

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS

TEMA DE TESIS

*CAMBIOS FÍSICOS EN PERICARPIO DE MAÍZ DURANTE LA
NIXTAMALIZACIÓN Y SU INFLUENCIA EN LA CINÉTICA DE
DIFUSIÓN DE CALCIO*

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

I. A. Elsa Gutiérrez Cortez

TUTOR: Dr. Mario Enrique Rodríguez García
México D. F. AÑO: 2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

AGRADECIMIENTOS

A la UNAM, por abrirme sus puertas y formarme un espíritu Universitario.

Al CONAYCT, por la beca otorgada para el desarrollo del trabajo.

A la M en C. Leticia Baños del Instituto de Materiales, por el apoyo en las determinaciones de rayos X.

A La Técnica académica Pilar Fernández Lomelín del instituto de Geografía, por su valiosa asesoría y por compartir conmigo su experiencia en las determinaciones de espectroscopia de absorción atómica.

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

A los integrantes del jurado, Al Dr. Ernesto Moreno, Dr. Jorge Vázquez, Dr. Orlando Zelaya, Dr. Juan M. Aceves y A la Dra. Andrea Trejo. Por sus valiosas aportaciones.

Este trabajo se realizó en el laboratorio de Física Aplicada y Tecnología Avanzada (FATA) de la Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Juriquilla. Querétaro, bajo la dirección del Dr. Mario Enrique Rodríguez García.

Cambios físicos en pericarpio de maíz durante la nixtamalización y su influencia en la cinética de difusión de calcio.

ÍNDICE

RESUMEN	Pág. i
ABSTRACT	ii
INTRODUCCIÓN	iii

Capítulo 1

ANTECEDENTES

1.- EL MAIZ Y SUS CARACTERÍSTICAS

1.1 Origen del maíz	1
1.2 Clasificación del maíz	1
1.3 Características del maíz	4
1.4 Estructura del grano de maíz	5
1.4.1 Características de la cofia	5
1.4.2 Características del germen	6
1.4.3 Características del endospermo	7
1.4.4 Características del pericarpio	8
1.4.4.1 Lignina	10
1.4.4.2 Celulosa	10
1.4.4.3 Hemicelulosa	11
1.5 Proceso de nixtamalización	11
1.6 Descripción del proceso tecnológico de elaboración de harinas de maíz	13
1.7 Cambios físicos y químicos durante la nixtamalización	15
1.8 Difusión de calcio en grano de maíz durante la nixtamalización	20

Capítulo 2

1.-OBJETIVO GENERAL	23
OBJETIVOS PARTICULARES	23

METODOLOGIA

2.- DESARROLLO EXPERIMENTAL	24
ETAPA1 –Actividades preliminares	
2.1 Caracterización de la materia prima	
2.1.1 Análisis Físico	26
2.1.1.1 Peso promedio	26
2.1.1.2 Porcentaje de pericarpio	26
2.1.1.3 Dimensiones del grano	27
2.1.1.4 Espesor del pericarpio	27
2.1.1.5 Cristalinidad del pericarpio	28
2.1.2 Análisis Químico	28
2.1.2.1 Humedad	28
2.1.2.2 Calcio endógeno	28
2.2 Caracterización y acondicionamiento del equipo	29
2.2.1 Validación de termopares	29
2.2.2 Construcción del reservorio de cocción	29
2.2.3 Caracterización térmica del reservorio de cocción	30
2.2.4 Instalación de la computadora, programa y termopares	31
2.2.5 Determinación del tiempo de cocción para las temperaturas 92, 82 y 72 ° C	31
2.2.6 Experimento piloto	32
2.2.7 Selección de niveles de variables independientes	33
2.2.8 Caracterización de equipos	34
2.2.9 Establecimiento de condiciones de trabajo	35
ETAPA 2 Acondicionamiento de las muestras	
2.3 Descripción de la preparación de las muestras	
2.3.1 Preparación de unidades experimentales	36
2.3.2 Historias térmicas de cocimiento y reposo	38
2.3.3 Separación manual del pericarpio	38
2.3.4 Elaboración de harinas	38
2.3.5 Secado de muestras	38
2.3.6 Molienda y tamizado de muestras	38

ETAPA 3 Evaluación de las muestras

2.4 Descripción de Actividades por objetivo	
2.4.1 Actividades para determinación de calcio	39
2.4.2 Actividades para observar degradación del pericarpio	41
2.4.3 Actividades para obtener cambios “ <i>in situ</i> ”	42
2.4.4 Actividades para variación de la cristalinidad	45

Capítulo 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3 ANÁLISIS DE RESULTADOS

3.1 Resultados de la caracterización de la materia prima	
3.1.1 Análisis físico	47
3.1.2 Análisis químico	53
3.2 Caracterización y acondicionamiento del equipo	54
3.2.1 Validación de termopares	54
3.2.2 Construcción del reservorio de cocción	55
3.2.3 Caracterización térmica del reservorio	55
3.2.4 Instalación de la computadora, programa y termopares	56
3.2.5 Determinación del tiempo de cocción para cada temperatura	56
3.2.6 Experimento piloto	59
3.2.7 Establecimiento de las condiciones de trabajo durante la experimentación	59
3.3 Preparación de las muestras	
3.3.1 Preparación de unidades experimentales	60
3.3.2 Las historias térmicas	60
3.3.3 Separación manual del pericarpio	63
3.3.4 Elaboración de harinas de maíz nixtamalizado	63
3.3.5 Secado de las muestras	63
3.3.6 Molienda y tamizado de muestras	63

RESULTADOS Y DISCUSIÓN POR OBJETIVO

3.4 Resultados del objetivo particular 1	65
3.4.1 Contenido de calcio residual en grano total nixtamalizado	65
3.4.2 Contenido de calcio residual en pericarpios nixtamalizados	69
3.5 Resultados del objetivo particular 2	71
3.5.1 Cambios físicos es pericarpio	71
3.5.2 Efecto del tratamiento térmico (etapa de cocción)	72
3.5.3 Efecto del tratamiento térmico-alkalino (etapa de cocción)	73
3.5.4 Efecto del tratamiento térmico-alkalino (etapa de cocción y reposo)	74
3.5.5 Calcio en pericarpio residual	87
3.6 Resultados para el objetivo particular 3	89
3.6.1 Resultados obtenidos en la celda fotoacústica diferencial	89
3.7 Resultados para el objetivo particular 4	92
3.7.1 Difracción de rayos X para pericarpios con tratamiento térmico (sin calcio)	92
3.7.2 Difracción de rayos X para pericarpios con tratamiento térmico-alkalino	92

CONCLUSIONES	95
---------------------	----

RECOMENDACIONES	97
------------------------	----

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	98
-----------------------------------	----

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla		Pág.
1	Composición química (base seca) de las partes anatómicas del maíz	10
2	Valores del peso promedio de los granos de maíz	47
3	Porcentaje de estructuras anatómicas	47
4	Valores de dimensiones del grano de maíz	48
5	Valores de espesor de pericarpio nativo	49
6	Determinación de humedad	54
7	Determinación de calcio endógeno	54
8	Valores para corrección de termopares	55
9	Caracterización térmica del reservorio de cocción	55
10	Determinación de humedad, pH y calcio residual a 92 °C	57
11	Determinación de humedad, pH y calcio residual a 82 °C	57
12	Determinación de humedad, pH y calcio residual a 72 °C	58
13	Tiempos de cocción obtenidos para las temperaturas a 72, 82 y 92 °C	59
14	Condiciones experimentales en que se obtuvieron las muestras	60

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig.		Pág.
1	Estructura anatómica del grano de maíz	6
2	Diagrama del proceso de nixtamalización tradicional	12
3	Modelo del mecanismo de degradación del pericarpio durante la nixtamalización	21
4	Cuadro metodológico del desarrollo experimental	25
5	Reservorio y su división en cuadrantes	30
6	Sistema prototipo de nixtamalización tradicional	32
7	Diagrama tecnológico de elaboración de harinas de maíz nixtamalizado	37
8	Celda fotoacústica diferencial (DPC) para nixtamalizar	43
9	Calentamiento con láser de la celda fotoacústica	43
10	Micrografía de espesor de pericarpio nativo	49
11a	Micrografía de regiones que cubre el pericarpio en el grano	50
11b	Micrografías de regiones de pericarpio sobre estructuras	50
12	Difractograma de rayos X, para pericarpio virgen	53
13	Historia térmica de las muestras elaboradas a temperatura de 72 °C	60
14	Grafica de reproducibilidad durante la etapa de cocción 1% Ca(OH) ₂ a 72 °C	61
15	Concentración de calcio residual en grano total durante la nixtamalización	66
16	Concentración de calcio en pericarpio durante la nixtamalización	70
17	Micrografía de pericarpio crudo que cubre al endospermo	71
18	Micrografías de pericarpio de maíz tratado térmicamente a 72, 82 y 92 °C	72
19	Micrografía de pericarpio de maíz con tratamiento térmico-alkalino (cocción)	73
20	Micrografía de pericarpio con tratamiento térmico-alkalino a 92 ° C, 1 h de reposo	75
21	Micrografías a, b, c del pericarpio tratado, 3 horas de reposo	76
22	Micrografías a, b, c del pericarpio tratado, 5 horas de reposo	78
23	Micrografías a, b del pericarpio tratado, 7 horas de reposo	81
24	Micrografías a, b, c, d, e, f, g, h del pericarpio tratado, 9 horas de reposo	82
25	Micrografías a, b, c, d, e, calcio fijado en pericarpio residual a 92 ° C	87
26	Cambios en pericarpio durante la cocción (celda fotoacústica)	90
27	Difractogramas de pericarpio de maíz tratado térmicamente sin calcio	92
28	Difractogramas de maíz con tratamiento térmico-alkalino a 92 ° C, diferentes h.	93

RESUMEN

Aproximadamente el 50 % del consumo de maíz en México es en forma de tortillas, las cuales son preparadas a través de un proceso conocido como nixtamalización. Durante este tratamiento térmico-alkalino, se presenta una pérdida de las estructuras del grano de maíz principalmente pericarpio. Una consecuencia de la pérdida excesiva de pericarpio es la obtención de masas con poca adherencia y demasiado pegajosas requiriéndose de aditivos para conferirles mayor fuerza mecánica. Sin embargo, dada la localización del pericarpio en el grano, es necesario degradarlo parcialmente, ya que representa una barrera para que ocurra la difusión de agua y de calcio hacia las estructuras más internas, lo que promueve cambios fisicoquímicos en sus componentes, además de fijar al calcio.

