h a temperatura ambiente ( $22 \pm 1$  °C). El nixtamal obtenido se muele para obtener masa para elaborar tortillas (Méndez-Albores et al., 2004a).

#### **1.3.2 Proceso de nixtamalización por extrusión**

El proceso consiste en el transporte del material (granular o fluido), a través de un tornillo sin fin, el cual está recubierto por un tubo en cuyo exterior puede

---

regularse la temperatura de acuerdo a las necesidades. El material es forzado a fluir bajo una o más condiciones de mezclado, calentamiento y cizallamiento a través de una boquilla diseñada para dar forma o expandir los ingredientes.

Arámbula-Villa et al. (2000) obtuvieron masa fresca con estructura densa, buena retención de agua y baja velocidad de deshidratación, al utilizar las siguientes condiciones: velocidad de tornillo de 25 rpm, temperatura del extrusor 80 °C y tiempo de residencia de 1.3 min.

### **1.3.3 Proceso de nixtamalización dieléctrico**

El cocimiento dieléctrico se realiza utilizando como fuente de calor dos electrodos de Cu-Ni conectados a corriente, con un voltaje constante. En este proceso se aprovecha la disipación de calor producida al hacer pasar la corriente por una solución de agua-hidróxido de calcio y maíz. Gaytán-Martínez et al. (2000) procesaron 100 g de maíz entero los cuales fueron macerados durante 20 min en una suspensión de agua e hidróxido de calcio (0.1%), después se aplicó el tratamiento dieléctrico pasando 100 V durante 10 a 15 min, finalmente el maíz fue molido y deshidratado para obtener harina de maíz nixtamalizado.

### **1.3.4 Proceso de nixtamalización con vapor**

El proceso consiste en el cocimiento alcalino de harina de maíz utilizando vapor. El aparato consta de una cámara provista por un ventilador en la parte inferior, el cual permite tanto la circulación de aire con un movimiento constante de harina de maíz previamente mezclada con hidróxido de calcio; el calor y el agua son suministrados de tal forma que el vapor y el agua resultante permiten humedecer la mezcla harina-hidróxido de calcio, llevándose a cabo el cocimiento; la harina se transfiere a una cámara de enfriamiento y finalmente se muele para obtener la distribución de tamaños requerido (Bedolla 1984; Serna-Saldívar 1996).

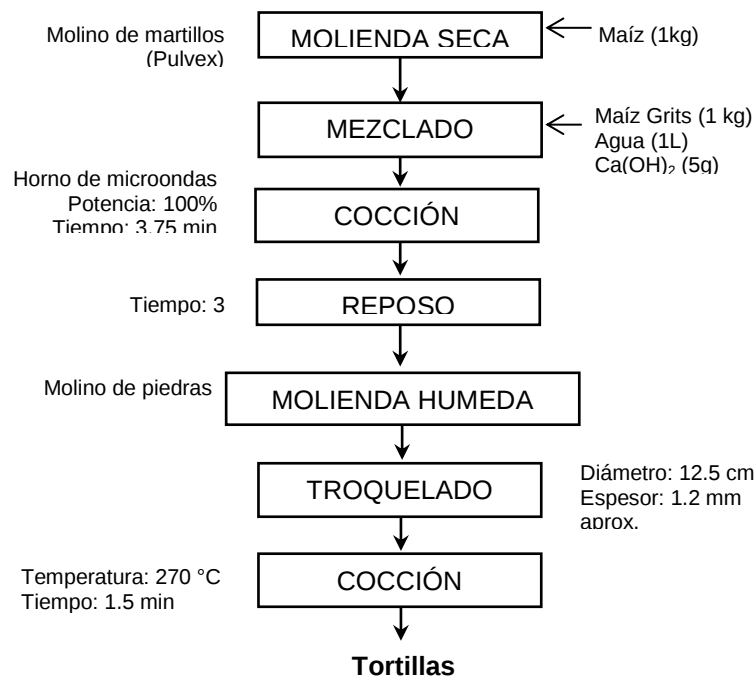
---

### 1.3.5 Proceso de nixtamalización con infrarrojo

El proceso consiste en mezclar los granos de maíz en solución diluida de calcio, la mezcla se somete a cocción en un horno por infrarrojo, en este proceso el nixtamal alcanza una temperatura de 80° C aproximadamente, posteriormente se deja en reposo alrededor de 18 h a temperatura ambiente, el nixtamal es lavado y molido, con la masa obtenida se elaboran las tortillas. (Méndez-Albores et al., 2014)

### 1.3.6 Proceso de nixtamalización por microondas (PNM)

El proceso de nixtamalización por microondas (PNM) consiste en mezclar fragmentos de maíz integral (1 kg), agua (1L) e hidróxido de calcio (0.5%), la mezcla es sometida a cocción en un horno de microondas a una potencia de 100% durante 3.45 min; posteriormente el nixtamal es dejado en reposo por un periodo de 3 h y finalmente es molido para obtener masa fresca para la elaboración de las tortillas. El proceso descrito por Pérez-Flores (2011) se muestra en la figura 1.3.



Fuente: Pérez-Flores, 2011

**Figura 1.3.** Diagrama del proceso de nixtamalización por microondas

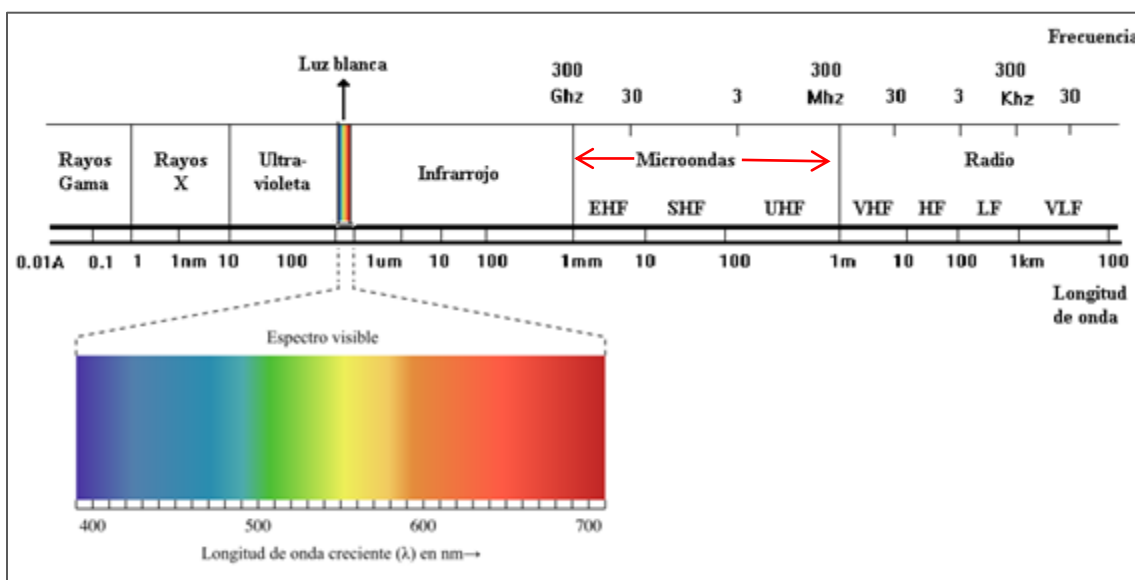
---

El proceso desarrollado recientemente en la FESC es objeto de la presente investigación ya que como método alternativo de nixtamalización presenta grandes ventajas sobre el método tradicional; en lo que respecta al bajo consumo de agua, dado que se utiliza solo el agua necesaria para llevar a cabo las reacciones químicas propias de la nixtamalización, a la no producción de efluentes contaminantes, a la reducción de tiempos de cocción y de reposo, así como el aumento en el rendimiento masa/tortilla al usar el grano integral.

Martínez-Morquecho, (2012) reportó que las tortillas obtenidas por el PNM no son afectadas en cuanto a la calidad nutricional y sensorial, lo que representa una ventaja más sobre el proceso tradicional.

- **Generalidades de las microondas**

Las microondas pueden considerarse como ondas cortas de radio con longitudes en el rango de 1 mm a 1 m (Halliday et al., 1994), forman parte del espectro electromagnético y se encuentran en el intervalo de frecuencia comprendido entre las zonas del infrarrojo y las ondas de radio (300 MHz-300GHz). Tal como se muestra en la Figura 1.4.

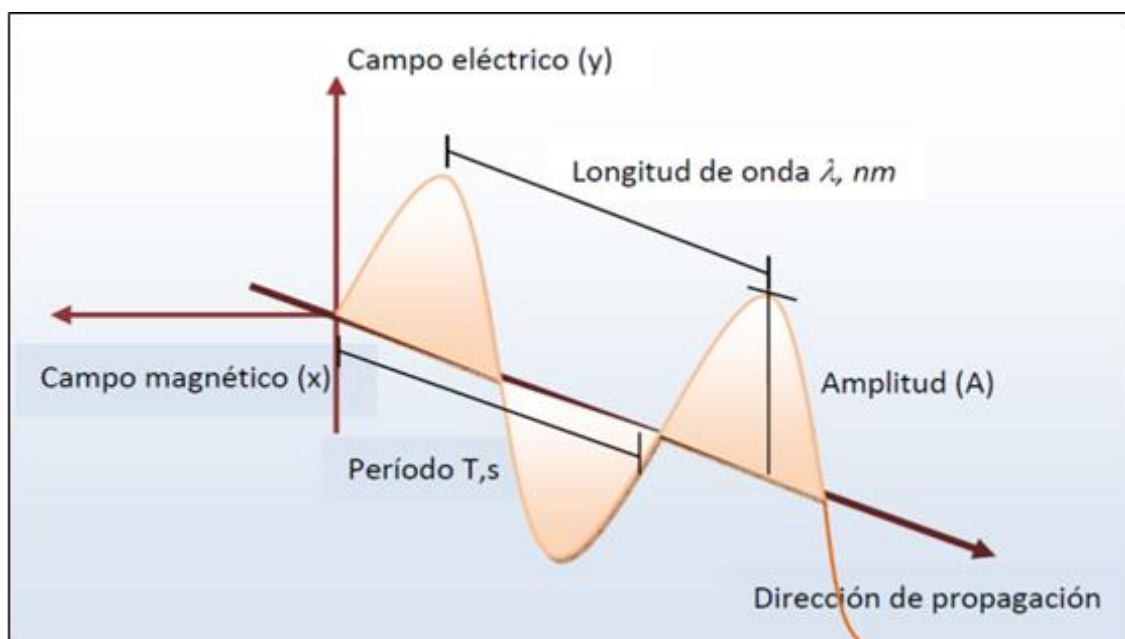


Fuente: Fuente: Halliday et al., 1994

**Figura 1.4.** Esquema del espectro electromagnético

---

Todas las formas de radiación electromagnética se propagan a través del espacio en forma de ondas, tal como se muestra en la Figura 1.5.



Fuente: Kotz y Treichel, 2003

**Figura 1.5.** Elementos de una onda electromagnética

Los elementos que forman una onda son:

- Longitud de onda  $\lambda$  (lambda), es la distancia entre dos puntos que se encuentran en el mismo estado de vibración cresta-cresta o valle-valle. Usualmente se expresa en nanómetros (nm) o cualquier unidad conveniente.
- Frecuencia  $\nu$  (nu), es el número de oscilaciones que pasan por un punto en una unidad de tiempo, generalmente es representada como  $s^{-1}$  o Hertz.
- Amplitud ( $A$ ), es la altura máxima alcanzada por una onda; los puntos con amplitud cero son llamados nodos, los cuales ocurren a intervalos de  $\lambda/2$ .
- Período ( $T$ ) es el tiempo en el que tarda una partícula en completar un ciclo, el cual es medido en segundos.

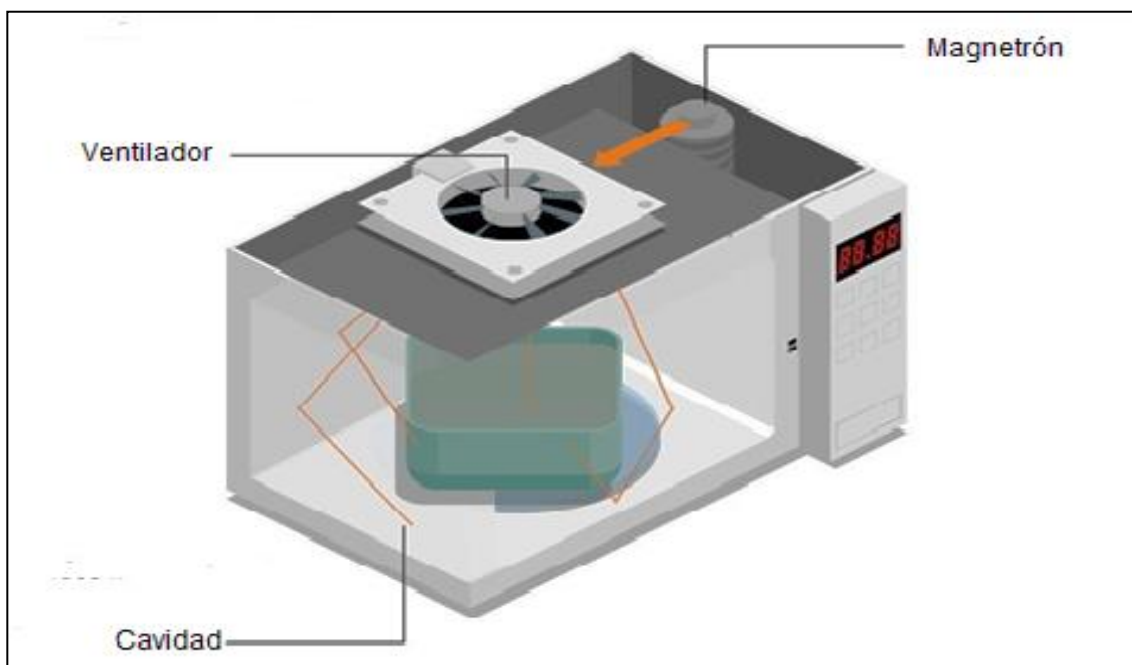
---

- **El horno de microondas**

El horno de microondas es una de las grandes invenciones del siglo pasado, si bien el tratamiento térmico de los alimentos utilizando microondas inició a finales de 1940, es hasta 1960 cuando los microondas de uso doméstico adquirieron popularidad especialmente en Estados Unidos cuando fueron lanzados al mercado por primera vez.

Los hornos de microondas domésticos, generalmente se usan para calentar o recalentar alimentos, por lo general su frecuencia es de 2450 MHz correspondiente a una longitud de onda de 12.2 cm (USDA, 2000).

Los principales componentes de un horno de microondas son: 1) el magnetrón, en este dispositivo se generan las microondas; 2) las guías de onda a través de las cuales se dirigen las ondas hacia la cavidad del horno y 3) la cavidad del horno, en la cual se coloca el alimento que será calentado. En la Figura 1.6 se muestra el esquema de un horno de microondas convencional.



Fuente: Morata-Barrado, 2010

**Figura 1.6.** Esquema de un horno de microondas

---

La tecnología de las microondas se basa en la interacción de la radiación electromagnética de una cierta longitud de onda con el alimento, el cual produce vibración o rotación de las moléculas, lo que supone disipación de energía térmica que permite el calentamiento (Morata-Barrado, 2010).

La energía de las microondas es absorbida por las moléculas dipolares presentes en los alimentos como son el agua, las grasas y los azúcares, entre otros. El calentamiento se produce por dos mecanismos: **1) conducción iónica**: al entrar en contacto con las microondas se produce un desplazamiento de los iones presentes en los alimentos hacia la dirección del campo eléctrico alterno; esta transmisión de energía produce colisiones, transmisión de energía cinética y generación de calor, **2) rotación de dipolos**: al intentar alinearse los dipolos rotaran a la misma frecuencia del campo eléctrico (915 o 2450 MHz) generando fricción y calor (Morata-Barrado, 2010).

El calentamiento generado por las microondas es volumétrico, pues se genera en todo el alimento y no del exterior al interior. Un calentamiento uniforme resulta de la alta absorción de energía por las moléculas de agua, las cuales son los componentes dipolares más abundantes de los alimentos (Mudgett, 1986).

#### **1.4 Contaminación del maíz por microorganismos**

Actualmente se reconoce la presencia de micotoxinas en los cereales y en otros alimentos, el maíz no constituye una excepción. En América Central, donde el maíz es un alimento de gran importancia, el grano se cosecha dos veces al año en las zonas tropicales. Una de esas cosechas tiene lugar en agosto, época en la que aún llueve y se dan las condiciones ideales de humedad y temperatura para la propagación de los hongos (FAO, 1993).

Numerosas son las especies de hongos productores de micotoxinas que originan enfermedades en el hombre y en los animales domésticos; sin embargo, los géneros más importantes en la contaminación de granos y semillas son: *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*. La contaminación con sus

---

---

micotoxinas puede ocurrir en cualquier punto en la cadena de producción, almacenamiento o industrialización.

#### **1.4.1 Micotoxinas**

Las micotoxinas se definen como compuestos orgánicos, biológicamente activos y de amplio espectro causantes de intoxicaciones agudas, crónicas, con efectos mutágenos, teratógenos y carcinógenos (Reyes-Escobedo et al., 2006). Estos compuestos son objeto de interés mundial debido a las importantes pérdidas económicas que acarrearán sus efectos sobre la salud de las personas, la productividad de los animales y el comercio nacional e internacional de los granos. La organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación estima que las micotoxinas afectan el 25% de la producción agrícola anual (FAO, 2001).