Aunque el pericarpio representa el 5 por ciento del peso del maíz, mostró una capacidad muy pronunciada para adherir calcio, sin embargo, gran parte se eliminó durante el proceso al degradarse con el tiempo, lo que conlleva a una pérdida considerable de fibras naturales que son necesarias para una digestión adecuada en el organismo humano. Por lo tanto, el tratamiento a que se somete al cereal debe alcanzar un equilibrio entre la pérdida y la conservación del pericarpio para aprovecharlo mejor. Por esta razón, en el presente trabajo se llevó a cabo un estudio detallado de los cambios físicos que ocurren en el pericarpio durante la nixtamalización (cocción y reposo), manejando diferentes condiciones de proceso, es decir, empleando tres temperaturas de cocción: 72, 82 y 92 °C y diferentes tiempos de reposo: 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, y 15 horas.

En los granos nixtamalizados, se realizó un análisis de la fijación del calcio residual en el grano total y en el pericarpio, mediante determinaciones por espectroscopía de absorción atómica. Se detectó que la tendencia no es lineal con respecto al tiempo de reposo y que la fijación de calcio fue mayor a 92 °C, porque existe una dependencia con la temperatura. La degradación del pericarpio a través del tiempo fue observada con imágenes obtenidas mediante microscopía electrónica de barrido de bajo vacío, las cuales se relacionaron con el comportamiento de la curva de fijación de calcio residual.

Las señales "*in situ*" que se obtuvieron por la técnica de fotoacústica diferencial, permitieron conocer los tiempos en que ocurren cambios fisicoquímicos en el pericarpio durante la etapa de cocción, los cuales se presentan más rápidamente a 92 °C, a su vez estas transformaciones fueron correlacionadas con cambios en la cristalinidad del pericarpio por difracción de rayos X, en donde también se identificó la formación de compuestos de carbonato de calcio.

ABSTRACT

Approximately 50 percent of the maize consumption in Mexico is in tortilla, which is prepared through a process known as nixtamalization. During this thermal-alkaline treatment, a loss of the structures of maize kernel occurs corresponding mainly to the pericarp. A consequence of the excessive loss of pericarp the obtaining of dough with little adhesion and too much stickiness and the use of additives is required to confer greater mechanical force to them. Nevertheless, given the location of the pericarp in the grain, it is necessary to degrade it partially, since represents a barrier the calcium and water diffusion into the most internal structures, which promotes physicochemical changes into the corn kernel components. On the other hand, the pericarp is able to attach the calcium ions. Pericarp represents 5 percent of the total grain weight, and it showed a pronounced capacity to hold calcium ions. However, a large fraction of it was eliminated during the process due to its degradation along time, which entails to a considerable loss of natural fibers that are necessary for an adequate digestion in the human organism. Therefore, under the nixtamalization conditions it is necessary to reach a balance between the loss and the conservation of pericarp to improve this process. This work presents a detailed study of the physical changes that take place in the pericarp during the cooking and steeping steps in the thermo-alkaline process, handling different conditions using three cooking temperatures: 72, 82 and 92 °C and different steeping times: 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, and 15 hours. The amount of residual calcium incorporated during the nixtamalization process in the whole, kernels as well as in pericarp were determined by atomic absorption spectroscopy. The results showed that the incorporation of calcium does not have a linear dependence with the steeping time, but the increase in the cooking temperature produces a high Ca value in the nixtamalized corn kernels. The pericarp degradation along time was observed with images obtained by using low vacuum scanning electron microscopy and were related with the residual calcium content in nixtamalized corn kernels. The signals "*in situ*" that were obtained by differential photoacoustic system, allowed recognizing the times, where the nixtamalization process affects the physicochemical properties in pericarp during the cooking step, which appears at 92°C faster than the other temperatures. These transformations were correlated also with changes in the pericarp crystalline properties by X-rays diffraction patterns, where calcium carbonate compounds were identified.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas ha existido un mayor interés científico por entender los cambios fisicoquímicos de compuestos orgánicos, tales como biopolímeros y alimentos, no únicamente por su importancia en la dieta, sino también debido a la necesidad de conocer su evolución durante los procesos de transformación, para poder disponer de su manufactura, manejo y almacenamiento.

Una característica distintiva de la ingeniería en alimentos y de otras disciplinas afines es que se ocupan de la transformación de materiales orgánicos para obtener otros con diferentes propiedades, que resultan de utilidad para la industria y el consumidor. Esta transformación de materia prima a productos elaborados durante los procesos tecnológicos, está conformada por una secuencia de operaciones unitarias donde están inmersos fenómenos de transferencia de masa, de calor y de momentum, o una combinación de ellos. Por lo tanto, el ingeniero y el tecnólogo deben ser muy cuidadosos con las condiciones de proceso que manejan para que pueda existir un equilibrio entre las pérdidas de nutrimentos durante cualquier tratamiento y las propiedades que se desean obtener del alimento (Lobo, 1997).

El cocimiento de maíz con cal para la nixtamalización es un método ancestral que se lleva a cabo mediante un tratamiento térmico-alcalino para su transformación culinaria, y ha sido practicado por las culturas asentadas principalmente en América central desde la época precolombina hasta el momento, sin haber experimentado modificaciones importantes (Sefa *et al.*, 2003).

El proceso es conocido comúnmente como nixtamalización, nombre que procede de dos vocablos de origen Náhuatl, derivado de *nextli* que significan “ceniza ó ceniza-cal” y *tamalli* que significa “masa de maíz”, es decir masa que se obtiene con el uso de cal.

La nixtamalización es el proceso más antiguo de la industria alimentaria en México, representativo de la cultura nacional, de suma importancia porque proporciona una gran variedad de alimentos básicos para la dieta de los mexicanos, que están presentes todos los días en su mesa, en cualquier horario, en formas tan diversas como variadas dependiendo de la localidad (Serna-Saldívar *et al.*, 1988; Trejo- González *et al.*, 1982).

El tratamiento térmico-alcalino se realiza en dos etapas, inicia con la cocción de granos de maíz en una solución saturada de hidróxido de calcio, cuya concentración puede variar de 0.5 a 2 %, posteriormente un reposo en el mismo licor de cocción, conocido como nejayote e inmediatamente después su drenado (Sahai *et al.*, 2000). Consecutivamente

se presentan una secuencia de operaciones unitarias que comprenden la molienda húmeda de los granos donde se obtiene un granulado; a partir de ahí el proceso puede tener dos variantes: en la primera al hidratarse el granulado proporciona una masa que sirve para hacer tortillas, producto cuya importancia en México se debe a que el consumo per capita por día es de 325 g, por persona. La segunda, el granulado, continúa con un secado y una molienda para elaborar harinas instantáneas de maíz que hoy en día presentan muchas ventajas debido al ritmo acelerado en que vivimos, ya que reduce considerablemente el tiempo de preparación de las tortillas a solo 20 minutos, ahorro de espacio, menor tiempo de proceso, mejor manejo en su almacenamiento y mayor vida de anaquel (Bedolla *et al.*, 1984).

Durante el proceso, el cereal cocido e hidratado (nixtamal) sufre modificaciones en el contenido de nutrimentos; sus estructuras como pericarpio, cofia, germen y endospermo, se pierden de manera física y química (FAO, 1993). Algunos de los componentes que son afectados son: fibra soluble, carbohidratos, lípidos, fibra dietética insoluble, vitaminas y proteínas, las que pierden algunos aminoácidos, tales como la arginina, histidina, leucina, lisina y triptófano. Este último aspecto resulta relevante, ya que el maíz es reconocido por su bajo contenido en aminoácidos esenciales como la lisina y triptófano (White y Johnson, 2003). Para tratar de compensar las deficiencias y pérdidas de estos aminoácidos limitantes por efecto en la cocción alcalina del maíz híbrido normal, se han llevado a cabo diversos trabajos en el Centro Internacional para el Mejoramiento del Maíz y Trigo (CIMMYT) en el campo de la investigación agrícola, que dieron como resultado la introducción de variedades de maíz con alta calidad proteínica (QPM por sus siglas en inglés), en donde el contenido de lisina y triptófano se ha elevado de manera considerable en un 100 y 90 %, respectivamente con relación al maíz normal. En estos híbridos, el aumento de estos aminoácidos se debe a la disminución en el contenido de prolaminas; en consecuencia, el correspondiente a las albúminas, globulinas y glutelinas se incrementa (Vasal, 2001; Villegas *et al.*, 1985, Villegas, 1994). Aun cuando se reduce el contenido total de proteína durante la cocción alcalina, se ha reportado un incremento en la velocidad de liberación de alfa aminoácidos, en el valor biológico de su proteína y en la eficiencia proteínica relativa presentada (Bressani y Scrimshaw, 1958; Bressani *et al.*, 1990; Serna-Saldívar *et al.*, 1988).