Actualmente es extendida la opinión de que el efecto más importante de las micotoxinas, particularmente en los países en desarrollo, es la capacidad de algunas micotoxinas de obstaculizar la respuesta inmune y, por consiguiente, de reducir la resistencia a enfermedades infecciosas (FAO, 2003).

La contaminación con micotoxinas de aquellos productos susceptibles, ocurre como resultado de las condiciones medioambientales en el campo, aunado a las inadecuadas condiciones en que son realizadas las operaciones de cosecha, transporte, almacenamiento y procesamiento del producto.

Seguramente las micotoxinas siempre han estado presentes en los alimentos; sin embargo, hasta hace algunos años se les dió la importancia debido a que se les reconoció como un problema de salud pública.

#### **1.4.2 Fumonisinas**

Son sustancias tóxicas, producto del metabolismo secundario de ciertos hongos del género *Fusarium* (Moss, 1996). En el maíz, las especies productoras de fumonisinas son *F. verticillioides* y *F. proliferatum*. Estos hongos

---

---

se pueden recuperar de la mayoría de los granos de maíz, incluyendo aquellos que parecen sanos (Bacon y Williamson, 1992; Pitt et al., 1993; Sanchis et al., 1995). Existen al menos tres fumonisinas de ocurrencia natural y se conocen como: FB1, FB2 y FB3 (Tanaka et al., 1988).

Este tipo de micotoxinas producen una gran variedad de efectos en los animales; leucoencefalomalacia en equinos, edema pulmonar en porcinos, así como toxicidad del riñón y cáncer de hígado en ratas. Su efecto en humanos ha sido difícil de determinar; sin embargo, se han asociado con una alta incidencia de cáncer de esófago y con la promoción de cáncer hepático en ciertas áreas endémicas (Ueno et al., 1997).

Las fumonisinas son un contaminante natural del maíz (Munkvold y Desjardins, 1997), estudios previos han demostrado que éstas toxinas se encuentran en derivados del maíz, como cereales de desayuno, aperitivos, cervezas y forrajes, destinados no solo al consumo animal sino también al humano (Sanchis et al., 2000)

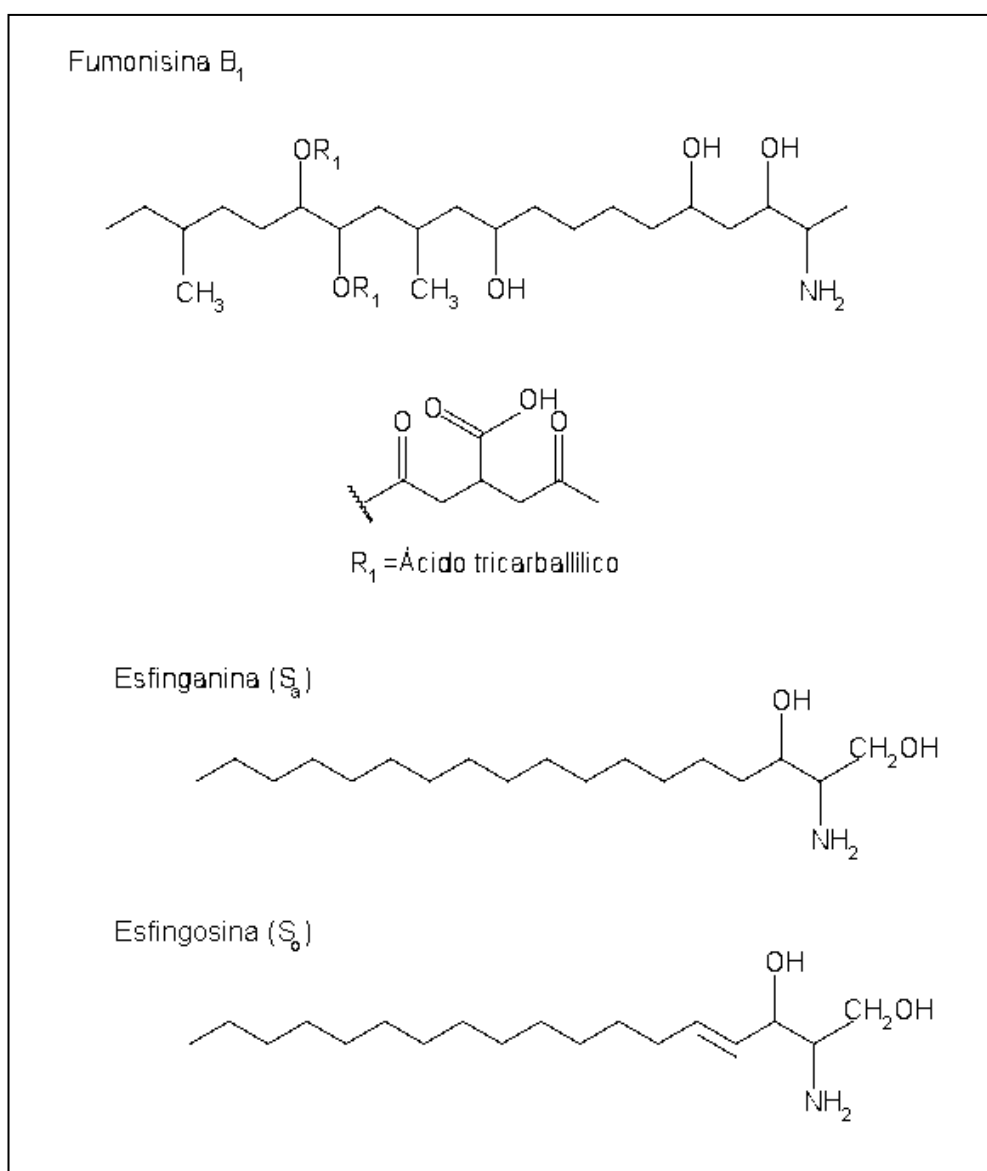
En 1993, la Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer clasificó las fumonisinas como carcinógenos del grupo 2B -posibles carcinógenos humanos- (IARC, 1993). Recientemente, se realizaron estudios en diferentes zonas geográficas de China, las cuales se consideran como áreas de alto riesgo de cáncer de esófago por los altos niveles de contaminación con fumonisinas en el maíz (Yoshizawa et al., 1994; Gao y Yoshizawa, 1997; Zhang et al., 1997).

La fumonisina B1 (FB1) es la más abundante de la familia de estas toxinas y por lo general, representa del 70 a 80% del contenido total de fumonisinas en alimentos contaminados naturalmente por *Fusarium verticillioides*. Su fórmula empírica es  $C_{34}H_{59}NO_{15}$  con un peso molecular de 721 g/mol (Waskiewicz et al., 2012), son aminopolioles cuya estructura principal consiste en una cadena lineal de 20 átomos de carbono, la cual tiene un grupo amino en el carbono 2, junto con grupos metilo, hidroxilo y ácido tricarballílico en diferentes posiciones a lo largo del esqueleto carbonado (Proctor et al., 2003). Cabe mencionar que

---

las fumonisinas no tienen una estructura cíclica como se ha encontrado en la mayoría de las micotoxinas (Wan-Norhasima et al., 2009).

La estructura química de las fumonisinas y en particular la de la FB<sub>1</sub>, es muy similar a la esfinganina (Sa) y a la esfingosina (So), Figura 1.7 que son intermediarios derivados de los ácidos grasos en el metabolismo de los esfingolípidos (Merrill et al., 2001).



Fuente: Hartl y Humpf, 1999

**Figura 1.7** Estructura química de FumonisinaB<sub>1</sub>, Esfinganina y Esfingosina

---

Los esfingolípidos forman parte de la membrana celular e intervienen en los procesos de crecimiento, diferenciación y muerte celular al mantener la estructura de la membrana, la intercomunicación celular, la interacción entre las células y la matriz extracelular, regulando los receptores del factor de crecimiento y actuando como segundos mensajeros (Merrill et al., 1997).

Las fumonisinas inhiben competitivamente a la enzima celular ceramida sintasa y consecuentemente hay acumulación de las bases esfingoides: esfinganina (Sa) y en menor grado esfingosina (So) (Voss et al., 2007). El incremento en la relación Sa:So ha demostrado ser un útil biomarcador a la exposición de la toxina en algunos casos experimentales (Merrill et al., 2001; Riley et al., 2001).

#### **1.4.3 Efecto de las fumonisinas**

Las fumonisinas suponen un factor de riesgo de cáncer de hígado y esófago, defectos en el tubo neural y problemas cardiovasculares, en poblaciones que han ingerido alimentos elaborados con maíz contaminado por altas concentraciones de fumonisinas (IARC, 2002; Wang et al., 2005).

En cuanto a la absorción de FB1 no existen estudios acerca del metabolismo y cinética en humanos. En animales de experimentación, una vez que ingresa al tracto gastrointestinal, la fumonisina se distribuye y elimina rápidamente en su forma original (80% en las heces y 3% en la orina). En el hígado y el riñón, se encuentran bajas concentraciones.

En animales, algunas de las enfermedades relacionadas con el consumo de fumonisinas son leucoencefalomalacia en equinos (LEM). Esta es una enfermedad neurotóxica, que se presenta en todo el mundo y es caracterizada por necrosis del material blanco en uno de los hemisferios del cerebro (Marasas et al., 1984). También se han relacionado con edema pulmonar en cerdos y han demostrado ser hepato y nefrotóxicas en ratas (Gelderblom et al., 1993; Theumer et al., 2002).

---

Las infecciones causadas por fumonisinas en maíz se asocian con enfermedades en plántulas, podredumbres de raíz, tallo y mazorcas e inclusive daños en granos almacenados. Dada la capacidad de producir infecciones sintomáticas, el principal problema relacionado con la presencia de *F. verticillioides* se asocia con la pobre calidad de los granos y la potencial producción de micotoxinas (Munkvold y Desjardins, 1997).

#### **1.4.4 Control de las fumonisinas**

La producción de fumonisinas está influenciada por la variedad de grano usado para el cultivo, por las diferentes formulaciones de fertilizantes, así como por las variaciones en las condiciones de almacenamiento y características ambientales como la temperatura, la humedad y la precipitación pluvial (Ariño et al., 2009; Miller, 2001).

Debido a la alta incidencia de toxinas en materias primas para la alimentación humana y animal, así como su implicación en diversas patologías, es necesario un control de las mismas. Al respecto la Unión Europea (UE) recientemente estableció límites reglamentarios de fumonisinas en los alimentos, considerando la suma de  $FB_1 + FB_2$  teniendo como nivel máximo 1000 ng/g para productos a base de maíz para consumo humano (CE 2007). Por su parte, la Food and Drug Administration (FDA), determinó que el nivel máximo recomendado para fumonisinas totales es de 4000 ng/g para el maíz destinado a la producción de masa (FDA, 2001). Desafortunadamente en México no existe regulación sobre este tipo de micotoxinas.

Generalmente los países exportadores de productos agrícolas procedentes de zonas tropicales o subtropicales con climas húmedos y cálidos carecen de límites máximos admisibles para las micotoxinas, o si los poseen son claramente superiores a los impuestos por los países importadores de clima moderado o frío. Se debería llevar a cabo un consenso mundial en la regulación de la mayoría de las micotoxinas, lo cual parece alejado de la realidad, debido a los intereses creados y a las presiones de tipo comercial.

---

#### **1.4.5 Métodos analíticos para determinar fumonisinas**

Los métodos convencionales para el análisis de las micotoxinas incluyen la cromatografía de capa fina (TLC), cromatografía de gases (GC), espectrometría de masas (MS), electroforesis capilar (CE), cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) con detección por fluorescencia, además se utilizan algunos métodos conjugados (GC/MS), (CE/MS) (Oles y Trucksess, 2010). Estos métodos de análisis aplicados a muestras de alimentos o granos dan resultados en cuestión de horas y/o días. Sin embargo, se debe considerar que la complejidad analítica en la industria alimentaria requiere un informe rápido para cada contaminante (Zheng et al., 2006).

En cuanto a la determinación de fumonisinas, en las últimas dos décadas se introdujeron los métodos alternativos basados en anticuerpos, como por ejemplo el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) (Griessler et al., 2010). Los métodos inmunoquímicos (FumoniTest) basados en la aplicación de anticuerpos monoclonales o policlonales, los cuales han tenido gran aceptación debido a su adaptabilidad, simplicidad, selectividad y bajo costo (Wang et al., 2006).

El método utilizado en esta investigación para la cuantificación de fumonisinas fue del tipo inmunoquímico, el cual se detallará más adelante.

#### **1.4.6 Prevención de la contaminación por fumonisinas**

La contaminación del maíz en el campo con *Fusarium verticillioides* se produce de manera natural y bajo condiciones favorables, es capaz de causar enfermedades en plántulas, podredumbre del tallo, raíz y mazorca. La podredumbre de la mazorca ocasiona reducción en los rendimientos y acumulación de metabolitos, como las fumonisinas, que convierten a los granos en inadecuados para el consumo animal y humano (Scott et al., 1985).

La manera más conveniente de prevenir los problemas ocasionados por las fumonisinas es evitar que el hongo se desarrolle en los productos alimenticios. Se han desarrollado numerosas estrategias que permiten reducir la incidencia

---

de *F. verticillioides* y el contenido de fumonisinas en el maíz. Algunas de ellas son: el uso de variedades menos susceptibles a la producción de micotoxinas, el control de insectos y malezas, y las buenas prácticas agrícolas (BPA's).

Es posible controlar la producción de fumonisinas en el maíz por la simple combinación actividad de agua y temperatura ( $a_w/T$ ), siempre que las condiciones de almacenamiento sean adecuadamente controladas y mantenidas mediante aireación periódica. El intervalo de condiciones que permiten controlar la producción de fumonisina B1 (FB<sub>1</sub>) es mucho más amplio que aquel que se requiere para controlar el crecimiento o la germinación de las cepas productoras. Un almacenamiento a  $<0.93 a_w$  aseguraría el mantenimiento de un maíz libre de fumonisinas procedentes del campo, a niveles  $< 1000$  ng/g a cualquier temperatura. El almacenamiento refrigerado también conseguiría la misma finalidad (Sanchis et al., 2000). Sin embargo, mantener estas condiciones no es fácil sobre todo en países subdesarrollados y con climas tropicales y subtropicales, por la falta de tecnologías apropiadas a las condiciones sociales y económicas de su población.

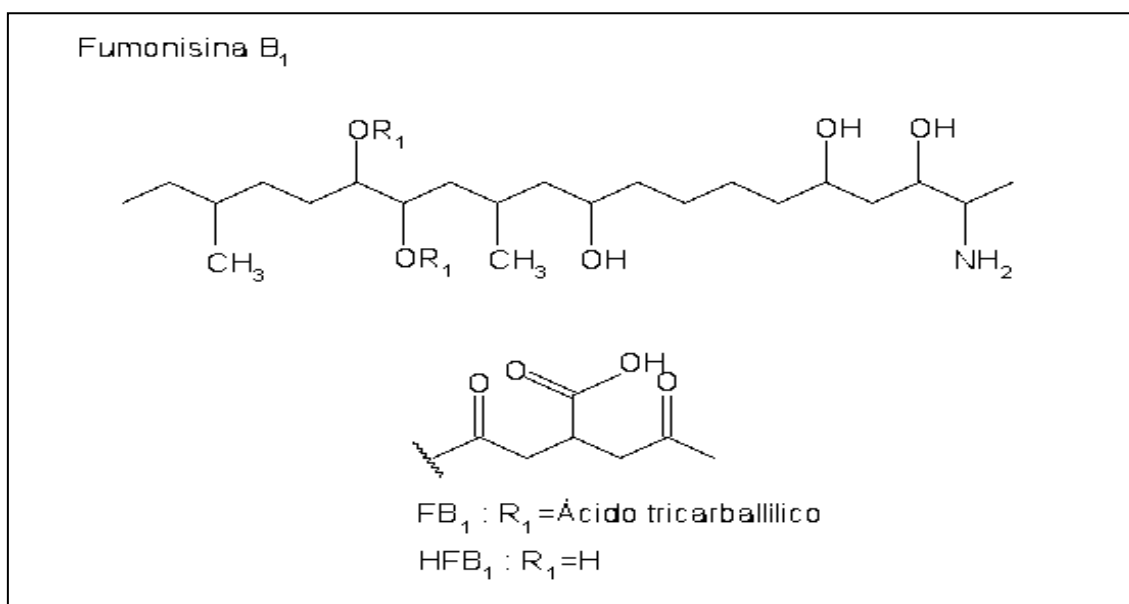
#### **1.4.7 Destoxificación de fumonisinas por proceso térmico-alkalino**

Dado que un gran número de muestras de maíz están contaminadas con fumonisinas, es muy importante el desarrollo de procedimientos de destoxificación de estas toxinas en los alimentos.

El método tradicional para la elaboración de las tortillas de maíz es la nixtamalización, este tratamiento ha demostrado gran eficiencia en la descontaminación de las fumonisinas reduciendo los niveles de contaminación aproximadamente en un 80% (Dombrink-Kurtzman et al., 2000; Voss et al., 2001; De la Campa et al., 2004).