Además, durante el tratamiento térmico-alcalino, también se promueve: a) un importante aumento de minerales, principalmente calcio y fósforo, b) la presencia de proteínas que se hacen biodisponibles y c) cambios deseables como almidón parcialmente gelatinizado,

que da una serie de propiedades reológicas y mecánicas a la masa y con ello características particulares al producto terminado muy deseables al consumidor .

Este tratamiento térmico-alcálico al que se somete el maíz ha tenido tres propósitos fundamentales: facilitar la disponibilidad de sus proteínas, promover la remoción parcial del pericarpio y permitir la fijación de calcio al cereal durante el proceso (Guzmán, 2005; Martínez *et al.*, 2001; Shandera y Jackson, 2002; Trejo-González *et al.*, 1982).

La incorporación de calcio al grano se lleva a cabo mediante el fenómeno de transferencia de masa por el mecanismo de difusión. Debido a que existe un gradiente de concentración de calcio entre la solución y el maíz, al adicionar hidróxido de calcio a la solución de cocción en combinación una alta temperatura se promueven cambios fisicoquímicos en la estructura más externa que rodea al grano conocida como pericarpio, la cual se considera como una barrera a la difusión de agua y de calcio y que está constituida principalmente de una matriz de fibras de hemicelulosa que es de carácter ácido, lignina que le da propiedades de rigidez y la celulosa que es difícil de degradar. El pericarpio es la estructura de primer contacto con el licor de cocción, va transformándose al paso del tiempo y durante el proceso modifica su permeabilidad y facilita la difusión al interior del grano, lo que quiere decir que la difusión se lleva a cabo por etapas en las estructuras de maíz y a su vez va promoviendo cambios diferentes debidos a la naturaleza química de cada una de ellas; la magnitud de estos cambios dependerá de las condiciones de proceso establecidas para el tratamiento (Fernández-Muñoz *et al.*, 2004).

Sin embargo, en la literatura se encuentra que cuando se estudian esos cambios, cada investigador utiliza una variedad diferente de maíz y un solo nivel de variación en las variables críticas, es decir, una temperatura de cocción y un tiempo de reposo; lo anterior dificulta realizar un análisis comparativo entre los trabajos existentes. Por lo tanto, no es posible concluir sobre el tipo de transformaciones físicas ocurren durante el proceso de nixtamalización. Lo anterior aunado a que en la República Mexicana las condiciones de proceso varían de acuerdo a la zona geográfica, las costumbres del lugar y la tradición de las familias, por mencionar algunas de ellas. Estas situaciones son comunes cuando no existe una estandarización del proceso de nixtamalización, lo que no ha permitido poder extrapolar datos a nivel industrial. Se requiere entonces tener primero los parámetros controlados y las historias térmicas que aseguren el tratamiento al grano, en otras palabras estandarizar el proceso y posteriormente analizar los cambios al maíz mientras se procesa a diferentes condiciones, para tener un marco referencial en el cual se pueda operar y aplicar a la Industria del maíz.

México es la cuna del proceso de nixtamalización y el principal consumidor de este cereal, por tanto deberíamos ser pioneros en la innovación tecnológica y científica en la industria, y en consecuencia tener el liderazgo mundial en la producción de harinas de maíz nixtamalizado y sus derivados. Esto debe ser un reto a futuro para quienes estamos involucrados en el estudio y entendimiento del proceso de nixtamalización.

Desde que se incorporó el tratamiento artesanal a las filas de un macro proceso, su ingeniería sigue siendo la misma, sin que se hayan producido cambios significativos que hagan uso de los conocimientos científicos. Pensando con optimismo se puede decir que el proceso está en desarrollo, encontrándonos en una etapa de acumulación cuantitativa de resultados científicos que en un futuro darán lugar a cambios en la tecnología, porque aun existen un conjunto de aspectos que requieren investigación y entendimiento.

Mientras este antiguo tratamiento era casi exclusivo de nuestro país, los estudios existentes hasta hace una década estuvieron basados fundamentalmente en aspectos nutrimentales, en el almacenamiento y conservación de granos, las condiciones de cultivo, mejora de la calidad del cereal para consumo humano y animal con algunas propuestas alternativas para modificar el proceso de nixtamalización tradicional.

Hoy en día los productos elaborados a partir de maíz han desbordado las fronteras de México con una amplia perspectiva y rápido crecimiento en la comunidad europea y en Estados Unidos (González *et al.*, 2004^a). Pero aun no existe una estandarización normalizada del tratamiento y existe un amplio rango de condiciones de proceso. Además desde el punto de vista ingenieril, el método tradicional de nixtamalización ha sido subestimado e ignorado, ya que el equipo es obsoleto, ineficiente y de elevados gastos de insumos; es necesario proponer modificaciones para un apropiado control y eficiencia del proceso dado que no ha logrado reproducirse con éxito a nivel industrial, puesto que este último no supera los estándares de calidad establecidos por el artesanal-tradicional.

Por otro lado los cambios promovidos en las estructuras del maíz han sido poco estudiados, sin establecer la funcionalidad e importancia que en conjunto proporciona cada una de las partes del maíz durante su tratamiento térmico-alcalino.

El pericarpio del grano es la fuente principal de fibras en el maíz, su composición es análoga a la de las fibras dietéticas procedentes de otros cereales, dentro de las cuales tenemos la combinación celulosa-hemicelulosa-lignina unidas en una matriz fibrosa característica de la fitomasa que es considerada como un compuesto estructural (Martínez *et al.*, 2001). La composición del pericarpio esta reportada como: celulosa, que es un polímero con una estructura química bien definida, generalmente cristalina,

hemicelulosa y lignina con estructura amorfa. La proporción en que se encuentran estos componentes depende del tipo del vegetal. Por lo tanto el tratamiento con álcali a altas temperaturas y largos tiempos de exposición provoca la ruptura de este compuesto, liberando la hemicelulosa y dañando al pericarpio; al ser degradada la estructura se permite el transporte de masa al interior del grano, donde las estructuras, el germen y el endospermo interactúan con los iones de calcio permitiendo incorporar calcio y promoviendo cambios fisicoquímicos. El calcio en el germen interactúa formando sales de ácidos grasos debido a la saponificación parcial de las grasas y en el endospermo forma compuestos de inclusión de otras sales dentro de la estructura helicoidal de la amilosa (Hon y Shiraishi, 2001; González *et al.*, 2004^b).

El propósito de este trabajo fue estudiar cambios físicos a nivel de pericarpio de maíz, durante el proceso de nixtamalización, manejando un rango de diferentes condiciones de proceso (temperatura y tiempo de reposo), para una variedad de maíz híbrido con alta calidad proteica, el QPM-H368C; la finalidad fue conocer el tipo y las características de las transformaciones en esta estructura, dada su importancia y su prioridad en el mecanismo de difusión de calcio a las estructuras más internas del grano, así como conocer de manera general el fenómeno de transferencia de masa que se presenta mediante la difusión de agua y calcio durante el mencionado tratamiento térmico-alcalino.

El que se mantenga o no el pericarpio en los granos de maíz durante la nixtamalización depende de las condiciones del proceso y de la técnica de lavado. Si la mayor parte de pericarpio permanece en el grano le dará mejores propiedades mecánicas y reológicas a la masa, junto con la gelatinización del almidón localizado en el endospermo ya que son muy importantes para los productos terminados. Si bien la eliminación total del pericarpio permite obtener una masa blanca, de buena apariencia, por otro lado requiere del empleo de aditivos para proporcionarle fuerza mecánica, además de que se pierden las fibras dietéticas para los alimentos derivados de la nixtamalización.

La búsqueda de un proceso que conduzca a una masa aceptable para hacer tortillas exige un conocimiento mayor de los fenómenos que transcurren en el pericarpio durante el tratamiento térmico-alcalino. Dado que las transformaciones que ocurren en el pericarpio no son inmediatas, sino transitorias, requieren de estudios detallados durante el proceso de nixtamalización, con un soporte de técnicas precisas para poder captar cambios "*in situ*" en su estructura. También es necesario conocer la fijación de calcio residual a diferentes condiciones, misma que pueda ser explicada con imágenes reales, para poder entender la fenomenología ocurrida en el grano durante la nixtamalización.

Capítulo 1
ANTECEDENTES

ANTECEDENTES

1- EL MAÍZ Y SUS CARACTERÍSTICAS

1.1 Origen del maíz

El maíz (*Zea mays*) es quizá la planta más domesticada y evolucionada del reino vegetal. Su origen sigue siendo un misterio, a diferencia de otros cereales. Por mucho tiempo se ha considerado al Teocintle de Chalco (*Zea mays ssp mexicana*) como su probable antecesor y se ha sostenido la hipótesis que es de origen mexicano. Fundamentando en que el Teocintle y el maíz tienen 10 cromosomas y son parcialmente homólogos. El maíz es un híbrido natural entre el Teocintle y una gramínea afín ya extinguida, la cual se caracterizaba por ser una planta que producía el grano en forma de espiga. El Teocintle ha sobrevivido como planta silvestre, mientras que el maíz actual existe y se conserva gracias a la ayuda del hombre (Reyes,1990). Científicos Paleobotánicos han reportado evidencias de que en el valle de Tehuacan, Puebla y al norte del estado de Oaxaca en el sur de México, se cultivaba maíz desde hace 7000 años. Cualquiera que sea el origen del maíz, lo cierto es que a la llegada de los europeos a nuestro continente, el maíz se cultivaba y constituía la base de la alimentación de muchas de las civilizaciones precolombinas en América, en particular de las asentadas en el actual México y Centroamérica (Castañeda, 1990).

Hay suficiente evidencia de que México fue el centro primario de domesticación y dispersión del maíz y que las migraciones humanas lo fueron poco a poco llevando a otros lugares como Sudamérica (Katz *et al.*, 1974; Paredes-López y Sarharopulos-Paredes, 1983; Trejo-González, 1982).

1.2 Clasificación del maíz

La clasificación original del maíz la realizó el botánico Carlos Lineo, quien le asignó el nombre de *Zea mays* como único representante del género. *Zea* que significa "causa de vida" y *mays* deriva del maíz "nuestra madre", término empleado entre Indios Caribeños de Cuba y Haití. Ambos términos reflejan la alta estima que el cultivo de maíz representaba para todas las sociedades precolombinas de aquella época. EL maíz es una planta herbácea que pertenece a la extensa familia *Gramineae*, de la tribu *Maydeae*, la cual incluye 8 géneros, cinco de los cuales son géneros relativamente de poca importancia, *Coix*, *Schlerrachne*, *Polytoca*, *Chinonachne*, *Trilobachne*. Los tres

géneros americanos son: *Zea*, género muy importante representado por la especie única (*Zea mays*), sus grupos agrícolas incluyen los tipos: Dentado, reventón, harinoso, dulce, ceroso, los cuales pueden mejorarse por fitomejoramiento. El segundo es *Tripsacum*, con valor nutritivo forrajero, pero ninguno como cultivo. Finalmente el tercer género es *Euchlaena* (Teocintle), antecesor más cercano en origen y evolución del maíz bajo domesticación (Reyes, 1990).

Años después otros científicos estudiaron las diferentes especies de ésta gramínea debido a su gran variedad, para ampliar la clasificación anterior (Klaus y Karel 1991; Lange y Hill, 1987; Reyes, 1990). Las principales especies que se conocen actualmente:

Zea tunicata o maíz tunicado, es un tipo poco común de maíz, cada grano está encerrado en una túnica o vaina. No presenta importancia económica, pero si tiene valor como material genético para el mejoramiento del maíz y es de considerable interés para estudiar el origen del maíz.

Zea everta o maíz palomero, tiene granos pequeños, su endospermo es duro y revienta con el calor, por lo que se utiliza en la industria de la transformación para elaborar palomitas y confituras.

Zea indurata o maíz cristalino, es conocido como maíz *flint*, tiene granos grandes redondeados y de consistencia dura, pues contiene poco almidón suave, este maíz se utiliza en la alimentación humana y animal, como materia prima para obtener alcohol y almidón. Es el tipo de maíz que se cosecha en la comunidad europea.

Zea identada o maíz dentado, es el grupo mayormente cultivado en el mundo, se caracteriza por una depresión o diente en la corona de la semilla. A los lados presenta almidón córneo, mientras que el almidón suave se extiende hacia el ápice (corona) de la semilla. Al secarse y contraerse rápidamente el almidón suave, se tiene como resultado el dentado característico. Este maíz es utilizado en general para consumo humano, para alimentación animal, para uso industrial en la producción de harinas instantáneas nixtamalizadas. Los granos presentan forma aplanada y gran parte de los híbridos norteamericanos pertenecen a este grupo.

Zea amyloacea o maíz semidentado, generalmente el grano presenta una corona redondeada y el endospermo es en su mayoría harinoso. Incluye variedades que se utilizan en la alimentación humana por su mayor contenido de lisina y triptófano, también se utiliza para mejoramiento genético.

Zea sacharata o maíz dulce, está caracterizado por una apariencia traslúcida y córnea cuando esta inmaduro y por una condición vítrea cuando está seco. Se siembra principalmente en Estados Unidos. Las mazorcas se recogen verdes y se usan para enlatado y consumo en fresco. El maíz dulce difiere del duro solamente por un gen recesivo, el cual impide la conversión de una parte del azúcar en almidón.

Zea cerea o maíz céreo, debe su nombre a la apariencia cerosa de sus granos. El almidón ceroso está totalmente compuesto por la forma molecular ramificada de amilopectina. Es utilizado en la elaboración de gomas y adhesivos pues los granos presentan altos contenidos de amilopectina (FAO, 1992)

Estas especies se han ido cruzando entre sí dando lugar a nuevas razas, debido a que los agricultores promueven la hibridación o intervienen de manera directa en el movimiento de variedades en una misma región realizando una selección empírica del maíz. Además este cereal es un cultivo de polinización abierta lo que explica la diversidad de variedades que se conocen actualmente, además gracias a este cruzamiento puede decirse que existe un tipo de maíz para cada necesidad y ambiente, los hay resistentes a las sequías, a las heladas, a los tipos de suelos, a las altitudes; y los hay de alta calidad proteínica, transgénicos, criollos, etc. Actualmente se han identificado cerca de 16,000 tipos de variedades, ubicadas en el Instituto de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). EL Centro Internacional para el Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), cuenta con 4000 tipos, algunos son duplicados de los anteriores. El colegio de posgraduados de Chapingo tiene una colección de aproximadamente 2000 tipos (Reyes, 1990). La industria en México demanda altos volúmenes de maíz, pues se requieren más de 2 millones de toneladas anuales para elaborar almidones, 80,000 toneladas para cereales, 40,000 para almidones céreos, eso sin contar los requerimientos de productos para nixtamalizar (S.A.R.H., 2004).

En un esfuerzo conjunto entre CIMMYT e INIFAP, fueron desarrollados diferentes híbridos QPM's experimentales, que posteriormente se evaluaron en el ámbito nacional bajo diferentes condiciones de humedad (riego y temporal); este trabajo culminó con la liberación comercial de diversos híbridos de cruza simple y triple, así como algunas variedades de polinización libre en noviembre de 1999, entre las cuales se encuentra el QPM-H-368C para riego. Las mejoras que presenta este híbrido son: Alto rendimiento, resistencia a plagas y a condiciones ambientales severas y alta calidad proteica.

Las modificaciones principales se hicieron en el gen zp27 grupo de la proteína gama zeína 27 kDa, localizada cerca del centrómero del cromosoma 7, y en el gen gzm1 que es el modificador 1 de gama zeína, localizado en el brazo largo del cromosoma 7; en los QPM's, se encuentra de 2 a 3 veces más gama zeína con relación al opaco 2 y la forma nativa, existiendo una correlación positiva ($R^2= 0.82$, $P \leq 0.01$) entre el contenido de gama zeína y la densidad del grano (Mertz *et al.*, 1964; López *et al.*, 1995)

1.3 Características del maíz

La planta mide de dos a cuatro metros de altura, es de raíz fasciculada, está constituida principalmente por formas adventicias (las que se originan del tallo). El tallo es cilíndrico y no ramificado, las hojas son alternas y drísticas (solo una sale de cada nudo), las flores masculinas están situadas en la parte terminal del tallo, agrupadas por partes en algunas espiguillas, a su vez reunidas en un gran racimo de espigas. Las flores femeninas están agrupadas en filas dobles sobre una masa compacta llamada olote, constituyendo inflorescencias llamadas mazorcas que se presentan en las axilas de las hojas y están protegidas por numerosas espigas que reciben el nombre de totomoxtle (de color verde cuando están tiernas y después amarillentas cuando son maduras), las cuales encierran por completo la mazorca y sólo quedan ligeramente separadas del ápice, por donde sale un penacho de largos filamentos o hilos muy suaves de color amarillo-dorado, mejor conocidos como cabellitos de elote (Rojas, 1997).

Los granos de maíz son producidos dentro de una inflorescencia femenina o espiga (mazorca). Esta estructura puede estar formada por 300 hasta 1000 granos, dependiendo del número de hileras, del diámetro y la longitud del olote. El peso de la mazorca puede variar dependiendo del número de granos presentes. El maíz comparado con otros cereales, es el que presenta mayor tamaño, tiene una diversidad de formas y tamaños debida a su origen genético y a su colocación dentro de la mazorca. Los granos en la parte superior de la mazorca son largos y redondeados, los del final de la punta son de menores dimensiones y redondos, los de la parte central son aplastados debido a la presión en granos adyacentes durante el crecimiento. El rango del peso de los granos se encuentra entre 100-600 mg. Las medidas promedio del maíz en el centro de la mazorca son: 5 mm de espesor, 10 mm de ancho y 12 mm de largo.