Al parecer las condiciones térmico-alkalinas favorecen la hidrólisis de las fumonisinas (FB) generando HFB1 y HFB2, tal y como se muestra en la Figura 1.8. Las FB y sus hidrolizados persisten durante el proceso, encontrándose aun en las tortillas. Las principales variables que afectan el proceso de descontaminación son: remoción incompleta del pericarpio, conjugación de las

toxinas a proteínas del maíz, tiempo de cocción y reposo del nixtamal, así como el tiempo y la temperatura de cocción de las tortillas (Reyes et al., 2006).



Fuente: Hartl y Humpf, 1999

**Figura 1.8.** Estructura química de la fumonisina B<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>) y su hidrolizado (HFB<sub>1</sub>)

En cuanto a la descontaminación de maíz contaminado con otras toxinas, recientemente se realizó una investigación utilizando el proceso de nixtamalización por microondas (PNM), el cual demostró ser un método eficaz para la degradación de aflatoxinas, logrando reducir los niveles de contaminación hasta en un 84% (Pérez-Flores et al., 2011).

Es por esta razón, que resulta de interés evaluar la efectividad del PNM al procesar maíces contaminados con fumonisinas y al mismo tiempo determinar algunas propiedades de calidad de las tortillas. De este modo, se podrá generar información básica para incorporar este proceso a mediano o largo plazo como un método alternativo para la elaboración de las tortillas de maíz.

---

## **CAPÍTULO II**

### **2.1 PROPUESTA DE INVESTIGACIÓN**

#### **2.1.1 Hipótesis**

El proceso de nixtamalización por microondas puede ser otra alternativa para degradar a las fumonisinas, sin afectar de manera significativa las propiedades fisicoquímicas y tecnológicas de las tortillas de maíz.

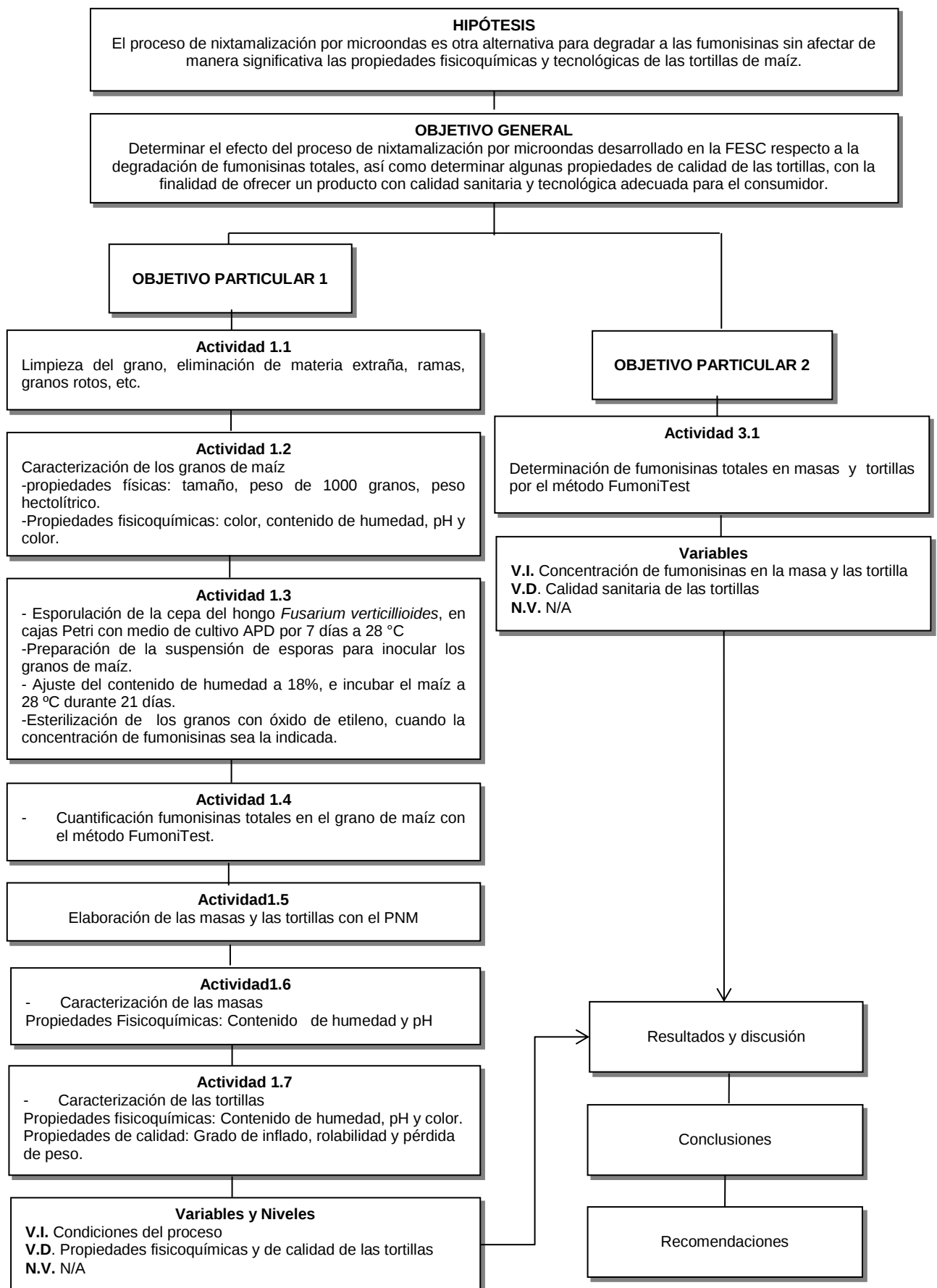
#### **2.1.2 Objetivo general**

Determinar el efecto del proceso de nixtamalización por microondas desarrollado en la FESC respecto a la degradación de fumonisinas totales, así como determinar algunas propiedades de calidad de las tortillas, con la finalidad de ofrecer un producto con calidad sanitaria y tecnológica adecuada para el consumidor.

#### **2.1.3 Objetivos particulares**

- 1) Someter al PNM tres lotes de maíz con un contenido de fumonisinas de  $\approx 2000$  ng/g y determinar las propiedades fisicoquímicas y de calidad de las masas y las tortillas elaboradas.
- 2) Conocer el contenido de fumonisinas totales de las masas y las tortillas obtenidas por el PNM, mediante el método de columna de inmunoafinidad, para determinar la efectividad degradante del proceso.

## 2.1.4 Cuadro metodológico



---

## **2.2 Materiales y métodos**

### **2.2.1 Materia prima**

### **2.2.2 Maíz**

Se utilizó grano de maíz blanco (AS-900) con distribución de tamaño uniforme, el cual fue proporcionado por semillas Aspros de México S.A. de C.V. El grano fue almacenado a temperatura ambiente en tambores de plástico para evitar la proliferación de plagas.

### **2.2.3 Cepa del hongo**

Se empleó una cepa del hongo *Fusarium verticillioides* (UNIGRAS-2509), proporcionada por la Unidad de Investigación en Granos y Semillas de la Universidad Nacional Autónoma de México.

## **OBJETIVO PARTICULAR 1**

## **2.3 Propiedades físicas del grano de maíz**

### **2.3.1 Tamaño del grano de maíz**

Para determinar el tamaño del grano se midió el largo, ancho y espesor del centro del grano. Se midieron 25 granos tomados al azar. Se utilizó un vernier Digimatic, marca Mitutoyo Corp., con rango de medida de 0.01-150 mm. Los datos fueron reportados como el valor promedio y el error estándar de las mediciones.

### **2.3.2 Peso de 1000 granos**

Se tomaron 1000 granos al azar y se pesaron en una balanza analítica Ohaus, con capacidad de 0-210 g, y una precisión de  $\pm 0.0001$  g. Se realizaron cinco

---

repeticiones de cada medición, se obtuvo la media y el error estándar de los datos.

### **2.3.3 Peso hectolítrico**

La determinación de este parámetro se llevó a cabo siguiendo la técnica 55-10 de la AACC (2000). Se llenó con granos un recipiente de aluminio de volumen conocido, pesándose en una balanza analítica Ohaus con capacidad de 0-210 g y una precisión de  $\pm 0.0001$  g. El peso hectolítrico se obtuvo al dividir el peso de los granos entre el volumen del recipiente y relacionándolo a un volumen de 100 L. Se realizaron cinco repeticiones de las mediciones y se reportó la media y el error estándar.

## **2.4. Propiedades fisicoquímicas**

### **2.4.1 Contenido de humedad**

Se procedió de acuerdo al método 44-19 de la AACC (2000). Se colocaron 4 g de muestra en charolas de aluminio en una estufa con circulación de aire forzado a 103 °C durante 24 h. Las pruebas se realizaron por triplicado. Se reportó la media y el error estándar.

### **2.4.2 pH**

La determinación del pH se realizó de acuerdo al método 02-52 de la AACC (2000). Se preparó una suspensión con 10 g (b.s.) de harina de granos de maíz, masa y tortilla en 100 mL de agua destilada, a una temperatura de 25° C. Las suspensiones se agitaron por espacio de 30 min empleando un agitador magnético y posteriormente se dejaron en reposo por espacio de 10 min. El pH fue determinado directamente en el sobrenadante utilizando un potenciómetro marca conductronicPC-45. Las determinaciones se realizaron por triplicado. Se reportó la media y el error estándar.

---

### 2.4.5 Color

Para la medición del color se utilizó un colorímetro marca Minolta modelo CR300. El colorímetro se calibró con una placa blanca de porcelana ( $L=97.02$ ,  $a=0.13$ ,  $b=1.77$ ). Las determinaciones se realizaron de la siguiente forma: se colocaron aproximadamente 100 g de muestra en un recipiente de vidrio de baja profundidad (2 cm) para los granos de maíz, y en el caso de las tortillas, las mediciones se realizaron directamente en éstas.

Las lecturas se realizaron por triplicado con respecto a cuatro posiciones localizadas  $90^\circ$  una respecto a la otra. Se obtuvieron los valores de  $L$ ,  $a$  y  $b$ . Con estos valores se procedió a calcular la diferencia total de color ( $\Delta E$ ), el croma y el valor Hue, con base en las ecuaciones:

$$\Delta E = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{1/2} \quad (I)$$

$$\text{Croma} = (a^2 + b^2)^{1/2} \quad (II)$$

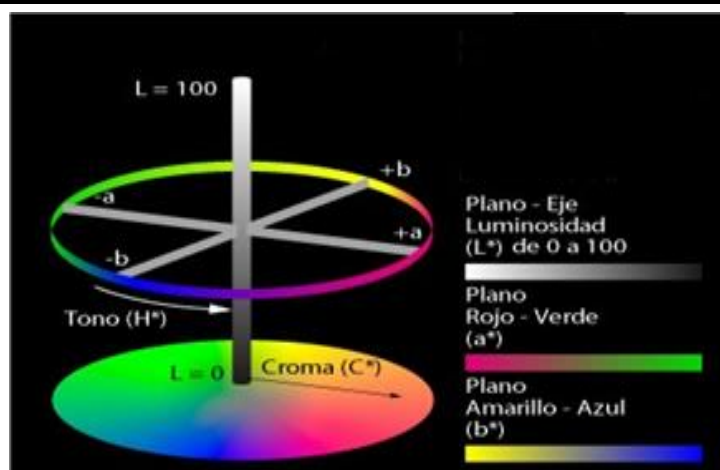
$$\text{Hue} = \text{Tang}^{-1} (b/a) \quad (III)$$

Dónde:

$\Delta E$ = diferencia total del color, entre la referencia y la muestra.

$\Delta L$ ,  $\Delta a$  y  $\Delta b$ = diferencias absolutas en los valores de  $L$ ,  $a$  y  $b$  de la referencia y la muestra.

El método triestímulo Hunter Lab, se define en un espacio cartesiano en el que  $L$  corresponde a la luminosidad, con valores que van de 0 (negro) hasta 100 (blanco). Los ejes  $a$  y  $b$  corresponden a la cromaticidad, concretamente a (rojo-verde) y  $b$  (amarillo-azul). La tonalidad la da el ángulo Hue, y el valor de croma corresponde a la saturación del color (Figura 2.1).



Fuente: Peleg y Bagley, 1983

**Figura 2.1.** Esquemmatización de las coordenadas del color

## 2.5 Preparación de las unidades experimentales

### 2.5.1 Crecimiento del hongo

*Fusarium verticillioides* se indujo a esporular en cajas de Petri con medio de cultivo agar-papa-dextrosa (APD) durante 7 días a 28°C. Con un bisturí se desprendieron las esporas del hongo para preparar una suspensión con aproximadamente 700,000 esporas/mL.

### 2.5.2 Inoculación del maíz

La humedad de los granos fue ajustada a 18% mediante la adición del inóculo, y se almacenó en garrafones de plástico. Los garrafones fueron cubiertos con una película delgada de polietileno para reducir al mínimo la pérdida de humedad del grano; sin embargo, se hicieron 10 perforaciones con un alfiler a cada película, para evitar la acumulación de bióxido de carbono, el cual es generado por la respiración de los granos y hongos. Los garrafones fueron incubados a 28 °C, manteniéndose una humedad relativa entre 70-75%.

Los recipientes fueron mezclados cada 12 horas a baja velocidad (60 rpm) durante 15 minutos en un mezclador (modelo C-100, Hobart Corp. Troy, Ohio, EE.UU.).

---

Transcurrido el periodo de incubación (21 días), el grano fue sometido a una atmósfera de gas de óxido de etileno a una concentración de 1000 mg/L durante 5 h, para detener el desarrollo del hongo toxígeno y evitar la dispersión de las esporas viables (Méndez-Albores et al., 2004a). Finalmente, el grano fue secado aproximadamente a 12% de humedad y almacenado a 4 °C en bolsas de polietileno para su posterior análisis.

## 2.6 Proceso de nixtamalización por microondas

El proceso de nixtamalización se llevó acabo utilizando el método descrito por Pérez-Flores et al. (2011). Unidades experimentales de 1 kg de maíz fueron molidas en un molino Pulvex-200 (malla 5 mm), se adicionó 1 L de agua y 0.05% de hidróxido de calcio. La mezcla fue sometida a cocción por espacio de 3.45 min en un horno de microondas comercial (LG, modelo MS2047 GR, Korea), con una potencia de cocción del 100%. La potencia del magnetrón especificada por el proveedor es de 1650 W con una frecuencia de operación de 2450 MHz. Posteriormente, el nixtamal se dejó en reposo por 3 h a temperatura ambiente. El nixtamal se molió en un molino de piedras (FUMASA, modelo MN-400, México) hasta obtener una masa de fineza adecuada para producir tortillas con un contenido de humedad de aproximadamente 57%. (Figura 2.2).

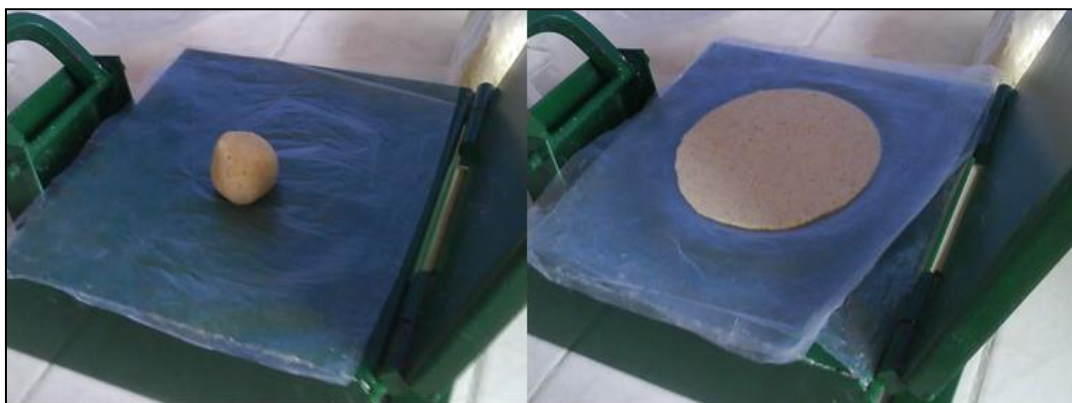


**Figura 2.2** Esquema ilustrativo de la elaboración del nixtamal y la masa  
a) nixtamalización en microondas, b) molienda húmeda de nixtamal  
c) obtención de masa

---

### 2.6.1 Elaboración de las tortillas

Testales de masa de 28 g fueron troquelados en forma de tortillas (Figura 2.3) con las siguientes características: 12.5 cm de diámetro, 1.2 mm de espesor y, se utilizó una tortilladora manual (Modelo TM-G, Casa González. Monterrey, N.L. México).



**Figura 2.3** Troquelado de las tortillas

### 2.6.2 Cocimiento de las tortillas

Las tortillas elaboradas se sometieron a cocción utilizando un comal de fierro calentado a fuego directo a una temperatura promedio de  $270 \pm 5$  °C con los siguientes tiempos: 17 s para la formación de la capa delgada de la tortilla, 55 s para formar la capa gruesa y finalmente se volteó la tortilla y se expuso durante 17s permitiendo el inflado (Figura 2.4).



**Figura 2.4** Cocción de las tortillas: a) tortilla en comal, b) inflado de tortilla

---

---

### **2.6.3 Propiedades de calidad de las tortillas**

#### **2.6.4 Grado de inflado**

La evaluación de este parámetro se llevó a cabo durante la elaboración de 5 tortillas, al observar el tamaño de la ampolla que presentaba cada tortilla, asignándole una calificación de 1 a la tortilla con inflado entre 75 y 100%, de 2 con un inflado entre 25 y 75% y de 3 con un inflado entre 0 y 25% (Pérez-Flores, 2011).

#### **2.6.5 Capacidad de enrollamiento (rolabilidad)**

La rolabilidad se determinó utilizando el método descrito por Bedolla (1983), con algunas modificaciones. Se tomaron al azar cinco tortillas de cada tratamiento y cada una se enrolló manualmente alrededor de una varilla de vidrio de 2 cm de diámetro, y se observó el grado de rompimiento. Se asignó una calificación de 1 a la tortilla que no presentó ruptura, de 2 cuando se rompió aproximadamente el 25% del ancho de la tortilla, de 3 cuando se presentó ruptura de aproximadamente 50%, de 4 a la ruptura del 75 % y de 5 cuando la ruptura fue completa. La prueba se llevó acabo a temperatura ambiente después de 30 minutos de elaboradas las tortillas.

#### **2.6.6 Pérdida de peso durante la cocción de la tortilla**

La pérdida de peso se determinó utilizando el método reportado por Méndez-Albores et al. (2004a). Se elaboraron cinco tortillas de cada repetición y se calculó el porcentaje en peso de material perdido durante el cocimiento, pesando la tortilla antes de someterla a cocción y después de cocida (40 °C aproximadamente), se utilizó la siguiente fórmula:

$$pp = \frac{(p.t.cruda - p.t.cocida)}{(p.t.cruda)} \times 100 \quad (iv)$$

---

Dónde:

p.p.: pérdida de peso

p.t. cruda: peso de la tortilla cruda

p.t. cocida: peso de la tortilla cocida

## **OBJETIVO PARTICULAR 2**

### **2.7 Cuantificación de fumonisinas totales**

El contenido de fumonisinas se determinó de acuerdo al método FumoniTest, utilizando columnas de anticuerpos monoclonales para fumonisinas B1, B2 y B3 (VICAM, Milford, Massachusetts, EE.UU.).

La extracción se realizó mediante la molienda de 50 g de muestra con 5 g de cloruro de sodio (NaCl) grado reactivo y 100 mL de metanol al 80% utilizando una licuadora de laboratorio (Mod. 51BL30; Waring, de New Hartford, Connecticut, EE.UU.) durante 2 minutos a alta velocidad. La mezcla se filtró a través de un papel filtro Whatman N°1, de la cual se recolectó una porción de 10 mL y se diluyó en una solución de 40 mL de buffer de PBS/Tween-20 al 0.1%. La preparación diluida fue sometida a un segundo filtrado con papel de micro fibra, del filtrado, posteriormente, se tomaron 10 mL y fueron transferidos a una columna de inmunoafinidad (FumoniTest, VICAM Watertown, Massachusetts, EE.UU.), Figura 2.5. Posteriormente la columna se lavó dos veces con 10 mL de PBS y se llevó a sequedad. Las toxinas fueron eluídas con 1 mL de metanol grado HPLC, posteriormente se adicionó al eluato 1 mL de la mezcla de revelador y se agitó por espacio de 15 segundos en un vórtex.

Después de 4 minutos se cuantificó el contenido de fumonisinas en un fluorómetro VICAM Serie-4 (VICAM Source Scientific. Irvine, California, U.S.A.). El límite de detección de fumonisinas empleando columnas de inmunoafinidad a través de la medición de fluorescencia es de aproximadamente 100 ng/g.



**Figura 2.5** Columnas de inmunoafinidad FumoniTest

## **2.8 Diseño experimental**

El experimento se realizó con base en un diseño completamente al azar con tres repeticiones. Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza, utilizando el paquete estadístico SAS (SAS, 1998). La comparación de medias se efectuó mediante la prueba Tukey. Un nivel de significancia de ( $\alpha=0.05$ ) fue utilizado para distinguir diferencias significativas entre los tratamientos.

---

## CAPÍTULO III

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### OBJETIVO PARTICULAR 1

##### 3.1 Propiedades físicas del grano de maíz

En la Tabla 3.1, se muestran los valores de las propiedades físicas del grano de maíz utilizado en esta investigación. El maíz AS-900 presentó un tamaño de grano de 10.13 x 8.33 x 4.41 mm, característico de este tipo de maíz. Estas dimensiones son similares a las presentadas por Jiménez-Juárez et al. (2012), quienes reportaron los siguientes valores 10.22 x 8.26 x 4.06 mm para un maíz criollo; a su vez, el grano de maíz presentó un peso de 1000 granos de 305.30 g, el cual es atribuible directamente a su tamaño; este valor es consistente con el reportado por Pérez-Flores (2011) quien indicó un peso de 1000 granos de 308.09 g para granos de maíz de la misma variedad.

**Tabla 3.1** Propiedades físicas del grano de maíz

| Parámetro                   | Maíz AS-900      |
|-----------------------------|------------------|
| Tamaño (mm)*                |                  |
| Largo                       | 10.13 $\pm$ 0.28 |
| Ancho                       | 8.33 $\pm$ 0.15  |
| Espesor                     | 4.41 $\pm$ 0.14  |
| Peso de 1000 granos (g)**   | 305.3 $\pm$ 1.12 |
| Peso hectolítrico (kg/hL)** | 77.06 $\pm$ 0.12 |

\*Media de 100 muestras  $\pm$  error estándar.

\*\*Media de 3 muestras  $\pm$  error estándar.

Uno de los parámetros de calidad comercial del maíz es el peso hectolítrico o densidad. Este parámetro, indica la relación de endospermo harinoso/corneo que presentan los granos. El valor obtenido en este parámetro para el grano de maíz fue de 77.06 kg/hL, el cual corresponde a lo establecido por la norma NMX-FF-034/1-SCFI, 2002; la cual considera que la densidad mínima debe ser de 74 kg/hL para el maíz blanco destinado para la elaboración de las tortillas y productos de maíz nixtamalizados.

---

## 3.2 Propiedades fisicoquímicas del grano de maíz

### 3.2.1 Contenido de humedad del grano de maíz

De acuerdo a las necesidades para el desarrollo del hongo productor de fumonisinas, en el presente estudio, el grano de maíz se ajustó a un contenido de humedad de 18%. Una vez que el nivel de toxina fue el requerido, se realizó un secado del grano hasta un contenido de humedad promedio de  $12.53 \pm 0.01\%$ . Este valor fue similar para las tres unidades experimentales y no se encontraron diferencias estadísticas significativas, tal y como se observa en la Tabla 3.2.

**Tabla 3.2** Propiedades fisicoquímicas del grano de maíz

| Repetición | Humedad (%)        | pH                |
|------------|--------------------|-------------------|
| R1         | $12.65 \pm 0.23^a$ | $6.46 \pm 0.01^a$ |
| R2         | $12.52 \pm 0.15^a$ | $6.45 \pm 0.00^a$ |
| R3         | $12.44 \pm 0.14^a$ | $6.46 \pm 0.01^a$ |

Valor promedio de al menos 3 repeticiones  $\pm$  error estándar

Medias con la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes (Tukey>0.05).

### 3.2.2 pH del grano de maíz

En cuanto al pH de los maíces inoculados con esporas del hongo potencial productor de toxinas, el valor de pH fue de 6.45 en promedio, y no se observó diferencia estadística significativa entre cada una de las repeticiones (Tabla 3.2). Estos valores de pH son similares a los reportados por Méndez-Albores et al. (2004a), quienes registraron valores de pH de 6.42 para un maíz del tipo AS-900.

### 3.2.3 Color del grano de maíz

En la Tabla 3.3 se muestran los resultados de color de los maíces inoculados. En general los valores obtenidos no presentaron diferencia estadística significativa entre cada repetición, lo que indicó que las condiciones de incubación a las que fueron sometidos los granos (28 °C y 18% de humedad)

no tuvieron efecto sobre éste parámetro. Los valores promedio de L y  $\Delta E$  fueron 64.18 y 37.91 respectivamente indicando que los maíces se alejan del color blanco perfecto y tienden a un color amarillento claro o color crema, la tonalidad amarilla fue dada por el ángulo Hue con un valor promedio de 82.21; en tanto que la cromaticidad fue de 20.71, indicando la pureza o saturación del color.

**Tabla 3.3** Parámetros del color determinados en el grano de maíz

| Repetición | L                             | $\Delta E$                    | Croma                         | Hue                           |
|------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| R1         | 64.15 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup> | 37.95 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup> | 20.74 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup> | 82.29 $\pm$ 0.22 <sup>a</sup> |
| R2         | 64.20 $\pm$ 0.36 <sup>a</sup> | 37.90 $\pm$ 0.71 <sup>a</sup> | 20.72 $\pm$ 0.66 <sup>a</sup> | 82.06 $\pm$ 0.39 <sup>a</sup> |
| R3         | 64.19 $\pm$ 0.21 <sup>a</sup> | 37.87 $\pm$ 0.44 <sup>a</sup> | 20.65 $\pm$ 0.45 <sup>a</sup> | 82.26 $\pm$ 0.50 <sup>a</sup> |

Valor promedio de al menos 3 repeticiones  $\pm$  error estándar

Medias con la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes (Tukey>0.05).

### 3.3 Propiedades fisicoquímicas de la masa

#### 3.3.1 Contenido de humedad de la masa

Los resultados del contenido de humedad de las masas obtenidas por PNM, se muestran en la Tabla 3.4, los valores promedio estuvieron en el rango de 57.01% a 57.69%, y no se encontraron diferencias estadísticas significativas. Arámbula-Villa et al. (2000), recomiendan que en una masa de maíz de buena calidad para producir tortillas, la humedad debe oscilar entre 50 y 58%, lo cual proporciona características adecuadas para un buen troquelado. Los valores de humedad de las masas obtenidas por el proceso de nixtamalización con microondas corresponden a lo señalado anteriormente por Martínez-Morquecho., (2012) y Pérez Flores et al., (2011), quienes reportaron valores del contenido de humedad de 54.82% y 54.32% respectivamente, para masas elaboradas empleando un proceso similar de nixtamalización basado en las microondas.

---

**Tabla 3.4** Propiedades fisicoquímicas de las masas

---

| Muestra | Humedad (%)             | pH                     |
|---------|-------------------------|------------------------|
| R1      | 57.20±0.19 <sup>a</sup> | 8.11±0.02 <sup>a</sup> |
| R2      | 57.69±0.16 <sup>a</sup> | 8.12±0.00 <sup>a</sup> |
| R3      | 57.01±0.10 <sup>a</sup> | 8.04±0.00 <sup>a</sup> |

Valor promedio de al menos 3 repeticiones ± error estándar

Medias con la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes (Tukey>0.05).

Es importante señalar que la humedad de la masa es un aspecto crítico a considerar, debido a que masas con humedades por debajo del 50%, son difíciles de troquelar ya que son poco cohesivas, adhesivas y quebradizas. Por el contrario, si hay un exceso en la humedad (más del 60%), las masas son muy “pegajosas” lo cual dificulta también el proceso de troquelado de la tortilla (Pérez-Flores, 2011).

### 3.3.2 pH de la masa

En la Tabla 3.4 se presentan los valores del pH de las masas obtenidas con el PNM, los valores se encontraron en el rango de 8.04 a 8.12, sin presentar diferencias estadísticas significativas. Los valores son similares a los presentados por Milán-Carrillo et al. (2004) quienes reportaron un valor promedio de pH de 8.14, para harinas de maíz nixtamalizado por extrusión; por otra parte, Martínez-Morquecho. (2012) reportó un valor de pH de 8.06 para masa elaborada por el PNM, empleando una concentración de 0.5% de hidróxido de calcio.

En otro estudio realizado por Robles et al. (1988), al analizar masas de harinas de maíz instantáneas reportaron valores de pH en el rango de 5.2 a 10.5, siendo los más comunes de 7 a 9; lo que demuestra que los valores encontrados en la presente investigación se encontraron en el rango promedio.

---

### 3.4 Propiedades fisicoquímicas de las tortillas

#### 3.4.1 Contenido de humedad de las tortillas

En la Tabla 3.5, se presentan los valores del contenido de humedad de las tortillas elaboradas por el PNM. Los valores de este parámetro no presentaron diferencias estadísticas significativas, encontrándose en el rango de 49.48% a 50.13%, y son similares a los reportados para tortillas obtenidas con el PNT (Cuevas-Martínez et al., 2010). Los autores reportaron valores del contenido de humedad de 47.11% a 48.16%. Vázquez-Carrillo et al. (2011) al analizar tortillas de maíz recién elaboradas y tortillas empacadas nacionales, y tortillas empacadas provenientes del extranjero reportaron valores de humedad de 49.2% y 48.6% respectivamente los cuales son muy similares a los obtenidos en la presente investigación. En general, el contenido de humedad de las tortillas depende de las condiciones empleadas durante el proceso de nixtamalización, de la variedad de maíz utilizada y del tiempo en el que se realice la determinación (Agama-Acevedo et al., 2004; Agama-Acevedo et al., 2005).

**Tabla 3.5** Propiedades fisicoquímicas de las tortillas

| Repetición | Humedad (%)             | pH                     |
|------------|-------------------------|------------------------|
| R1         | 49.48±0.14 <sup>a</sup> | 8.28±0.00 <sup>a</sup> |
| R2         | 50.02±0.72 <sup>a</sup> | 8.32±0.02 <sup>a</sup> |
| R3         | 50.13±0.27 <sup>a</sup> | 8.30±0.01 <sup>a</sup> |

Valor promedio de al menos 3 repeticiones ± error estándar

Medias con la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes (Tukey>0.05).

#### 3.4.2 pH de las tortillas

La Tabla 3.5, también muestra los valores de pH de las tortillas, se puede observar que no hubo diferencias estadísticas significativas y el valor promedio fue de 8.30, similar a lo reportado por Méndez-Albores et al. (2004b), quienes encontraron un valor de pH de 8.33 para el caso de las tortillas obtenidas con el proceso de nixtamalización tradicional, utilizando 3% de hidróxido de calcio; siendo los valores muy similares a los del presente estudio aun, cuando se

---

utilizó 0.5% de hidróxido de calcio, se debe considerar que en el PNT se genera nejayote, en el cual se pierde gran parte del hidróxido de calcio adicionado; contrario al PNM en el cual se conservan todas las partes anatómicas del grano por lo tanto el hidróxido de calcio permanece en las tortillas. Por otra parte Vázquez-Carrillo et al. (2011) indicaron valores de pH de 8.4 en tortillas elaboradas con harina de maíz nixtamalizado. De acuerdo a lo anterior los resultados corresponden al valor promedio de pH de tortillas comerciales.

Es importante señalar que la concentración de hidróxido de calcio es un factor determinante en el color, olor y tiempo de vida de anaquel de las tortillas. Cuando el contenido de hidróxido de calcio no es suficiente para darle el sabor alcalino característico de la tortilla, ésta es rechazada por los consumidores, si por el contrario este compuesto está en exceso, la tortilla se vuelve muy astringente siendo también rechazada para su consumo.

### **3.4.3 Color de las tortillas**

En la Tabla 3.6 se muestran los resultados del análisis del color de las tortillas, se puede observar que no se presentó diferencia estadística significativa entre estos valores. La luminosidad (L) presentó un valor promedio de 64.54, mientras que el valor de  $\Delta E$  fue de 38.12, ambos valores fueron mayores en comparación a los obtenidos en los granos de maíz, lo que indica que las tortillas se alejaron del color crema hacia el color amarillo, el cual está directamente relacionado al contenido de hidróxido de calcio utilizado durante el proceso. Los valores obtenidos, son similares a los reportados por Pérez-Flores et al. (2011) quienes registraron valores de  $\Delta E$  de 37.35 en tortillas elaboradas con la misma concentración de hidróxido de calcio. Por otra parte Martínez-Morquecho. (2012), indicó un valor de L de 65.03 para tortillas elaboradas por el PNM, con una concentración de hidróxido de calcio de 0.5%. En el mismo estudio se reportó que la diferencia total del color ( $\Delta E$ ) encontrada fue de 38.22

**Tabla 3.6** Parámetros del color determinados en las tortillas

| Repetición | L                       | (ΔE)                    | Croma                   | Hue                     |
|------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| R1         | 64.21±0.30 <sup>a</sup> | 37.96±0.33 <sup>a</sup> | 20.87±0.20 <sup>a</sup> | 86.67±0.61 <sup>a</sup> |
| R2         | 64.40±0.26 <sup>a</sup> | 37.66±0.29 <sup>a</sup> | 22.23±0.27 <sup>a</sup> | 86.41±0.79 <sup>a</sup> |
| R3         | 65.02±0.41 <sup>a</sup> | 38.75±0.57 <sup>a</sup> | 23.63±0.34 <sup>a</sup> | 86.33±0.61 <sup>a</sup> |

Valor promedio de al menos 3 repeticiones ± error estándar.

Medias con la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes (Tukey>0.05).

Los valores promedio de Hue (86.47) y de Croma (22.24) indican que el color amarillo fue más intenso en las tortillas que en el maíz; lo cual demuestra que la cantidad de hidróxido de calcio afecta el color de las tortillas, aunque éstas sean elaboradas a partir de granos de maíz blanco, dado que la intensidad del color está directamente relacionada a los carotenoides, flavonoides y sobre todo al pH. En trabajos anteriores se presentaron valores similares, Cuevas-Martínez et al. (2010) reportaron un valor promedio de Hue (87.33) para tortillas elaboradas por el método tradicional de nixtamalización; por otra parte Martínez-Morquecho. (2012) reportó valores de Croma de 22.69, acordes a los resultados obtenidos durante esta investigación.