El color del maíz depende de la variedad, existen blancos, amarillos, naranjas, rojos, morados, cafés, etc. Sus diferencias en color pueden ser debidas a la genética en el pericarpio, en la capa de aleurona, del germen y del endospermo, ya que cada una de las

diferentes fracciones puede presentar distinta coloración (Klaus y Karel, 1991; Paredes-López y Sarharopulos-Paredes, 1982 ; Watson y Ramstad, 1987; White y Johnson, 2003). El maíz generalmente es cosechado mecánicamente con contenidos de humedad que van del 18-30 por ciento y ya seco hasta con 13 por ciento para garantizar su almacenamiento prolongado. La dureza del grano es una propiedad intrínseca importante debido a que afecta los requerimientos de la molienda, las propiedades nutritivas, la formación de polvos, la densidad del grano, la densidad volumétrica y la elaboración de alimentos. Esta característica esta relacionada con la razón 2:1 del endospermo córneo y endospermo harinoso respectivamente; otra característica importante del grano es la vitreosidad, algunos granos son vítreos o de aspecto traslúcido, mientras que otros son opacos y harinosos. Tradicionalmente se ha asociado la calidad vítrea con la dureza y alto contenido de proteína, y la opacidad con la blancura y escasez de proteína. Sin embargo, la causa de la dureza del endospermo y de su transparencia son diferentes y no siempre se presentan juntas. La dureza es producida por la fuerza de unión entre la proteína y el almidón en el endospermo, fuerza que es controlada genéticamente. La transparencia en cambio, es el resultado de la escasez de cavidades aéreas en el grano, aún no es claro el mecanismo de control, pero parece estar relacionado con la cantidad de proteína (Lange y Hill, 1987).

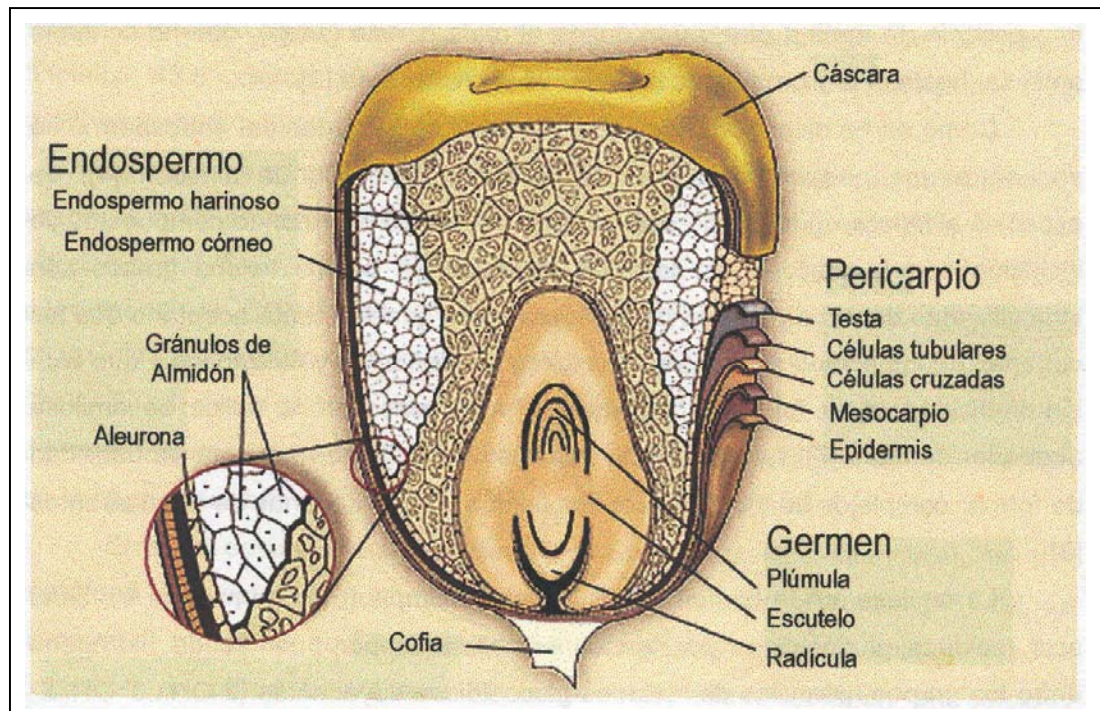
1.4 Estructura del grano de maíz

El maíz está constituido por cuatro partes mayoritarias: pericarpio, germen, endospermo y cofia. En la figura 1 se presenta la estructura anatómica del grano donde se pueden ver las partes implicadas en el mecanismo de difusión de agua y calcio. Estas se describen en detalle dada su importancia en el fenómeno de transferencia de masa; es importante conocer su composición química para tener una idea del tipo de interacciones que tienen lugar en el grano por la presencia de calcio.

1.4.1 Cofia

Es la parte minoritaria, representa menos del 1 % del grano de maíz. Es una estructura fibrosa que mantiene al grano unido con el olote y por la cual se transportan los nutrientes que el grano necesita durante la etapa de crecimiento. Dentro de la cofia hay células esponjosas en forma de estrella, conectadas sólo por los finales de las ramas, formando así una estructura abierta que es continua con la capa de células cruzadas del pericarpio. Inmediatamente después de la cofia se expone una capa circular café oscura conocida como capa negra que se encuentra contra la base del germen y del endospermo, esta

capa es de separación, con una probable función de sellado de la punta al grano, y sirve como barrera que protege al grano contra la invasión de insectos y microorganismos. La aparición de esta capa coincide con la madurez fisiológica del grano para suspender el paso de nutrientes al interior (Klaus y Karel, 1991).



Fuente: Hosney. (1991), con modificaciones.

Figura 1. Estructura anatómica del grano de maíz.

1.4.2 Germen

El germen comprende el 12 % del grano total. Esta estructura está constituida por grasas (34 %), proteínas (20 %), azúcares (12 %), almidones (8 %), elementos minerales (10 %), fibra cruda y hemicelulosa (14 %), trazas de almidón y otros compuestos (2 %). Aproximadamente el 60 % de las proteínas contenidas en esta estructura son globulinas y albúminas. Al germen podemos localizarlo en la porción más baja del endospermo de acuerdo a la figura 1.

En la estructura del germen se distinguen el embrión y el escutelo; ésta es la estructura que dará origen al nuevo embrión, contiene todas las enzimas esenciales, nutrientes y material genético para producir una nueva planta de maíz. Fundamentalmente en el escutelo están presentes los lípidos como componente mayoritario en forma de gotas microscópicas o esferomas, que tienen un diámetro de 1 a 1.3 micras, compuestas por

una membrana de proteínas y lípidos; para que tenga lugar la interacción de los lípidos del germen, los cuales son ácidos grasos (linoleico, oleico, palmítico, esteárico, linolénico, mirístico) con el medio alcalino ($\text{Ca}(\text{OH}_2)$). Este último debe ser capaz de degradar, al menos parcialmente, la membrana que cubre dichas esferomas. Los lípidos de esta estructura se pueden clasificar en saponificables (susceptibles a hidrólisis en un medio alcalino) y lípidos no saponificables. Dentro de los lípidos saponificables encontramos a los mono, di, tri glicéridos, fosfolípidos, glicolípidos y ácidos grasos libres. Entre los no saponificables, encontramos a los carotenoides, esteroides, tocoferoles, e hidrocarburos alifáticos. Los lípidos saponificables son mayoritarios en el germen, representan el 93 %, de esa parte los triglicéridos y forman la fracción mayoritaria con una abundancia del 85 %. Por esta razón y por mera simplicidad es conveniente referir con el término de grasas a los triglicéridos, aunque en realidad comprende a todos los lípidos saponificables presentes. La composición de las grasas del grano de maíz, en términos de ácidos grasos libres resulta aproximadamente en porcentaje en peso como sigue: mirístico 1-2 %, palmítico 7-11 %, esteárico 3-4 %, oleico 25-35 %, linoleico 50-60 %, existiendo también otros que son mayores de 18 carbonos, 1-2 % (Klaus y Karel, 1991).

1.4.3 Endospermo

El endospermo representa aproximadamente del 80-83 % del peso total del grano de maíz en base seca, según se muestra en la figura 1. Está constituido principalmente de un 87 % de almidón, 9 % de proteínas, 1 % de grasa, 0.5 % de azúcares, 0.3 % de trazas de minerales y 2 % de fibra cruda (hemicelulosas), y otros componentes secundarios. Dentro de las células alargadas se encuentran paquetes de gránulos de almidón, los cuales están en celdas que contienen gránulos de 5 a 30 micras, cubiertos en una matriz continua de proteínas hidrosolubles que está ligada al medio granular del almidón. El endospermo almidonoso es de dos tipos, harinoso y córneo o duro, en una relación 2:1. Esta relación está cercanamente relacionada con la dureza del grano; ambos están comprimidos por la matriz proteica que encapsula los gránulos de almidón. La parte harinosa rodea la fisura central del grano y es opaco para transmitir la luz. La opacidad es debida a la refracción de la luz sobre los espacios de aire alrededor de los gránulos de almidón los cuales resultan del desgarramiento de la delgada matriz proteica, la que se encoge durante el secado del grano. En esta parte, debido a que la matriz no se alarga completamente, los gránulos asumen una forma redondeada. El endospermo córneo se encuentra principalmente a los

lados del grano, tiene entre 1.5 a 2.9 % mayor contenido de proteína que el harinoso. La matriz proteica que lo cubre es más gruesa, la cual se compone de material proteico amorfo, donde están insertados cuerpos proteicos discretos que a su vez están compuestos casi completamente de zeína, prolamina cuya composición carece prácticamente de lisina, un importante aminoácido esencial. La matriz permanece intacta durante el secado, ahí los gránulos de almidón se encuentran comprimidos en forma poliédrica, son de aspecto traslúcido y no tienen cavidades aéreas, además presenta la peculiaridad de transmitir la luz.

Por otro lado, las proteínas presentes en el endospermo representan el 75 % de la proteína total del grano. El contenido proteico está influenciado por la disponibilidad de nitrógeno del suelo donde fue cultivado y por la genética del grano, los cambios en el contenido total de la proteína son en la parte interna a nivel del endospermo periférico, principalmente de la zeína (Klaus y Karel, 1991; Watson y Ramstad, 1987).

1.4.4 Pericarpio

El pericarpio es la parte más externa del grano, como lo muestra la figura 1, y cubre por completo al endospermo y al germen, y se le conoce también como cubierta de la semilla. Desde el punto de vista morfológico, el pericarpio se manifiesta como un conjunto de fibras de celulosa inmersas dentro de una matriz formada por hemicelulosa y lignina. Es una estructura muy delgada formada por capas celulares. Su espesor varía de 62 a 160 micras de acuerdo a la evaluación realizada en diferentes variedades de maíz.

Todas las partes del pericarpio están compuestas por células muertas que son tubos celulósicos excepto la capa de semilla más interna o testa (Klaus y Karel, 1991).

El pericarpio representa aproximadamente el 5 % en peso del grano total de maíz, está compuesto mayoritariamente por fibras celulósicas naturales: como son las hemicelulosas con un 67 % y las celulosas con un 23 %. Ambas están compuestas de cadenas construidas a partir de la unidad básica de azúcar, unidas mediante puentes glucosídicos; en ellas se incluyen los ácidos poliurónicos, que son polisacáridos con grupos ácidos en el carbono 6 de la unidad monosacárida.

La lignina, aunque no es un polisacárido, aparece generalmente asociada a las fibras celulósicas, sus unidades estructurales son derivadas del 3,4 dihidroxifenil-propano.

Entre los componentes secundarios del pericarpio se encuentran: almidones (7 %), proteínas (1.4 %), grasas (1 %), azúcares (0.5 %) y lignina (0.1 %). La mayor parte de los lípidos del pericarpio son esteroides y alcoholes alifáticos derivados de la película de

ceras que forman la epidermis (capa más externa), además estos lípidos son no saponificables.

La pared celular que integra a las células del pericarpio está constituida por xilosa, arabinosa, galactosa, ácido glucurónico, glucosa, proteína, ácido paracumárico, ácido ferúlico, ácido diferúlico, ácido triferúlico, ácido acético y celulosa.

Las capas del pericarpio se describen del interior a exterior como muestra la figura 1. La capa de semilla o testa es la más interna del pericarpio, imparte propiedades semipermeables al grano y se adhiere firmemente a la superficie externa de la capa de aleurona. Después se encuentra la capa de células tubulares, la cual es una hilera de tubos longitudinales con una distribución grande de espacio intercelular, presionados fuertemente a la testa. Posteriormente existe un área muy compacta llamada capa de células cruzadas, su característica distintiva son los cruces de capas que están tensadas en forma tangencial alrededor del grano, ésta se encuentra cubierta por una capa conocida como mesocarpio, que representa aproximadamente el 90 % de la masa total del pericarpio; está formada por células alargadas, empacadas y con numerosos hoyos, interconectados con los tubos de la capa de células tubulares, lo cual facilita la absorción de agua. Finalmente la capa más externa del pericarpio es la epidermis, está formada por una capa cerosa que le permite retardar el intercambio de humedad y le da brillo al grano (Watson y Ramstad, 1987) .

Por estudios con espectros de resonancia magnética nuclear (NMR ¹³C) en muestras de pericarpio, se han identificado que los componentes mayoritarios son principalmente hemicelulosa, celulosa, y en menor proporción proteínas, pectinas, almidón, grasas, y lignina (Martínez *et al.*, 2001). El pericarpio es la principal fuente de fibra en el grano, y es recomendable que durante el tratamiento térmico-alkalino se elimine parcialmente ya que es responsable del color indeseable de los productos procesados; sin embargo, su eliminación total durante el proceso ocasiona que los productos intermedios como la masa y harinas de maíz requieran mayores aditivos para mejorar las propiedades mecánicas y térmicas que repercuten en la textura y flexibilidad de las tortillas. En estudios más recientes de muestras de pericarpio separadas del maíz se ha identificado a la hemicelulosa como un polisacárido de pentosa, conteniendo xilosa, arabinosa, galactosa, ácido glucurónico, glucosa, almidón, proteína, ácido cumárico, ácidos fenolicos (principalmente ácido ferúlico, ácido diferúlico, ácido triferúlico), ácido acético, ácido urónico, galactoglucurano. La presencia de ferulatos en la fracción de fibra insoluble

ligando cadenas de polisacáridos (arabinoxilanos) le proporciona integridad y firmeza a la pared celular junto con la lignina y la celulosa (González *et al.*, 2004^a).

La composición química general promedio del grano de maíz y de sus diferentes partes anatómicas se muestra en la tabla 1. Dado que este trabajo se enfoca al estudio del pericarpio, se hace énfasis en sus componentes, los cuales se describen a continuación.

Tabla 1. Composición química de las partes anatómicas del maíz (g/100g base seca)

Partes del grano	En peso %	Almidón	Proteína	Grasa	Azúcares	Cenizas	fch*
Grano entero	100	72	10	5	2	1.7	9
Endospermo	83	87	9	1	0.5	0.2	2
Germen	12	8	20	34	12	10	14
Pericarpio	5	7	4	1	0.5	0.3	84

Valores promedio aprox. * fch= Fibra cruda más hemicelulosas

Fuente: Klaus y Karel, (1991).

1.4.4.1 Lignina

El pericarpio de maíz está constituido por una matriz sacárida, con una pequeña fracción de lignina, que es un polímero fenólico natural presente en todas las fibras naturales que proporciona lignificación a los tejidos, dándole propiedades de resistencia y rigidez (Martínez *et al.*, 2001). La lignina es un polímero tridimensional, insoluble, de elevado peso molecular constituido por unidades de alcoholes (cumarínico, coniferínico y sinapsínico). Contiene 100 o más unidades aromáticas, con una proporción elevada de grupos metoxi. Penetra en la pared celular produciendo un engrosamiento secundario, actuando como una sustancia de relleno hidrofóbica, establece enlaces covalentes con los carbohidratos de la membrana. La lignina no es un hidrato de carbono, es una cadena de compuestos fenólicos como la vainilla (Badui, 1993; Hon y Shiraishi, 2001).

1.4.4.2 Celulosa

Es el polisacárido estructural de todo el reino vegetal, por estar considerado como el compuesto orgánico más abundante en la naturaleza y ser una fuente de glucosa prácticamente inagotable que se renueva continuamente mediante la fotosíntesis; es parte de la fibra cruda y se elimina en las heces, puesto que el organismo humano no la digiere. En el grano de maíz se localiza en el germen y en mayor proporción en el pericarpio, rodeando la matriz sacárida; se trata de un homopolisacárido de varias

unidades D-glucopiranosas, con la diferencia de que los monómeros se unen mediante enlaces glucosídicos $\beta(1, 4)$. Su peso molecular es de varios millones y su alta resistencia mecánica y química se debe a que sus cadenas paralelas se alinean sobre un eje y establecen muchos puentes de hidrógeno intermoleculares, lo que da origen a microfibrillas altamente estructuradas con zonas cristalinas y amorfas que la hacen térmicamente muy estable. A pesar de tener muchos hidroxilos libres, es muy poco soluble en agua, ya que sus grupos no se hidratan al interactuar entre sí (Balsler, 1975).