El desarrollo del color durante los procesos térmico-alcalinos es complejo, considerando que el hidróxido de calcio reacciona con los diferentes pigmentos del maíz e interfiere con las reacciones de oscurecimiento, tales como la caramelización y las reacciones de Maillard. Generalmente, altas concentraciones de hidróxido de calcio producen un color amarillento además de extender la vida de anaquel de las tortillas (Gutiérrez-Dorado et al; 2007; Serna-Saldívar et al; 1990).

### 3.5 Propiedades de calidad de las tortillas

#### 3.5.1 Grado de inflado

En la Tabla 3.7, se muestran las propiedades de calidad de las tortillas producidas con el PNM. En general, las tortillas presentaron un valor de 1 en el grado de inflado, indicando que éstas presentaron un inflado completo (75-100%), por lo que se puede observar que los resultados no presentaron

diferencias estadísticas significativas. El inflado es un parámetro relacionado con altos valores de humedad en las masas, mismos que favorecen la formación de la ampolla en la tortilla (Yáñez-Ortega, 2005). Un buen inflado se obtiene al crearse 2 capas (perfectas) e impermeables, las cuales retienen el vapor que ocasiona que la tortilla se infle durante el cocimiento.

Figuerola et al. (1993) reportaron que la concentración de hidróxido de calcio puede afectar el grado de inflado de las tortillas, al elaborar harinas instantáneas para la producción de masa y tortillas de maíz, empleando un método alternativo de nixtamalización por extrusión, los autores indicaron que una concentración de 0.25% de hidróxido de calcio es suficiente para obtener un buen inflado en las tortillas producidas. Si bien, en el presente estudio la concentración de hidróxido de calcio utilizada fue mayor (0.5%), los resultados obtenidos indicaron que el PNM resultó efectivo, ya que todas las tortillas presentaron un inflado completo aun cuando se utilizó el doble de la concentración de hidróxido de calcio.

**Tabla 3.7** Propiedades de calidad de las tortillas

| Repetición | Grado de Inflado | Rolabilidad    | Pérdida de peso (%)      |
|------------|------------------|----------------|--------------------------|
| R1         | 1 <sup>a</sup>   | 1 <sup>a</sup> | 17.489±0.47 <sup>a</sup> |
| R2         | 1 <sup>a</sup>   | 1 <sup>a</sup> | 17.201±0.30 <sup>a</sup> |
| R3         | 1 <sup>a</sup>   | 1 <sup>a</sup> | 17.007±0.14 <sup>a</sup> |

Valor promedio de al menos 3 repeticiones ± error estándar

Grado de inflado: 1= inflado de 75-100%; 2=inflado de 25-75%; 3=inflado de 0-25%.

Rolabilidad: 1= no presenta ruptura; 2= ruptura aprox. del 25%; 3= ruptura aprox. 75% y 5= ruptura completa.

### 3.5.2 Rolabilidad

La rolabilidad es un parámetro subjetivo utilizado para medir la textura de las tortillas (Bedolla y Rooney, 1984). Este parámetro está relacionado con la humedad de la tortilla; al respecto Contreras-Jiménez. (2009) señaló que las tortillas con humedades superiores al 35% presentan una textura suave y no son quebradizas.

Los valores de la rolabilidad obtenidos en la presente investigación se muestran en la Tabla 3.7. Al igual que en el caso del inflado, se puede observar

---

que la rolabilidad no fue afectada significativamente por el PNM; en general, todas las tortillas presentaron un valor de 1, definido como tortillas sin ruptura. Consecuentemente, las tortillas se encontraron dentro de los márgenes de calidad aceptable, con una textura suave, lo cual permitió que fueran enrolladas sin romperse.

Los resultados obtenidos concuerdan con los presentados por Flores-Farías et al. (2000) y Leucona-Villanueva et al. (2012); en ambos trabajos se evaluaron tortillas de maíz obtenidas por el método de nixtamalización tradicional, así como tortillas elaboradas a partir de harinas de maíz nixtamalizado, los autores indicaron que las tortillas provenientes del proceso tradicional mostraron mejores características de textura y no presentaron ruptura, obteniendo valores de 1 (sin ruptura) en la prueba de rolabilidad.

### **3.5.3 Pérdida de peso durante la cocción de la tortilla**

En la Tabla 3.7, también se presentan los valores del porcentaje de pérdida de peso durante la cocción de las tortillas, los valores se encuentran en el rango de 17.00% a 17.48% y no se encontró diferencia estadística significativa. En otros estudios se encontraron valores entre 18.99 y 19.50% (Pérez-Flores, 2011), por otra parte Martínez-Morquecho. (2012) reportó un valor de pérdida de peso de 18.64%; en ambos casos las tortillas fueron elaboradas por el PNM con una concentración de 0.5% de hidróxido de calcio. Este parámetro es de suma importancia en la industria de la masa y la tortilla, ya que la pérdida de peso está relacionada directamente con las propiedades de calidad y de textura de las tortillas. Además, la pérdida de peso se relaciona directamente al rendimiento de las tortillas, el cual se traduce en el aspecto económico. Arámbula-Villa et al. (2001) sugieren que el porcentaje de pérdida de peso no debe rebasar el 20%, ya que valores superiores, producirán una tortilla con baja humedad, afectando la textura, la rolabilidad y el rendimiento del producto.

---

## OBJETIVO PARTICULAR 2

### 3.6 Fumonisinias totales en el maíz, la masa y las tortillas

En la Tabla 3.8 se muestran los resultados de la cuantificación de fumonisinias totales en el maíz y los productos obtenidos del proceso de nixtamalización con microondas (masa y tortillas). Se puede observar que el valor promedio de fumonisinias totales en el maíz fue de  $2136.67 \pm 59.92$  ng/g y no se presentaron diferencias significativas entre las repeticiones. Concentraciones de fumonisinias similares se han encontrado en maíces de diferentes regiones de México, al respecto Contreras et al. (2007) analizaron muestras de maíz de 27 estados, obteniendo valores de 1000 a 5000 ng/g, siendo la concentración más frecuente 2000 ng/g, los resultados concuerdan con los obtenidos por Gallardo-Reyes et al. (2006) en maíces contaminados naturalmente provenientes de 10 localidades del estado de Sonora.

**Tabla 3.8** Fumonisinias totales en el maíz, la masa y las tortillas

| Repetición         | Fumonisinias totales (ng/g) |                       |                      |
|--------------------|-----------------------------|-----------------------|----------------------|
|                    | Maíz                        | Masa                  | Tortillas            |
| R1                 | 2191                        | 2000                  | 997                  |
| R2                 | 2017                        | 1921                  | 952                  |
| R3                 | 2202                        | 2074                  | 1007                 |
| $\bar{X} \pm e.e.$ | $2136.66 \pm 59.91^a$       | $1998.33 \pm 44.17^a$ | $985.33 \pm 16.91^b$ |

Valor promedio de al menos 3 repeticiones  $\pm$  error estándar

Medias con la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes (Tukey>0.05).

En cuanto a los valores de la concentración de fumonisinias totales en las masas obtenidas por el PNM, el valor promedio fue de  $1998.33 \pm 44.17$  ng/g (Tabla 3.8). Este valor, es ligeramente menor a la concentración inicial de los maíces inoculados, lo cual indica que las condiciones térmico-alcálinas (concentración de 0.5% de  $\text{Ca(OH)}_2$ , tiempo de cocción de 3.75 min) del proceso de nixtamalización por microondas no tuvieron un efecto considerable sobre el contenido de fumonisinias, ya que únicamente se redujo el 6.5% de la concentración inicial de toxina. Cabe mencionar que el PNM no genera nejayote, por consiguiente al mantener todas las partes anatómicas del grano,

---

también las toxinas permanecen, a diferencia del PNT en el cual algunos sólidos orgánicos son desechados en el líquido de cocción. Estos sólidos, están conformados principalmente por pericarpio, germen y fracciones del endospermo; por lo consiguiente, las fumonisinas presentes en estas partes anatómicas del grano son eliminadas y extraídas en el agua de lavado. De acuerdo a lo señalado en trabajos anteriores, la eliminación física de las fumonisinas es un paso crucial para obtener una mayor reducción.

Respecto a la concentración final de toxinas en las tortillas, se encontró diferencia estadística significativa en este parámetro, el valor promedio fue de  $985.33 \pm 16.914$  ng/g (Tabla 3.8). Este valor en el contenido de fumonisinas, representa una reducción acumulable del 54% de la concentración inicial de toxina, reducción muy probablemente atribuible a la etapa de cocción de la masa para producir tortillas.

Diferentes autores han señalado que la concentración de fumonisinas se reduce cuando el maíz es sometido a cocción por extrusión, freído, ebullición u horneado (Jackson et al., 1997; Seefelder et al., 2003; Humpf y Voss, 2004). Sin embargo, el grado de reducción es variable y dependiente de las condiciones del tratamiento térmico. El mecanismo por el cual se llevan a cabo estas reducciones no es bien conocido; sin embargo, implica disolución de las toxinas en los líquidos de cocción, descomposición térmica, o la unión de los componentes a la matriz alimentaria (Scott y Lawrence, 1994; Voss et al., 2001; Humpf y Voss, 2004; Park et al., 2004).

Las condiciones térmicas-alcálinas empleadas en el PNM no fueron las suficientes como para degradar a las fumonisinas a niveles “seguros”, esto hasta la etapa de obtención de la masa; sin embargo, al elaborarse las tortillas, los niveles que presentaron éstas, se encontraron por debajo de los niveles permitidos por la Unión Europea (UE), la cual establece como límite permisible 1000 ng/g de fumonisinas totales en el maíz destinado para el consumo humano y alimentos a base de maíz.

---

Las condiciones usualmente empleadas en el procesamiento de las tortillas con el uso del PNT, no son del todo las adecuadas para destoxificar completamente el maíz contaminado con fumonisinas para la elaboración de las tortillas. Algunos autores han reportado que la nixtamalización tradicional degrada hasta un 80% del contenido inicial de fumonisinas en el maíz durante la producción de las tortillas (Dombrink-Kurtzman et al; 2000., Voss et al; 2001., De la Campa et al; 2004). Es por esta razón, que se debe considerar que la degradación de fumonisinas en el maíz contaminado, dependerá siempre de los parámetros de nixtamalización, tales como: el método de cocción, la temperatura/tiempo de cocción, la concentración de hidróxido de calcio, el tiempo de reposo, así como de la concentración inicial de fumonisinas en el maíz. El contenido de humedad de la masa, así como la temperatura/tiempo de cocción de las tortillas, son los factores más importantes para obtener una mayor degradación acumulativa de las fumonisinas.

Cabe mencionar que la concentración de fumonisinas en el proceso de nixtamalización tradicional se reduce por al menos dos mecanismos: 1) la extracción en el líquido de cocción/maceración y 2) la hidrólisis de uno o ambos grupos de ácido tricarbálico de la estructura molecular de la fumonisinas la cual es favorecida por la acción del calor durante la cocción de las tortillas. Es importante considerar la hidrólisis de la molécula debido a la nixtamalización, ya que se ha demostrado que la HFB<sub>1</sub> ha resultado ser menos tóxica que la FB<sub>1</sub> en estudios realizados al administrarse a ratas y ratones (Gelderblom et al., 1993; Howard et al., 2002; Collins et al., 2006). En la presente investigación es muy probable que la degradación de las fumonisinas esté relacionada a la hidrólisis del ácido tricarbálico debido a la acción del calor durante la cocción de las tortillas, y al efecto del hidróxido de calcio que permanece durante el proceso dado que el PNM no genera nejayote.

---

## CONCLUSIONES

Las condiciones térmico alcalinas no tuvieron efecto significativo durante la elaboración de la masa, considerando que el nivel de contaminación en los maíces fue de 2136.67 ng/g y el contenido de fumonisinas en la masa fue de 1998.33 ng/g, lo que representó una reducción del 6.5% de la concentración inicial de toxina.

La mayor degradación de fumonisinas ocurrió por efecto térmico, durante la cocción de las tortillas el contenido de toxinas se redujo hasta 985.33 ng/g con una degradación acumulativa del 54%, resultando dentro de los niveles “seguros” establecidos por la Unión Europea.

Los parámetros de calidad de las tortillas obtenidas por PNM no fueron afectados, ya que estas son similares a las tortillas obtenidas por el PNT.

---

## RECOMENDACIONES

Es necesario realizar otras investigaciones para determinar los efectos citotóxicos de las fumonisinas y sus hidrolizados los cuales se encuentran presentes en las tortillas elaboradas con el PNM.

Es recomendable evaluar el PNM y su efecto sobre otras toxinas relacionadas a la contaminación del maíz, tales como la zearalenona, la ocratoxina, el desoxinivalenol, entre otras.

Se recomienda la aplicación del PNM como proceso alternativo de nixtamalización para la elaboración de tortillas de maíz siempre y cuando se tenga un “estricto” control sanitario de los maíces que se van a procesar, teniendo en cuenta las ventajas tecnológicas que presenta el proceso sobre el método tradicional como son: ahorro de agua, la no generación de efluentes contaminantes, disminución del tiempo-consumo de energía y finalmente la producción de tortillas con características de calidad adecuadas.

---

## REFERENCIAS

- Agama-Acevedo E, Rendón-Villalobos R, Tovar J, Paredes-López O, Islas-Hernández JJ, Bello-Pérez LA (2004). In Vitro Starch digestibility changes during storage of maize flour tortilla. *Nahrung*, 48:38-42.
- Agama-Acevedo E, Rendón-Villalobos R, Tovar J, Trejo-Estrada SR, Bello-Pérez LA (2005). Effect of storage time on in Vitro digestion rate and resistant starch content of tortillas elaborated from commercial corn masas. *Arch Latinoam Nutr*, 55:86-92.
- Almeida HD, Rooney LW (1996). Avances en la manufactura y calidad de productos de maíz Nixtamalizado. *Ind Alim*, 18:4-13.
- American Association of Cereal Chemists (AACC) (2000). Approved methods of the AACC. 9a ed. St. Paul, MN. USA.
- Arámbula-Villa G, Yáñez-Limón JM, Vorobiev-Vasilievich Y, González Hernández J (2000). Coeficiente efectivo de difusión de agua en masas de maíz nixtamalizado por extrusión. *Agrociencia* 34:717-27.
- Arámbula-Villa G, Barrón-Ávila L, González-Hernández J, Moreno-Martínez E, Luna-Bárcenas G (2001). Efecto del tiempo de cocimiento y reposo del grano de maíz (*Zea mays*) nixtamalizado, sobre las características fisicoquímicas, reológicas, estructurales y texturales del grano, masa y tortillas de maíz. *Arch Latinoam Nutr* 51:187-94.
- Ariño A, Herrera M, Juan T, Estopañan G, Carramiñana JJ, Rota C, Herrera A (2009). Influence of agricultural practices on the contamination of maize by fumonisin mycotoxins. *J Food Prot* 72:898-902.
- Bacon CW, Williamson JW (1992). Interactions of *Fusarium moniliforme*, its metabolites and bacteria with corn. *Mycopathologia*, 117:65–71.
- Bedolla S (1983). Development and characterization of instant tortilla flours from sorghum and corn by infra-red baking (micronizing) and extrusion baking. PhD dissertation. Texas A&M University: College Station. Texas.
- Bedolla S, Rooney LW (1984). Characterization of U.S. and Mexican instant maize flours for tortilla and snack preparation. *Cereal Food World*, 29:732-35.
- Bello-Pérez LA, Osorio-Díaz P, Agama-Acevedo E, Núñez-Santiago C, Paredes-López O (2002). Propiedades químicas, fisicoquímicas y reológicas de masas y harinas de maíz nixtamalizado. *Agrociencia*, 36:319-328.
- Benítez-Cardoza CG, Pfeiffer-Perea H (2006). El maíz: origen, composición química y morfología. *Materiales Avanzados*, 7:15-20.

---

Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. (CIMMYT) Disponible en: [http://w4.siap.gob.mx/sispro/IndModelos/SP\\_AG/Maiz/Descripci%C3%B3n.npd](http://w4.siap.gob.mx/sispro/IndModelos/SP_AG/Maiz/Descripci%C3%B3n.npd). Consulta web, Marzo 2012.

Collins TF, Sprando RL, Black TN, Olejnik N, Eppley RM, Shackelford ME, Howard PC, Rorie JI, Bryant M, Ruggles DI (2006). Effects of aminopentol on in utero development in rats. *Food Chem Toxicol*, 44:161-69.

Contreras-Jiménez BL (2009). Caracterización de harina de maíz instantánea obtenida por calentamiento óhmico. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. México.

Contreras PC, Rosiles MR, Rios RC, Muñoz RC, Fuentes OV (2007). Geographic distribution and frequency of Fusarium and fumonisin B1 in Mexican corn. *J Agric*, 2:222-25.

Comisión Europea (CE) (2007). Reglamento (CE) nº 1126/2007. *Diario Oficial de la Unión Europea*, L255:14-17.

Cruz-Huerta E, Verdalet-Guzmán I (2007). Tortillas de maíz: una tradición muy nutritiva. *La ciencia y el Hombre*, 20:41-44.