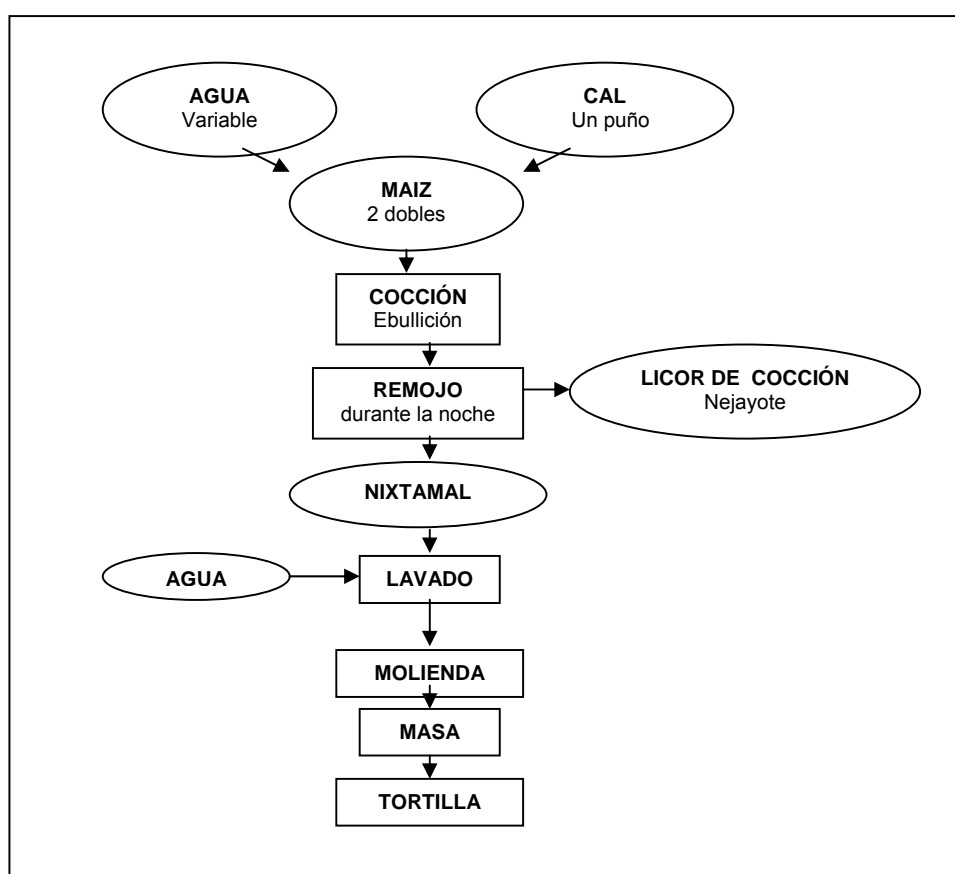
1.4.4.3 Hemicelulosa

Este término se emplea para referirse a un grupo muy extenso de polisacáridos con diversos tipos de monómeros (heteropolisacáridos) que se localizan principalmente en la pared celular y que son muy distintos a la celulosa y al almidón. Son insolubles en agua, pero se disuelven en soluciones alcalinas altamente concentradas (18-24 % de hidróxidos de sodio, calcio o potasio en solución) no utilizadas en ningún proceso de alimentos. La hemicelulosa es un polisacárido estructural, presenta una estructura amorfa, sin orden, aún cuando algunos tipos desarrollan una forma fibrilar, y actúan como agente cementante en el tejido vegetal. Se asocian principalmente a las pectinas, a la celulosa y a otros polímeros con estructura de mananas, glucomananas y arabinoglucanos, junto con la lignina. Su composición química está basada en la unión glucosídica de distintos monosacáridos, sobre todo pentosas (arabinosa y xilosa), hexosas (glucosa, manosa y galactosa), ácido urónico (galacturónico y glucurónico) y algunos desoxi-azúcares. Una de las hemicelulosas más abundante es la que está integrada por la unión $\beta(1,4)$ de unidades de D-xilopiranosas; es estructura lineal básica que ocasionalmente se le enlazan grupos de L-arabinofuranos mediante los carbonos 2 ó 3 de la xilosa (Saulnier *et al.*, 1993).

1.5 Proceso de nixtamalización

La nixtamalización artesanal, es un proceso empleado para cocer el grano de maíz y obtener una masa con ciertas propiedades funcionales. Principalmente se realiza en México y en América central para elaborar tortillas y otros alimentos. Consiste en someter al grano de maíz a una serie de tratamientos drásticos, poco comunes en la industria alimentaria para cualquier tipo de alimento. Este proceso fue descrito por primera vez tal y como se realiza en México por Illescas. (1943) y establecido después por Gravioto (1945). El método tradicional-artesanal de procesamiento del grano de maíz a la tortilla, utilizado en México, se muestra la figura 2. Consiste en colocar en un recipiente un puño de cal (aproximadamente 150 g) para dos cuartillos de maíz (5 kg) y agua (cantidad variable). El

maíz se lleva a cocimiento a temperaturas altas hasta que hierva, así se mantiene durante algunos minutos, después se suspende el calentamiento. Posteriormente se deja remojar a temperatura ambiente durante toda la noche en su mismo licor de cocción. Al día siguiente se drena el nejayote o solución alcalina y se lava el maíz dos veces. El nixtamal lavado se muele en un metate y después en un molino manual de tornillo sinfín. Durante la molienda el nixtamal se tritura hasta formar partículas finas y gruesas. El granulado obtenido se hidrata y forma una masa plástica que es la base para la manufactura de tortillas y de otros productos nixtamalizados (Gravioto, 1945).



Fuente: Gravioto, (1945)

Figura 2. Diagrama tecnológico de nixtamalización tradicional.

Éste trabajo pretendía utilizar la nixtamalización tradicional para procesar las muestras. Sin embargo carece de parámetros cualitativos reproducibles y repetibles, por esa razón y porque las metodologías experimentales requieren harinas de maíz nixtamalizadas,

hacemos uso de los parámetros del proceso tecnológico de elaboración de harinas que propuso Serna-Saldívar. (1988) y que se describe en seguida.

1.6 Descripción del proceso tecnológico de elaboración de harinas de maíz.

Limpieza: Durante esta etapa el grano se hace pasar por una criba móvil de 4.0 mm para eliminar basura y productos extraños, polvo, etc.

Selección: Se realiza en una criba de 8.0 mm para seleccionar granos de tamaño homogéneo, se eliminan granos picados, rotos y dañados por plaga.

Cocción: Los granos de maíz se exponen a tratamiento térmico-alcalino, con temperaturas superiores a 70 °C (en algunos lugares hasta temperatura de ebullición). Las características químicas de la solución alcalina durante la cocción deben ser tales que la concentración de cal siempre exceda el punto de saturación del hidróxido de calcio. Las concentraciones empleadas durante el proceso están dentro del rango de 0.5 a 2.0 % con un pH inicial de 12.4. El grano de maíz se considera cocido cuando el pericarpio se desprende con facilidad del grano frotándolo con los dedos, se suspende el calentamiento y concluye la etapa de cocción. El pH residual del licor de cocción (nejayote) debe ser aproximadamente de 11. Existen dos formas de realizar la cocción: puede iniciar desde temperatura ambiente, en ese momento se le agrega el álcali, el maíz y el agua, o bien puede iniciar el calentamiento del agua a temperatura ambiente y agregarse el maíz y el hidróxido de calcio, una vez que alcanza la temperatura establecida previamente para cocer el grano de maíz. Esto se define en dependencia con las costumbres del lugar o de la familia que procesa el grano. Durante la etapa de cocimiento el maíz se mezcla, para homogenizar el licor de cocción y los sólidos que tienden a sedimentarse, durante un periodo de 20 segundos cada 10 minutos (Trejo-González *et al.*, 1982) .

Reposo: En esta etapa, ya sin el calentamiento, se deja reposar el grano en su medio de cocción (nejayote), en el mismo reservorio con la solución caliente, por un tiempo que varía de 3-16 horas de acuerdo con la región geográfica o lo que establezca el operario. Aquí ya no se mezcla el nejayote con los granos, la temperatura va descendiendo poco a poco. Al conjunto de granos hidratados y reposados se le conoce como nixtamal. A simple vista se puede observar que la solución va cambiando su viscosidad y su color, debido a los sólidos que se han desprendido de los granos de maíz. La mayoría de los investigadores coinciden en que en esta etapa se promueven los principales cambios al maíz, porque el agua y los iones de calcio han penetrado al interior del grano y hay una importante pérdida de estructuras como son el endospermo y el germen (Bello *et al.*,

2002; Fernández *et al.*, 2002; Trejo-González *et al.*, 1982). La humedad de los granos de maíz se establece en un rango de 54-56 % en base a recomendaciones reportadas en la literatura (Bressani *et al.*, 2001; Gómez *et al.*, 1989).

Drenado: Esta etapa de eliminación del licor se realiza en un colador durante 10 minutos para eliminar el líquido sobrenadante o nejayote, que tiene un pH aproximado de 11; aquí se presenta una pérdida importante de materia porque se eliminan fracciones de pericarpio, calcio, fracciones de germen y endospermo periférico (Pflugfelder *et al.*, 1988^b).

Lavado: Generalmente se realizan dos lavados con un volumen de agua que también es muy variable, y va a depender del lugar de donde se procese. Su función es eliminar el exceso de calcio y disminuir el pH del grano. El agua del último lavado deberá tener un pH aproximado de 8.5 en aguas residuales, de otra manera ocasiona un mal sabor en los productos elaborados. La cantidad de agua utilizada va desde 2 litros por kilogramo de maíz hasta 4 litros por cada uno de los lavados. Las condiciones de lavado son muy importantes dado que el nixtamal (grano tratado) está más hidratado, dependiendo del tiempo en que ha reposado. Así mismo gran parte del pericarpio se ha degradado.

Molienda: El nixtamal ya lavado se lleva a una molienda en húmedo en un molino de discos de piedras con una distancia de abertura entre ellas de 3 mm, donde una de las piedras está fija y la otra gira para triturar el material, el que por fricción genera energía, aumentando considerablemente la temperatura y produciendo gelatinización de los gránulos de almidón. Se obtiene un granulado que al hidratarse y manipularse produce una masa compuesta de germen, fragmentos de pericarpio, partículas de endospermo aglutinados por una mezcla parecida a un pegamento de gránulos de almidón fundidos, hojas de matriz proteica y lípidos emulsificantes (Gómez *et al.*, 1989).

Secado: El granulado se seca en un horno rotatorio a temperaturas que oscilan entre 40 y 45° C, hasta llegar a una humedad de 12 %.

Molienda: Para obtener harinas instantáneas, el granulado se vuelve a moler en un molino de martillos (pulvex), donde el 60 % del material obtenido debe retenerse en un tamiz 70 USA para darle usos en una gran variedad de alimentos y posteriormente se envasa en papel y se almacena.

A pesar de que el maíz, durante el proceso, pierde proteína, fibra, grasas y vitaminas, su calidad nutritiva es mayor que la de la materia prima. Cabe subrayar que gracias a este proceso un amplio sector de la población mexicana satisface sus necesidades diarias de

calcio, carbohidratos y proteínas sobre todo en zonas marginadas de nuestro país (Serna-Saldívar *et al.*, 1988).