Cuevas-Martínez D, Moreno-Ramos C, Martínez-Manrique E, Moreno-Martínez E, Méndez-Albores A (2010). Nutrition and texture evaluation of maize-white common bean nixtamalized tortillas. *Interciencia*, 35:828-32.

De la Campa R, Miller JD, Hendricks K (2004). Fumonisin in tortillas produced in small-scale facilities and effect of traditional masa production methods on this mycotoxin. *J Agric Food Chem*, 52:4432-37.

Dombrink-Kurtzman MA, Dvorak TJ, Barron ME, Rooney LW (2000). Effect of nixtamalization (alkaline cooking) on fumonisin-contaminated corn for production of masa and tortillas. *J Agric Food Chem*, 48:5781-86.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) (1993). El maíz en la nutrición humana. Depósito de documentos de la FAO. Roma.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) (2001). El maíz en los trópicos, mejoramiento y producción. Roma.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) (2003). Manual sobre la aplicación del sistema de análisis de peligros y de puntos críticos de control (APCC) de las micotoxinas en la prevención y control de las micotoxinas. Roma.

Food and Drug Administration (FDA) (2001). Guidance for industry fumonisin levels in human foods and animal feeds. Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryIn>

---

formation/ChemicalContaminantsMetalsNaturalToxinsPesticides/ucm109231.htm. Consulta web: Marzo 2012.

Figuerola JDC, Martínez-Bustos F, González-Hernández J, Sánchez-Sinencio F, Martínez JL, Ruiz MT (1993). Extrusor y proceso continuo para formación de masa fresca de maíz, para la elaboración de tortillas, harinas instantáneas y sus derivados. Patente SECOFI 936544. México, D. F.

Flores-Farías R, Martínez-Bustos F, Salinas-Moreno Y, Kil-Chang Y, González-Hernández J, Ríos E (2000) Physicochemical and rheological characteristics of commercial nixtamalised mexican maize flours for tortillas. *J Sci Food Agric*, 80:657-64.

Gallardo-Reyes ED, Ibarra-Moreno GM, Sánchez-Mariñez RI, Cruz-Cuamea G, Molina-Gil D, Parra-Vergara NV, Rosas-Burgos EC, Cortez-Rocha MO (2006). Micobiota de maíz (*Zea mays* L.) recién cosechado y producción de Fumonisina B1 por cepas de *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenb. *Rev Mex Fitopatol*, 24:27-34.

Gao HP, Yoshizawa T (1997). Further study on *Fusarium* mycotoxins in corn and wheat from a high-risk area for human esophageal cancer in China. *Mycotoxins*, 45:51–55.

Gaytán-Martínez M, Morales SE, Figuerola Cárdenas JDC (2000). Aplicación de un proceso de cocimiento dieléctrico en la elaboración de harinas instantáneas de maíz amarillo para preparación de frituras de masa y tortilla. *Arch Latinoam Nutr* 50:366-73.

Gelderblom WCA, Cawood ME, Snyman SD, Vleggaar R, Marasas WFO (1993). Structure-activity relationships of fumonisins in short-term carcinogenesis and cytotoxicity assay. *Food Chem Toxicol*, 31:407-14.

Grupo Industrial Maseca S.A.B. de C.V. Iniciando cobertura de GIMSA: COMPRA ¡Y que viva la Tortilla!. (GIMSA) (2012). Disponible en: [http://www.actinver.com/documentos/IAalisis/Analisis/Doc/PaginaActinver/inicioCobertura/120413\\_GIMSAIC.pdf](http://www.actinver.com/documentos/IAalisis/Analisis/Doc/PaginaActinver/inicioCobertura/120413_GIMSAIC.pdf). Consulta web: Septiembre 2013.

Gómez MH, Rooney LW, Waniska RD, Pflugfelder RL. (1987). Dry corn masa flours for tortilla and snack food production. *Cereal Food World*, 32:372-77.

Griessler K, Rodrigues I, Handl J, and Hofstetter U. (2010). Occurrence of mycotoxins in southern Europe. *World Mycotoxin J*, 3:301-09.

Gutiérrez-Dorado R, Ayala-Rodríguez AE, Milán-Carrillo J, López-Cervantes J, Garzón-Tiznado JA, López-Valenzuela JA, Paredes-López O, Reyes-Moreno C (2007). Technological and nutritional properties of flours and tortillas from nixtamalized and extruded quality protein maize (*Zea mays* L.). *Cereal Chem* 85:808-16.

---

Halliday D, Resnick R, Krane K (1994). Física Volumen 2. Compañía Editorial Continental. México.

Hartl M, Humpf U (1999). Simultaneous determination of fumonisin B1 in corn products by liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. *J Agr Food Chem*, 47:5078-83.

Hoseney RC (1991). Principios de ciencia y tecnología de los cereales. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza España.

Howard PC, Couch LH, Patton RE, Eppley RM, Doerge DM, Churchwell MI, Marques MM, Okerberg CV (2002). Comparison of the toxicity of several fumonisin derivatives in a 28-day feeding study with female B6C3F1 mice. *Toxicol Appl Pharm* 185:153-65.

Humpf H, Voss KA. 2004. Effects of thermal food processing on the chemical structure and toxicity of fumonisin mycotoxins. *Mol Nutr Food Res*, 48:255-69.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC) (1993). Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans 56:445-50.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC) (2002). Fumonisin B1. Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans 82:301-66.

Inglett GE (1970). Corn: culture, processing, products. AVI Publishing Company Incorporated (ed.) London, England.

Jackson LS, Katta SK, Fingerhut DD, De Vries JW, Bullerman LB (1997). Effects of baking and frying on the fumonisin B1 content of corn-based foods. *J Agric Food Chem*, 45:4800-05.

Jiménez-Juárez JA, Arámbula-Villa G, De la Cruz-Lázaro E, Aparicio-Trapala MA (2012). Características del grano, masa y tortilla producida con diferentes genotipos de maíz del trópico mexicano. *Universidad y Ciencia*, 28: 145-52.

Kent NL (1987). Tecnología de los cereales. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España.

Kotz JC, Treichel PM (2003). Química y reactividad química. 5ª. Ed. Editorial Impresora Apolo, México.

Leucona-Villanueva A, Betancur-Ancona DA, Chel-Guerrero LA, Castellano-Ruelas AF (2012). Protein fortification of corn tortillas: effects on physicochemical characteristics, nutritional value and acceptance. *Food Nutr Sci*, 3:1658-63.

---

Marasas WFO, Nelson PE, Toussoun TA (1984). Toxigenic Fusarium Species. Identity and Mycotoxicology. University Park, PA: Pennsylvania State University Press.

Martínez-Morquecho RA (2012). Efecto de la concentración del hidróxido de calcio sobre la calidad nutrimental de las tortillas de maíz elaboradas con nixtamalización por microondas. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

Méndez-Albores A, Arámbula-Villa G, Loarca-Piña MG, González-Hernández J, Castaño-Tostado E, Moreno-Martínez E (2004a). Aflatoxin's fate during the nixtamalization of contaminated maize by two tortilla-making processes. *J Stored Prod, Res*, 40:87-94.

Méndez-Albores A, Villa GA, Del Río-García JC, Martínez EM (2004b). Aflatoxin detoxification achieved with Mexican Traditional Nixtamalization Process (MTNP) is reversible. *J Sci Food Agric*, 84:1611-14.

Méndez-Albores A, Zamora-Rodríguez D, Arámbula-Villa G, Vázquez-Duran A, Moreno-Martínez E (2014). Impact of different alkaline-heating processes on technological and nutritional properties of maize tortillas. *J Food Nutr Res*, 53(1):60-70.

Mendoza FC (1975). Method for obtaining nixtamalized flours. Patent No. 3859452. United States.

Merrill AH, Schmelz EM, Wang E, Dillehay DL, Rice LG, Meredith F, Riley RT (1997) Importance of sphingolipids and inhibitors of sphingolipid metabolism as components of animal diets. *J Nutr*, 127:830S-33S.

Merrill AH, Sullards MC, Wang E, Voss KA, Riley RT (2001). Sphingolipid metabolism: roles in signal transduction and disruption by fumonisins. *Environ Health Persp*, 109:283-89.

Milán-Carrillo J, Gutiérrez-Dorado R, Cuevas-Rodríguez EU, Garzón-Tiznado JA, Reyes-Moreno C (2004). Nixtamalized flour from quality protein maize (*Zea mays* L) optimization of alkaline processing. *Plant Food Hum Nutr*, 59:35-44.

Miller JD (2001). Factors that affect the occurrence of fumonisin. *Environ Health Persp* 109:321-24.

Morata-Barrado A (2010). Nuevas tecnologías de conservación de alimentos. 2ª edición. A Madrid Vicente Ediciones. Madrid.

Morrison WR (1988). Lípidos in cereal estarces: a revise. *J Cereal Si*, 8:1-15.

Moss MO (1996). "Mycotoxins". *Mycol Res*, 100:513-23.

Mudgett RE (1986). Microwave properties and heating characteristics of foods. *Food Tech*, 40:84-93.

---

---

Munkvold GP, Desjardins AE (1997). Fumonisin in Maize. Can we reduce their occurrence?. *Plant Dis*, 81:556-65.

Niño-Medina G, Carvajal-Millán E, Lizardi J, Rascon-Chu A, Márquez-Escalante JA, Gardea G, Martínez López AL, Guerrero V (2009). Maize processing waste water arabinoxylans: Gelling capability and cross-linking content. *Food Chem*, 115:1286-90.

Norma Mexicana NMX-FF-034/1-SCFI (2002). Productos alimentarios no industrializados para consumo humano. Cereales. Parte I: Maíz blanco para proceso alcalino para tortillas de maíz y productos de maíz nixtamalizado. Especificaciones y métodos de prueba.

Oles CJ, Trucksess MW (2010). Determination of fumonisin B1 in botanical roots by liquid chromatography with fluorescence detection: single-laboratory validation. *J AOAC*, Int 93: 1155-60.

Paredes-López O, Guevara-Lara F, Bello-Pérez LA (2008). La nixtamalización y el valor nutritivo del maíz. *Ciencias*, 92-93:60-70.

Park JW, Scott PM, Lau BPY, Lewis DA (2004). Analysis of heat-processed corn foods for fumonisins and bound fumonisin. *Food Addit Contam*, 21:1168-78.

Pedroza-Islas R, Duran de Bazúa C (1990). Aerobic treatment of maize-processing wastewater in a 50-liter rotating biological reactor. *Biol Waste*, 32:17-27.

Pérez-Flores GC (2011). Evaluación de la degradación de aflatoxinas en procesos alternos de nixtamalización por microondas. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

Pérez-Flores GC, Moreno-Martínez E, Méndez-Albores A (2011). Effect of microwave heating during alkaline-cooking of aflatoxin contaminated maize. *J Food Sci*, 76:48-52.

Pitt JI, Hocking AD, Bhudhasamai K, Miscamble BF, Wheeler KA, Tanboon-Ek P (1993). The normal mycoflora of commodities from Thailand. 1. Nuts and oilseeds. *Int J Food Microbiol*, 20: 211-26.

Proctor RH, Brown DW, Plattner RD, Desjardins AE (2003). Co-expression of 15 contiguous genes delineates a fumonisin biosynthetic gene cluster in *Gibberella moniliformis*. *Fungal Genet Biol*, 38(2):237-49.

Reyes-Escobedo FR, Reyes-Velázquez WP, Landeros-Ramírez P, Figueroa-Gómez RM, Rojo F (2006). Contaminación por *Fusarium* en maíz almacenado en la ciudad de Zacatecas y efecto del proceso de nixtamalización sobre fumonisinas e hidrolizados. XVII Semana de la investigación científica en el

---

CUCBA. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad de Guadalajara.

Riley RT, Enongene E, Voss KA, Norred WP, Meredith FI, Sharma RP, Spitsbergen J, Williams DE, Carlson DB, Merrill AH (2001). Sphingolipid perturbations as mechanisms for fumonisin carcinogenesis. *Environ Health Persp*, 109:301-08.

Robles RR, Murray ED, Paredes-López O (1988). Physicochemical changes of maize starch during the lime-heat treatment for tortilla making. *International J Food Sci Tech*, 23:91-98.

Rodríguez-García ME, Serna Saldívar SO, Sánchez-Sinencio F (2008). Nixtamalización del maíz a la tortilla. Aspectos nutrimentales y toxicológicos. En: Serie Ingeniería. 1ª. Ed. Universidad Autónoma de Querétaro.

Rodríguez-García ME, Yáñez-Limón JM, Alvarado-Gil JJ, Vargas H, Sánchez-Sinencio F, Figueroa-Cárdenas JD, Martínez Bustos F, Martínez-Montes JL, González-Hernández J, Silva MD, Miranda LCM (1996). Influence of the structural changes during alkaline cooking on thermal, rheological, and dielectric properties of corn tortillas. *Cereal Chem*, 73:593-600.

Salmerón-Alcocer A, Rodríguez-Mendoza N, Pineda-Santiago V, Cristiani-Urbina E, Juárez-Ramírez C, Ruíz-Ordaz N, Galíndez-Mayer J (2003). Aerobic treatment of maize-processing wastewater (nejayote) in single-stream multi-stage reactor. *J Environ Eng Sci*, 2:401-06.

Sanchis V, Abadias M, Oncins L, Sala N, Viñas I, Canela R (1995). Fumonisin B1 and B2 and toxigenic *Fusarium* strains in feeds from the Spanish market. *Int J Food Microbiol*, 27:37-44.

Sanchis V, Marin S, Ramos AJ (2000). Control de micotoxinas emergentes. Situación legislativa actual. *Revista Iberoamericana de Micología* 17:S69-S75.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM (SAS). 1998. Introductory guide for personal computers. 6.12 Edition, Cary, NC, USA, SAS Institute.

Scott PM, Trenholm HL, Sutton MD (1985). Mycotoxins: a Canadian perspective. Ottawa. National Research Council of Canada, Ottawa.

Scott PM, Lawrence GA (1994). Stability and problems in recovery of fumonisin added to corn-based foods. *J AOC, Int* 77:541-45.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo rural Pesca y Alimentación-Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SAGARPA-SIAP) (2012). Disponible:[http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com\\_content&view=article&id=10&Itemid=15](http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=10&Itemid=15). Consulta web: Diciembre 2012.

Secretaría de Economía (SE) (2012). Análisis de la cadena de valor maíz-tortilla: Situación actual y factores de competencia local. [http://www.economia.gob.mx/files/comunidad\\_negocios/industria\\_comercio/info](http://www.economia.gob.mx/files/comunidad_negocios/industria_comercio/info)

---

---

rmacionSectorial/20120411\_analisis\_cadena\_valor\_maiz-tortilla.pdf. Consulta web: Junio 2012.

Seefelder W, Knecht A, Humph H (2003). Bound fumonisin B1: analysis of fumonisin-B1 glyco and amino acid conjugates by liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry. *J Agric Food Chem*, 51: 5567-73.

Serna-Saldívar SO, Gómez MH, Rooney LW (1990). Technology, chemistry and nutritional value of alkaline cooked corn products. Vol X of Advances in Cereal Science and Technology. AACC. St. Paul, MN.

Serna-Saldívar SO (1996). Química, Almacenamiento e Industrialización de los Cereales. AGT Editor S.A. México D.F.

Tanaka T, Hasegawa A, Yamamoto S, Lee US, Sugiura Y, Ueno Y (1988). Worldwide contamination of cereals by the Fusarium mycotoxins nivalenol, deoxynivalenol, and zearalenone. 1. Survey of 19 countries. *J Agric Food Chem*, 36: 979-83.

Theumer MG, López AG, Masih DT, Chulze SN, Rubinstein HR (2002). Immunobiological effects of fumonisin B1 in experimental subchronic mycotoxicoses in rats. *Clin Diagn Laboimmun* 9:149-55.

Ueno Y, Iijima K, Wang SD, Sugiura Y, Sekijima M, Tanaka T, Chen C, Yu SZ. (1997). Fumonisin as a possible contributory risk factor for primary liver cancer: a 3- year study of corn harvested in Haimen, China, by HPLC and ELISA. *Food Chem Toxicol* 35:1143-50.

United States Department of Agriculture (USDA) (2000). Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies microwave and radiofrequency processing. Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/SafePracticesforFoodProcesses/ucm100250.htm>. Consulta web: marzo 2012.

Valderrama-Bravo MC, Gutiérrez-Cortez E, Contreras-Padilla M, Rojas-Molina I, Mosquera JC, Rojas-Molina A, Beristain F, Rodríguez-García ME (2012). Constant pressure filtration of lime water (nejayote) used to cook kernels in maize processing. *J Food Eng* 110:478-86.

Vázquez-Carrillo, Ávila-Urbe Graciela, Hernández-Montes Arturo, Castillo-Merino Jorge, Angulo-Guerrero Ofelia (2011). Evaluación sensorial de tortillas de maíz recién empacadas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 2:161-67.

Velasco-Martínez M, Angulo O, Vázquez-Couturier DL, Arroyo-Lara A, Monroy-Rivera JA (1997). Effect of dried solids of nejayote on boiler growth. *Poult Sci* 76:1531-34.

---

Voss KA, Poling SM, Meredith FI, Bacon CW, Saunders DS (2001). Fate of fumonisin during the production of fried tortilla chips. *J Agric Food Chem*, 49:3120-26.

Voss KA, Smith GW, Haschek WM (2007). Fumonisin: Toxicokinetics, mechanism of action and toxicity. *Anim Feed Sci Tech*, 137:299-325.

Wan Norhasima WM, Abdulamir AS, Abu Bakar F, Son R, Norhafniza A (2009). The health and toxic adverse effects of Fusarium fungal mycotoxin, fumonisins, on human population. *Am J Infect Dis*, 5:273-81.

Wang LD, Yang HH, Fan ZM, Lu XD, Wang JK, Liu XL (2005). Cytological screening and 15 years follow-up (1986-2001) for early esophageal squamous cell carcinoma and precancerous lesions in a high-risk population in Anyang County, Henan Province, Northern China. *Cancer Detect Prev*, 29:317-22.

Wang S, Quan Y, Lee N, Kennedy IR (2006). Rapid determination of fumonisin B1 in food samples by enzyme-linked immunosorbent assay and colloidal gold immunoassay. *J Agric Food Chem*, 54:2491-95.

Waskiewickz A, Beszterda M, Golinski P (2012). Occurrence of fumonisins in food-An interdisciplinary approach to the problem. *Food Control* 26:491-99.

Wilkes HG (1979). Mexico and Central America as a centre for the origin of agriculture and the evolution of maize. *J Crop Improv*, 6:1-18.

Yáñez-Ortega Y (2005). Nixtamalización por extrusión de las fracciones del grano de maíz para la obtención de harinas instantáneas. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. México.

Yoshizawa T, Yamashita A, Luo Y (1994). Fumonisin occurrence in corn from high- and low-risk areas for human esophageal cancer in China. *Appl Environ Microb*, 60:1626-29.

Zhang H, Nagashima H, Goto T (1997). Natural occurrence of mycotoxins in corn, samples from high and low risk areas for human esophageal cancer in China. *Mycotoxins*, 44:29-35.

Zheng MZ, Richard JL, Binder J (2006). A review of rapid methods for the analysis of mycotoxins. *Mycopathologia*, 161:261-73.

---

# ANEXO



## Efficacy of Microwave-Heating during Alkaline Processing of Fumonisin-Contaminated Maize

\*Abraham MENDEZ-ALBORES<sup>1</sup>, Denisse Anelem CARDENAS-RODRIGUEZ<sup>1</sup>, Alma VAZQUEZ-DURAN<sup>2</sup>

1. Dept. of Mycotoxicology, Superior Studies Department at Cuautitlan, National Autonomous University of Mexico, State of Mexico, Mexico
2. Dept. of Food Science and Technology, Agronomy Department, Autonomous University of Nuevo Leon, Nuevo Leon, Mexico

\*Corresponding Author: Email: albores@unam.mx

(Received 10 Sep 2013; accepted 12 Jan 2014)

### Abstract

**Background:** Fumonisin (a family of foodborne carcinogenic mycotoxins) cause health hazards to humans and animals in developing countries, and has also economic implications. Therefore, the efficacy of a novel environmental friendly nixtamalization procedure to make tortillas (the main staple food for the Mexican population) was investigated.

**Methods:** Maize contaminated with 2136.67 ng/g total fumonisins was processed into tortillas, starting with maize grits mixed with water and calcium hydroxide that was cooked in a microwave field at 2.45 GHz during 3.75 min, and steeped 3.5 h at room temperature. The steeped maize grits (nixtamal) was stone-ground into masa (maize dough), which was then used to make tortillas. Total fumonisin content was determined using monoclonal antibody columns.

**Results:** Masa contained 1998.33 ng/g total fumonisins, which represents 6.5% toxin reduction. Nevertheless, fumonisin concentration was reduced significantly in tortillas (up to 985.33 ng/g) due to the cooking process, corresponding to a cumulative toxin degradation of 54%. Tortillas were below the maximum tolerated level, considering the European Union regulatory limit for fumonisins in maize (1000 ng/g). The physicochemical and technological properties of tortillas were also considered within the acceptable margins of quality.

**Conclusion:** Microwave nixtamalization was not a feasible method to reduce fumonisin content in masa to acceptable levels; however, an effective extra-reduction occurred when masa was baking into tortillas.

**Keywords:** Maize, *Fusarium verticillioides*, Fumonisin, Microwave nixtamalization, Tortillas

### Introduction

Grains such as maize are invaded by fungi during their development in the field, as well as during their transport and storage. Therefore, one of the factors affecting the quality of maize-based food is mycotoxin contamination caused by the grain invasion of certain species of fungi, among them *Fusarium verticillioides*. *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (formerly *F. moniliforme* Sheldon), *F. proliferatum*, and other *Fusarium* species are fungi capable

of producing fumonisins B1, B2, and B3 (1). The most common homologue -FB1- causes leukoencephalomalacia in horses (2), pulmonary edema in swine (3), hepato- and nephrotoxicity in multiple species (4), and is a liver and kidney carcinogen in rodents (5). A higher incidence of human esophageal squamous cell carcinoma has also been linked epidemiologically with consumption of fumonisin-contaminated maize (6). The Inter-

national Agency for Research on Cancer classified the fumonisins as Group 2B carcinogens -a possible carcinogen to humans- (7).

FB1 is the most abundant of the fumonisin family and usually accounts for 70-95% of the total toxin content found in maize grains. FB1 with empirical formula  $C_{34}H_{59}NO_{15}$  and molecular weight of 721 g/mol, is the diester of propane- 1,2,3-tricarboxylic acid and 2-amino-12,16-dimethyl-3,5,10,14,15-pentahydroxyicosane (Fig. 1). In commercial food-grade maize the "possible" total fumonisin content usually might be at concentration range 100-3500 ng/g (8). The European Union (EU) has established regulatory limits of fumonisins in foodstuffs, based on the sum of FB1+FB2; with a maximum level of 1000 ng/g for maize used for human consumption (9). However, the recommended maximum level for total fumonisins that FDA considers is 4000 ng/g for maize intended for masa (maize dough) production (10).

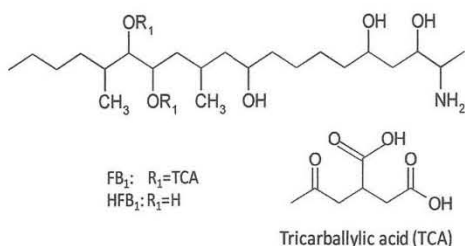


Fig. 1: Chemical structures of fumonisin B1 (FB1) and hydrolyzed fumonisin B1 (HFB1)

Given the growing food safety concerns regarding fumonisins in Mexico, it is important to understand what happens to these compounds when maize is processed. In Mexico, maize is primarily consumed as tortillas, with a *per capita* consumption of about 120 kg/year, which are traditionally made using the ancient alkaline-cooking process called nixtamalization. The traditional nixtamalization consists of the cooking of the grain in abundant water (up to 3 L/kg of maize), with 1-3%  $Ca(OH)_2$  at temperatures near boiling for 35-70 min, with a steeping period of 8-16 h. After the steeping, the lime cooking solution is decanted, and the grain is thoroughly washed to leave the

grain ready for stone-milling to obtain the masa for making the tortillas. Traditional nixtamalization, though centuries old, is still used without modification. While this process implemented on a small scale did not present serious problems, it has become the cause of ecological problems on a grand scale due to the generation of large quantities of washing water. The estimated amount of lime cooking solution generated in Mexico is about 14 million  $m^3$ /yr. Recently, a modified tortilla-making process has been developed, in which maize grits are mixed with water and lime, cooked in a microwave field, steeped, and then milled to obtain fresh masa for the tortilla making. In this process, microwave cooking offers multiple advantages including: reduced start-up time, faster heating, energy efficiency, space savings, precise process control, selective heating, reduction of water use, and food with a high nutritional quality (11). Cooking, sterilization, pasteurization, disinfection, drying, blanching, and thawing are some of the applications of microwave energy in the food industry. However, the use of this type of energy for the production of tortillas elaborated with fumonisin-contaminated maize has not been evaluated.

In Mexico, one of the problems experienced by the tortilla industry in relation to quality is fumonisin contamination of maize, either as field contamination or as a result of poor postharvest management. Traditional nixtamalization reduces up to 80% of the contamination (12-14). Therefore, it is considered crucial to evaluate the effect that the microwave nixtamalization could have on the fate of fumonisins, since this process substantially differs from the traditional process when using maize contaminated with a moderate contamination level of total fumonisins (FB1+FB2).

In this study, this alternative technology was selected in order to explore the effect of other not complex heating systems to suggest alternative methods that have no greater deviation from the traditionally established nixtamalization process for reduction of fumonisin hazards in maize in an attempt to validate current practical and economical decontamination procedures.

## Materials and Methods

### Maize grain

Regular maize of the commercial hybrid AS-900 (Aspros, Mexico) with 10.7% moisture content (MC) was utilized. This material has a thousand-kernel weight and test weight of  $283.40 \pm 3.64$  g and  $71.59 \pm 1.23$  kg/hL, respectively. MC was determined by drying replicate portions of 5-10 g each of whole grain at 103°C for 72 h, with percentages calculated on a wet-weight basis.

### Fungal isolate

*F. verticillioides* strain UNIGRAS-2509 (Culture Collection of the Grain and Seed Research Unit of the National Autonomous University of Mexico) was plated into Petri dishes containing potato-dextrose-agar medium (BD Bioxon, Becton Dickinson, Mexico) for 7 d at 28°C. This strain mainly produces FB1 and FB2.

### Fungal inoculation technique

To inoculate the grain, fungal spores were removed from the Petri dishes with a spatula; a sterile-water spore suspension (1.4 L) was prepared with approximately 100,000 conidia/ml, and this suspension was used to rise the MC of the grain. The total amount of maize to be inoculated was 15 kg (5 kg per replicate). The MC of the maize was adjusted to 18% and stored in plastic bottles, which were covered with thin polyethylene film to minimize the loss of humidity from the grain. However, 10 perforations with a pin were made to each film to avoid accumulation of CO<sub>2</sub> generated by the respiration of grains and fungi. The bottles were incubated at 28°C during 21 d. This incubation period was chosen in order to obtain a fumonisin concentration similar to those reported in maize intended for human consumption in Mexico (15). After the incubation, the grain was put under a 1000 mg/L ethylene oxide gas atmosphere for 5 h, to stop further development of the toxigenic fungus and to avoid the dispersal of viable spores (16). Finally, the grain was dried to approximately 12% MC, transferred to plastic bags and stored at 4°C for further analysis.

### Fumonisin quantification

Total fumonisin content was determined using monoclonal antibody columns for fumonisins (VICAM, Milford, MA). Samples (50 g) were extracted by blending with 100 mL methanol-water (80:20 v/v) and 5 g of sodium chloride using a laboratory blender (Mod. 51BL30; Waring, New Hartford, CT, USA). The mixture was filtered through a Whatman No. 1 filter paper and 10 mL portion was diluted with 40 mL of phosphate-buffered saline (PBS)/0.1% Tween-20 wash buffer and filtered through a 1.0 µm microfibre filter, then 10 mL were applied to an immunoaffinity column (FumoniTest; VICAM Science Technology, Watertown, MA, USA). Subsequently, the column was washed with 10 mL of PBS/0.1% Tween-20 wash buffer followed by 10 mL of PBS. The toxins were then eluted with 1 mL of HPLC-methanol and quantified in a fluorometer VICAM Series-4 (VICAM Source Scientific, Irvine, CA) after reaction with 1 mL of a mixture of developer "A" (966 µL) and developer "B" (34 µL). Fumonisins detection limit with the immunoaffinity column via fluorescence measurement is approximately 16 ng/g. When the total fumonisin concentration was greater than 250 ng/g, dilutions from the extracts were made before passed through the immunoaffinity column.

### Microwave nixtamalization

Nixtamalization was performed using the procedure described by Pérez-Flores et al. (17) with minor modifications. Briefly, 1000 g fumonisin-contaminated maize sample (of each replicate) was milled in a hammer mill (Glen Mills Inc. sieve 5 mm. Clifton, NJ). The water/maize input ratio was 1:1 (w/w), and the calcium content of the suspension was 5 g of Ca(OH)<sub>2</sub> per kg of maize. The mixture was cooked in a microwave-resistant plastic container, and the cooking stage was carried out in a commercial microwave oven (LG Electronics Inc, model MS047GR, Korea), with an average cooking power of 100% during 3.75 min. The power output of the magnetron specified by the manufacturer was 1650 W and the operating frequency was 2.45 GHz. The alkali-cooked grain (nixtamal) was steeped 3.5 h at room

temperature (25°C) before milling (FUMASA, Model MN-400, Mexico) to provide a masa with a MC of about 57%.

#### *Tortilla elaboration*

Masa was flattened into thin disks of 12.5 cm diameter, 1.2 mm thickness, and 28 g weight, using a commercial tortilla roll machine (Model TM-G, Casa Gonzalez, Monterrey, NL). Tortillas were baked 17 s on one side (first side), 55 s on the other side, and again 17 s on the first side on a griddle at  $270 \pm 5^\circ\text{C}$ . The temperature was measured with a non-contact portable infrared thermometer Fluke-572 (Fluke, Melrose, MA, USA). Finally, masa (500 g), and tortillas from each treatment ( $n = 20$ ) were oven-dried at  $40^\circ\text{C}$  for 48 h, milled and stored at  $4^\circ\text{C}$  in polyethylene bags for fumonisin analysis.

#### *Physicochemical properties*

##### *pH*

The pH was determined according to the 943.02 AOAC method (18). 10 g of sample were suspended in 100 ml of recently boiled distilled water. The suspension was shaken (1500 rpm,  $25^\circ\text{C}$ , 30 min) using an orbital shaker (Cole Parmer Model 21704-10, Vernon Hills, IL, USA). After 10 min, the supernatant liquid was decanted and the pH value was immediately determined using a pH meter, Model PC45 (Conductronic S.A., Puebla, Mexico).

##### *Color*

Tortillas were subjected to surface-color analysis with a MiniScan XE model 45/0-L colorimeter (Hunter Associates Laboratory, Reston, VA, USA). The colorimeter was calibrated with a white porcelain plaque ( $L = 97.02$ ,  $a = 0.13$ ,  $b = 1.77$ ). Readings were made in triplicate at four positions at  $90^\circ$  with respect to each other. Two derived functions ( $\Delta E$  and chroma) were computed from the  $L$ ,  $a$ , and  $b$  readings as follows:

$$\Delta E = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{1/2}$$

$$\text{Chroma} = (a^2 + b^2)^{1/2}$$

#### *Quality properties of tortillas*

##### *Puffing degree*

Tortilla puffing was evaluated subjectively by using scores of 1-3, where: 1 = little or no puffing

(0-25%), 2 = medium puffing (25-75%), and 3 = complete puffing (75-100%).

##### *Rollability*

Rollability was evaluated by rolling a tortilla over a 1 cm diameter tube, quantifying the extent of breaking using a scale of 1-3, where: 1 = tortillas with no breaking; 2 = a partial breaking at the center and edges of the tortilla; and 3 = completely flattened tortillas.

##### *Weight loss of tortilla during cooking*

The weight loss (WL) of tortilla was determined by weighing the tortilla before and after cooking, value was reported as percentage (w/w) and computed as:

$$\text{WL} = [(W_a - W_b)/W_a] \times 100$$

Where:

$W_a$ ,  $W_b$  = weight of tortilla before and after cooking, respectively.

##### *Statistical analysis*

The experiment was conducted as a completely randomized design with three replicates. Data was assessed by analysis of variance (ANOVA) and means comparisons were performed according to the Tukey test using the Statistical Analysis System (19). A significance value of  $\alpha = 0.05$  was used to distinguish significant differences.

## *Results*

Table 1 shows some physicochemical properties of the fumonisin-contaminated maize and nixtamalized products. MC values of the inoculated maize were quite similar for the three experimental replicates, presenting an average value of  $12.43 \pm 0.05\%$ . In the case of masa and tortillas, MC values were  $57.38 \pm 0.11\%$  and  $49.61 \pm 0.21\%$ , respectively. Regarding the pH, maize presented an average pH value of 6.45; however, pH values were slightly higher for masa and tortillas due to the calcium hydroxide incorporation during microwave-nixtamalization, presenting average values of 8.13 and 8.28, respectively (Table 1).

Table 1: Some physicochemical properties of maize and microwave-nixtamalized products

| Sample   | Replicate                  | MC* (%)          | pH               |
|----------|----------------------------|------------------|------------------|
| Maize    | R1                         | 12.34            | 6.45             |
|          | R2                         | 12.53            | 6.46             |
|          | R3                         | 12.43            | 6.45             |
|          | Mean $\pm$ SE <sup>†</sup> | 12.43 $\pm$ 0.05 | 6.45 $\pm$ 0.003 |
| Masa     | R1                         | 57.58            | 8.14             |
|          | R2                         | 57.36            | 8.12             |
|          | R3                         | 57.19            | 8.14             |
|          | Mean $\pm$ SE              | 57.38 $\pm$ 0.11 | 8.13 $\pm$ 0.006 |
| Tortilla | R1                         | 49.20            | 8.29             |
|          | R2                         | 49.89            | 8.28             |
|          | R3                         | 49.74            | 8.28             |
|          | Mean $\pm$ SE              | 49.61 $\pm$ 0.21 | 8.28 $\pm$ 0.003 |

\* MC, moisture content/ <sup>†</sup> SE, standard error

Table 2 shows the surface-color analysis of maize and tortillas produced by microwave nixtamalization. In the case of luminosity (L), the maize grain presented higher values ( $97.13 \pm 0.91$ ) as compared to tortillas, which presented an average value of  $74.18 \pm 0.35$ . The same trend was observed in the case of chroma, attaining values of  $8.07 \pm 0.34$  and  $5.46 \pm 0.27$ , for maize and tortillas, respectively. On the other hand, the total color difference ( $\Delta E$ ) value, significantly increased in tortillas reaching values up to  $23.38 \pm 0.29$  (Table 2).

Some technological properties of tortillas are presented in Table 3. Tortillas produced with the three replicates showed similar puffing degree, with a subjective value of 3, which means that all tortillas had a complete puffing (75-100%). Moreover, all tortillas presented a good rollability, with a value close to 1, defined as no breaking; therefore, tortillas were also considered within the acceptable margins of quality, presenting a soft texture and rolled without breaking. Table 3 also shows the loss of weight during tortilla baking. Tortillas from the three replicates had a similar loss of weight average value ( $17.20 \pm 0.09\%$  w/w). Concentrations of total fumonisins were quantified in the maize used during microwave nixtamalization, as shown in Fig. 2. The three inoculated maize replicates presented an average fumonisin content of  $2136.67 \pm 59.92$  ng/g. Fig. 2 also shows the

fumonisin content in the products obtained during microwave nixtamalization. Results indicated that microwave nixtamalization has no significant effect on the fumonisin reduction.

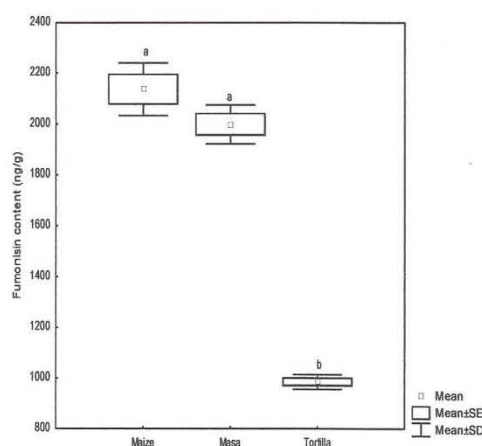


Fig. 2: Total fumonisins content (ng/g) in maize and microwave-nixtamalized products

Consequently, masa presented an average fumonisin content of  $1998.33 \pm 44.17$  ng/g, corresponding to a 6.5% toxin degradation; thus, statistical differences were not observed compared to the contaminated-maize grain. However, tortilla presented a fumonisin concentration of  $985.33 \pm 16.91$  ng/g, corresponding to a cumulative reduction of 54% (Fig. 2).

Table 2: Surface-color analysis of maize and tortillas produced by microwave nixtamalization

| Sample   | Replicate                  | Color parameter  |                 |                  |                  | Chroma          |
|----------|----------------------------|------------------|-----------------|------------------|------------------|-----------------|
|          |                            | L                | a               | b                | $\Delta E^*$     |                 |
| Maize    | R1                         | 98.87            | 1.86            | -7.91            | 10.01            | 8.13            |
|          | R2                         | 95.78            | 1.78            | -7.24            | 9.24             | 7.46            |
|          | R3                         | 96.75            | 1.34            | -8.53            | 10.37            | 8.63            |
|          | Mean $\pm$ SE <sup>†</sup> | 97.13 $\pm$ 0.91 | 1.66 $\pm$ 0.16 | -7.89 $\pm$ 0.37 | 9.87 $\pm$ 0.33  | 8.07 $\pm$ 0.34 |
| Tortilla | R1                         | 74.48            | 5.54            | 2.06             | 23.18            | 5.91            |
|          | R2                         | 73.49            | 4.42            | 3.23             | 23.96            | 5.47            |
|          | R3                         | 74.58            | 4.97            | 0.45             | 22.99            | 4.99            |
|          | Mean $\pm$ SE              | 74.18 $\pm$ 0.35 | 4.98 $\pm$ 0.32 | 1.91 $\pm$ 0.81  | 23.38 $\pm$ 0.29 | 5.46 $\pm$ 0.27 |

\*  $\Delta E$ , total color difference./ <sup>†</sup> SE, standard error.

Table 3: Technological properties of tortillas produced by microwave-nixtamalization

| Sample   | Replicate                  | Property |                          |                  |
|----------|----------------------------|----------|--------------------------|------------------|
|          |                            | Puffing* | Rollability <sup>†</sup> | Weight loss (%)  |
| Tortilla | R1                         | 3        | 1                        | 17.11            |
|          | R2                         | 3        | 1                        | 17.12            |
|          | R3                         | 3        | 1                        | 17.38            |
|          | Mean $\pm$ SE <sup>‡</sup> |          |                          | 17.20 $\pm$ 0.09 |

\* Puffing degree, 1 = little or no puffing (0-25%), 2 = medium puffing (25-75%), and 3 = complete puffing (75-100%)./<sup>†</sup> Rollability, 1 = tortillas with no breaking; 2 = a partial breaking at the center and edges of the tortilla; and 3 = completely flattened tortillas./ <sup>‡</sup> SE, standard error.

## Discussion

In the present study, the physicochemical properties of masa and tortillas were similar than those reported previously during microwave-nixtamalization of aflatoxin-contaminated maize (17) and traditional nixtamalization (20). Masa had higher MC values than tortillas, because masa lost MC during the tortilla baking process. Besides, the pH values of the products made with microwave-nixtamalization were similar to those reported previously (11, 17). Méndez-Albores et al. (16) reported a pH value of 8.33 for maize tortillas produced with the Mexican traditional nixtamalization using 3% (w/w) lime. These results are in close agreement with those obtained in this research when using 0.5% (w/w) lime concentration. In nixtamalized products, lime content represents an important factor in color, odor, shelf life, and texture characteristics. When the lime content is not sufficient to produce the characteristic alkaline flavor, tortillas are non preferred by consumers.

Likewise, if this compound is in excess, tortillas become astringent and are also rejected for consumption.

In general, tortilla color was affected by the addition of the  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , consequently tortillas presented a yellowish color, as shown by the  $\Delta E$  and chroma values. Méndez-Albores et al. (11) reported Hunter L and  $\Delta E$  values of 75.34 and 25.81 for tortillas produced with MASECA® (a commercial nixtamalized maize flour). The same authors reported values of 70.62 and 29.88 for Hunter L and  $\Delta E$  of tortillas produced by microwave-nixtamalization using 0.125% (w/w) lime. Cuevas-Martínez et al. (20) stated that maize tortillas produced with traditional nixtamalization using 1.5% lime solution presented Hunter L values of 71.19. These color results are in close agreement with those obtained in this research. Changes in the color of tortillas are directly attributed to the amount of lime retained during the cooking of the nixtamal. Lime content affects the tortilla color

even when tortillas are produced from white maize grains, and the color intensity is closely related to carotenoid pigments, flavonoids, and pH. However, the development of color during the alkaline-cooking process is more complex, considering that the  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  reacts with the different pigments found in the grain and interferes with browning reactions such as caramelization and Maillard reactions (21).

Regarding the technological properties (rollability, puffing degree, and weight loss during cooking), all tortillas evaluated presented similar characteristics to those produced during traditional nixtamalization (22). A good puffing is obtained when two layers are formed in the tortilla; these layers, produced during the cooking process, are impermeable, retaining the steam that gives rise to the puffing during heating. Méndez-Albores et al. (11) reported loss of weight values around 18% for tortillas prepared from MASECA, and values around 19% of loss of weight for tortillas from microwave-nixtamalization using 0.5% (w/w) lime. These results are consistent with the values found in this research. The lowest loss of weight the better tortilla quality, due to the fact that MC plays an important role on tortilla yield and texture. In general, tortillas prepared with microwave-nixtamalization were stretchable, elastic, and resistant to rupture and cracking.

Fumonisin content was reduced significantly due to the complete microwave thermal-alkaline process to produce tortillas (up to 54%). The maximum reduction in the mycotoxin content was observed when masa was cooked into tortillas. In this product, the total fumonisin content (985.33 ng/g) was below the maximum limit allowed in EU for fumonisin contamination. Unfortunately, in Mexico there are no regulations established for fumonisin levels in maize and maize-based products destined for human consumption. It is well known that baking had a moderate effect on fumonisin content in the masa, a finding that is in agreement with the reported heat stability of these molecules (23). Consequently, thermal-alkaline conditions used during microwave-nixtamalization were not sufficient for fumonisin degradation at "safe" levels, so that a residual content of toxins

always remains in the tortillas. Conditions normally found in the processing of tortillas with the traditional nixtamalization process are also not adequate to completely detoxify fumonisin-contaminated maize. Consequently, several researchers pointed out that traditional nixtamalization degrade up to 80% of the initial fumonisin concentration (12-14). In relation to the previously cited fumonisin reductions, it can be said that degradation of fumonisin-contaminated maize varies considerably, depending on the nixtamalization parameters, such as: cooking time-temperature-method, lime concentration, steeping time, as well as the initial toxin concentration in the maize. It is important to note that masa MC and cooking temperature/time for baking tortillas are also factors contributing to a greater extent toward obtaining higher cumulative degradation rates.

In the case of the traditional nixtamalization, solids are lost in the lime cooking solution, and they go into the wastewater. These solids contain mainly tip-cap, pericarp, and germ; consequently, toxins present in these anatomic parts of the grain are removed and extracted to the washing water. Thus, physical removal of the toxins is a crucial step for toxin reduction during traditional nixtamalization. In the present research, no solids were lost during nixtamalization (since microwave-nixtamalization does not produce polluting effluents), and within the 3.75 minutes of nixtamalization in the microwave field plus approximately 1.5 min of cooking of the masa to produce tortillas, a considerable fumonisin degradation rate (54%) was attained.

Fumonisin B1 (FB1) is characterized by the presence of two tricarballic acid groups esterified to a 20-carbon backbone (Fig. 1). It is relatively heat stable and remains through most of the conditions used in food processing. However, alkaline hydrolysis of FB1 -during nixtamalization- cleaves the tricarballic side chains at  $\text{C}_{14}$  and  $\text{C}_{15}$  of the molecule to produce hydrolyzed fumonisin B1 (HFB1), as schematized in Fig. 1. FB1 has been shown to disrupt ceramide synthase, an enzyme necessary for sphingolipid metabolism (24). Consequently, hydrolysis of one or both propane-1,2,3-tricarboxylic acid side chains from the molecule diminished this effect. Hydrolysis is likely

important because hydrolyzed FB1 was significantly less toxic than FB1 when given to rats (25). These results suggest that the side chains play an important role in the effects of FB1, but that the presence of an intact primary amine is necessary for toxicity.

## Conclusion

The novel process from which raw maize grits are made into tortillas reduces the level of total fumonisins to some degree. Consequently, the use of this environmental friendly process is recommended, when high quality maize is used, as it has definite several advantages. More research, however, pertaining to the possible effect of this modified tortilla-making process on the toxicity and mutagenic/carcinogenic activity of alkali-treated fumonisin sub-products, needs to be conducted.

## Ethical considerations

Ethical issues (Including plagiarism, Informed Consent, misconduct, data fabrication and/or falsification, double publication and/or submission, redundancy, etc.) have been completely observed by the authors.

## Acknowledgements

The authors are grateful to UNAM for the financial support for this research through the PACIVE grant CONS-11. The authors declare that there is no conflict of interests.

## References

1. Nelson PE, Desjardins AE, Plattner RD (1993). Fumonisins, mycotoxins produced by *Fusarium* species: biology, chemistry and significance. *Annu Rev Phytopathol*, 31: 233-52.
2. Kellerman TS, Marasas WFO, Thiel PG, Gelderblom WCA, Cawood M, Coetzee JAW (1990). Leukoencephalomalacia in two horses induced by oral dosing of fumonisin B1. *Onderstepoort J Vet Res*, 57(4): 269-75.
3. Harrison LR, Colvin BM, Greene JT, Newman LE, Cole JR (1990). Pulmonary edema and hydrothorax in swine produced by fumonisin B1, a toxic metabolite of *Fusarium moniliforme*. *J Vet Diagn Invest*, 2(3): 217-21.
4. Gelderblom WCA, Jaskiewicz K, Marasas WFO, Thiel PG, Horak RM, Vleggaar R, Kriek NPJ (1988). Fumonisins-novel mycotoxins with cancer promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Appl Environ Microbiol*, 54(7): 1806-11.
5. Howard PC, Eppley RM, Stack ME, Warbritton AW, Voss KA, Lorentzen RJ, Kovach R, Bucchi TJ (1999). Carcinogenicity of fumonisin B1 in a two-year bioassay with Fischer 344 rats and B6C3F1 mice. *Mycotoxins*, 99: 45-54.
6. Chu FS, Li GY (1994). Simultaneous occurrence of fumonisin B1 and other mycotoxins in moldy corn collected from the People's Republic of China in regions with high incidences of esophageal cancer. *Appl Environ Microbiol*, 60(3): 847-52.
7. International Agency For Research On Cancer (IARC) (1993). Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. IARC Monographs. 56: 445-50.
8. Van Der Westhuizen L, Shepard GS, Scussell VM, Costa LLF, Vismer HF, Rheeder JP, Marasas WF (2003). Fumonisin contamination and *Fusarium* incidence in corn from Santa Catarina, Brazil. *J Agric Food Chem*, 51(18): 5574-78.
9. European Commission Regulation (EC) (2007). 2007/1126/EC. Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards *Fusarium* toxins in maize and maize products. *Off J Eur Union*, L255: 14-7.
10. Food and Drug Administration FDA (2001). Guidance for industry fumonisin levels in human foods and animal feeds. Available from: <http://www.fda.gov/Food/GuidanceComplianceRegulatoryInformation>.
11. Méndez-Albores A, Martínez-Morquero RA, Moreno-Martínez E, Vázquez-Durán A (2012). Technological properties of maize tortillas produced by microwave nixtamalization with variable alkalinity. *Afr J Biotechnol*, 11(85): 15178-87.
12. Dombink-Kurtzman MA, Dvorak TJ, Barron ME, Rooney LW (2000). Effect of nixtamalization (alkaline cooking) on fumonisin-

- contaminated corn for production of masa and tortillas. *J Agric Food Chem*, 48(11): 5781-86.
13. Voss KA, Poling SM, Meredith FI, Bacon CW, Saunders DS (2001). Fate of fumonisins during the production of fried tortilla chips. *J Agric Food Chem*, 49(6): 3120-26.
  14. De la Campa R, Miller JD, Hendricks K (2004). Fumonisin in tortillas produced in small-scale facilities and effect of traditional masa production methods on this mycotoxin. *J Agric Food Chem*, 52(14): 4432-37.
  15. Cortez-Rocha MO, Ramirez-Astudillo WR, Sanchez-Martinez RI, Rosas-Burgos EC, Wong-Corral FJ, Borboa-Flores J, Castillon-Campana L, Tequida-Meneses M (2003). Fumonisin and fungal species in corn from Sonora, Mexico. *Bull Environ Contam Toxicol*, 70(4): 668-73.
  16. Méndez-Albores A, Villa GA, Del Río-García JC, Martínez EM (2004). Aflatoxin-detoxification achieved with Mexican Traditional Nixtamalization Process (MTNP) is reversible. *J Sci Food Agric*, 84(12): 1611-14.
  17. Pérez-Flores GC, Moreno-Martínez E, Méndez-Albores A (2011). Effect of microwave heating during alkaline-cooking of aflatoxin contaminated maize. *J Food Sci*, 76(2): 48-52.
  18. Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (2000). Official Methods of Analysis. 17<sup>th</sup> ed, AOAC International, Gaithersburg, MD, USA. Chapter 32, p.12.
  19. Statistical Analysis System (SAS) (1998). Introductory guide for personal computers. 6. 12 ed, Cary, NC, USA, SAS Institute.
  20. Cuevas-Martínez D, Moreno-Ramos C, Martínez-Manrique E, Moreno-Martínez E, Méndez-Albores A (2012). Nutrition and texture evaluation of maize-white common bean nixtamalized tortillas. *Interiencia*, 35(11): 828-32.
  21. Gómez MH, Rooney LW, Waniska RD, Pflugfelder RL (1987). Dry corn masa flours for tortilla and snack production. *Cereal Foods World*, 32: 372-77.
  22. Méndez-Albores JA, Arámbula VG, Vázquez BME, Mendoza EM, Preciado ORE, Moreno-Martínez E (2003). Effect of high moisture maize storage on tortilla quality. *J Food Sci*, 68(5): 1878-81.
  23. Murphy PA, Hendrich S, Hopmans EC, Hauck CC, Lu Z, Buseman G, Munkvold G (1996). Effect of processing on fumonisin content of corn. *Adv Exp Med Biol*, 392: 323-34.
  24. Riley RT, Voss KA, Hwan-Soo Y, Gelderblom WCA, Merrill AH (1994). Mechanism of fumonisin toxicity and carcinogenesis. *J Food Protect*, 57(6): 528-35.
  25. Collins TF, Sprando RL, Black TN, Olejnik N, Eppley RM, Shackelford ME, Howard PC, Rorie JI, Bryant M, Ruggles DI (2006). Effects of aminopentol on *in utero* development in rats. *Food Chem Toxicol*, 44(2): 161-69.