1.7 Cambios físicos y químicos durante la nixtamalización del maíz

Cada una de las estructuras mayoritarias del maíz es afectada de distinta forma, puesto que sus componentes químicos interactúan por mecanismos diferentes con el calcio, como a continuación se describe: durante la cocción y el reposo en el pericarpio hay absorción de agua, suavizando y ablandando tejidos celulares, provocando el hinchamiento y por tanto un cambio de volumen del grano (Bakshi y Singh, 1980). El álcali actúa sobre los componentes de la pared celular modificándola y degradándola, cambia la permeabilidad del pericarpio facilitando la entrada del agua y de la solución alcalina hasta que la estructura se percola. Cuando se degrada el pericarpio, primero se presenta la disolución de sólidos solubles como son las gomas de la capa más externa del pericarpio, después las fracciones de hemicelulosa y lignina se desprenden, estos sólidos insolubles se depositan en el nejayote, modificando su viscosidad al formarse una suspensión, que con el tiempo sedimenta fracciones de calcio y de otros componentes del grano. Los grupos ácidos urónicos de la hemicelulosa son neutralizados por el hidróxido de calcio, se retiene calcio en forma de sales con el ácido poliurónico enlazados con grupos fenólicos derivados de la lignina, los cuales se oxidan en el medio básico, otorgándole un color no deseable a los productos tratados (González *et al.*, 2004^a; Serna-Saldívar *et al.*, 1988). Una alta concentración de calcio forma compuestos amarillentos, la intensidad del color está relacionada con los pigmentos carotenoides y flavonoides (Rooney y Almeida-Domínguez, 1995).

Al hincharse el grano y procesarse se afecta a la matriz fibrosa formada de hemicelulosa-lignina. Por último hay una lixiviación parcial del pericarpio en el nejayote, licor donde se llevó a cabo la cocción, por lo tanto existe una pérdida importante de materia que incluye fracciones de componentes estructurales del maíz, pericarpio, germen, endospermo, fibra dietética, carotenoides y calcio. Las pérdidas de materia pueden variar de 1.08 hasta 6.55 % en peso en el grano, dependiendo de la temperatura en que se coció el grano, de la concentración inicial de hidróxido de calcio, del tiempo en que reposa el grano en su solución, de la variedad de maíz y de la técnica de lavado utilizada (González *et al.*, 2004^a; Sahai *et al.*, 2002^b; Serna-Saldívar *et al.*, 1990; Zazueta *et al.*, 2002). Se ha reportado que el pericarpio es la estructura que retiene la mayor cantidad de calcio, sin embargo representa una fracción muy pequeña del total del grano. Una parte de esta

estructura, junto con el calcio quedan en el nejayote durante la etapa de reposo del proceso y finalmente son eliminados durante la etapa de drenado.

Durante la nixtamalización las proteínas de más bajo peso molecular, localizadas en el germen, alteran los patrones de solubilidad y parcialmente pasan una parte al nejayote. Otro de los componentes del germen más susceptibles a sufrir transformaciones durante el proceso de nixtamalización y que al mismo tiempo pueden fijar calcio, son los lípidos.

En un medio alcalino como en la nixtamalización ocurre la hidrólisis de las grasas a través del mecanismo conocido como saponificación, es decir la formación de sales de ácidos grasos y glicerina. Se ha reportado que el germen retiene 4 veces más calcio que el endospermo, la razón calcio-fósforo se incrementa significativamente, lo cual favorece el valor nutricional de la tortilla y se acerca a la proporción requerida 1:1 de estos macro elementos (Figuroa *et al.*, 2001; Figuroa *et al.*, 2003; González *et al.*, 2004^b).

En el endospermo se presentan gránulos de almidón que pueden estar parcialmente gelatinizados, sin gelatinizar o bien completamente gelatinizados. Estos cambios suceden durante la nixtamalización del maíz en sus etapas de cocimiento, reposo y molienda. El almidón de maíz inicia la gelatinización a una temperatura de 68 °C (Bello *et al.*, 2002).

Los gránulos gelatinizados funcionan como pegamento en la masa. El pericarpio remanente, que ha sido transformado en gomas solubles, es el componente que da cohesividad a la masa; el pH alcalino y el calor provocan rompimientos de algunos puentes de hidrógeno, además de la disociación de los grupos hidroxilo en las unidades de glucosa de las cadenas de amilosa y de amilopectina, lo que lleva a obtener polímeros con una carga negativa y que puede formar puentes de calcio, formándose una red continua que permite que la masa desarrolle flexibilidad, con lo que disminuye la retrogradación del almidón (Bello *et al.*, 2002) Un almidón completamente gelatinizado durante el proceso es ocasionado por un tiempo de cocimiento excesivo y producen masas pegajosas, que son difíciles de manejar. Por otro lado, tiempos de cocimientos menores producen masas que no presentarán la característica de cohesividad. Se libera niacina y se disuelve parte de las proteínas que rodean a los gránulos de almidón que están contenidas en forma de cuerpos proteicos discretos en una lámina o matriz (Fernández-Muñoz *et al.*, 2002).

La proteína prolamina, o zeína, es típica en esta zona, tiene poca solubilidad en agua y sus puentes disulfuro no se rompen en condiciones alcalinas, lo cual puede explicar que esta proteína no es determinante para que desarrolle la flexibilidad (Badui, 1993). En cuanto a las proteínas, hay una desnaturalización, particularmente en las glutelinas, lo

que las hace más digeribles; el tratamiento térmico–alcalino acrecienta también la disponibilidad biológica de la lisina y el triptófano, dado que la mayor parte de estos aminoácidos esenciales están contenidos en la fracción de glutelinas.

La susceptibilidad enzimática del almidón se incrementa ligeramente conforme se va cocinando el maíz con la cal, pero el mayor incremento se presenta durante la molienda y en el horneado. Por otro lado, el pH de las cadenas de glucosa de la amilosa y la amilopectina aumenta, lo que ayuda a ser más lenta la retrogradación (recristalización del almidón) y a mantener las tortillas frescas. Han sido examinados los gránulos de almidón en microscopio con luz polarizada y la mayoría de ellos exhiben una birrefringencia, sin embargo la cruz de malta es menos clara y más ancha que la de los gránulos de almidón naturales. Así pues, la estructura del gránulo de almidón nativo se descompone parcialmente durante la cocción del maíz, lo cual queda confirmado por alteraciones en la cristalinidad según un patrón de rayos X establecido, es decir menos organizado comparado con el maíz crudo o nativo. No obstante las alteraciones en la cristalinidad del almidón ocasionada por la cocción, se restaura parcialmente por una recristalización o recocido durante el remojo. La reasociación de las moléculas de almidón puede afectar en forma considerable las propiedades reológicas subsecuentes de los productos elaborados con la masa obtenida del proceso de nixtamalización (Gómez *et al.* 1991).

Durante el proceso de nixtamalización tradicional, también en el endospermo se saponifican los lípidos presentes en la periferia, en la capa de la aleurona, formando sales de calcio con los ácidos grasos. Esta presencia de sales disminuye la temperatura a la cual inicia la gelatinización. Hay un hinchamiento de las regiones amorfas (amilosa) del almidón, debido a la difusión y absorción de agua, luego una ruptura de las estructuras granulares debido a la hidratación a medida que también aumenta la gelatinización, después ocurre una disolución de las moléculas de amilosa. Se forman compuestos de inclusión con ácidos grasos y la amilosa gelatinizada se cristaliza como amilosa tipo V, el progresivo hinchamiento de los gránulos de almidón produce la desintegración total de la estructura granular, este desorden estructural genera la exudación de la amilosa, ocasionando la gelación (Bryant y Hamaker, 1997; Rooney y Almeida-Domínguez, 1995). En este complejo sistema disperso que se formó dentro del endospermo, la reasociación de la amilosa y la amilopectina depende del tiempo y de la temperatura, lo que constantemente repercute en el cambio del contenido y la distribución del agua. Esto se refleja en las propiedades reológicas y texturales de los productos elaborados a partir de masa o harina lo que se le llama capacidad de absorción de agua; por lo tanto, la

distribución uniforme de agua en el nixtamal se consigue durante la etapa de reposo que es cuando ha llegado mayor cantidad de agua a las primeras capas del endospermo y se ha generalizado el fenómeno de gelatinización (Biliaderis,1990; Biliaderis, 1991).

Durante la molienda húmeda del nixtamal para producir masa, los gránulos de almidón también se gelatinizan debido a la fricción que se genera en las dos piedras moledoras. En algunos casos la molienda puede incrementar la temperatura de la masa en un rango de 26 a 52 °C. Aproximadamente del 4 al 7 % de los gránulos de almidón pierden completamente la birrefringencia durante la cocción con cal, el reposo y la molienda. Muchos de los gránulos de almidón tienen una forma irregular y con frecuencia sólo parte (menos del 60 a 70 %) de un gránulo individual presenta birrefringencia. Estos cambios pequeños pero importantes en la fracción del almidón de maíz modifican las propiedades de pasta del almidón, promueve que exista una masa con características reológicas y mecánicas necesarias para ser manejable por un operario o por un equipo a nivel semi o industrial (Biliaderis *et al.*,1986).

El 5-9 % del almidón gelatinizado forma el pegamento que ayuda a que exista una red continua entre los gránulos de almidón libres y el resto de los componentes que forman la masa, puesto que muchos gránulos no han sido afectados (Bello *et al.*, 2002).

La mayor parte de la birrefringencia y la cristalinidad del almidón se pierden cuando los discos de masa son cocidos para formar tortillas. La combinación de calor (280 a 310 °C) y un alto contenido de humedad (52 a 54 %) facilitan una mayor gelatinización del almidón. Sin embargo aún continúan gelatinizándose en el corto tiempo de cocido de las tortillas (20 a 40 segundos), el resultado de estos cambios es una típica tortilla con una textura semiplástica y plegable. El color de la tortilla puede mejorarse mediante las reacciones de Maillard que se presentan mientras se reducen los azúcares, los péptidos y los ácidos grasos insaturados. Por otro lado al freír las tortillas, la humedad se evapora, siendo sustituida por aceite y los gránulos de almidón pierden por completo lo que les quedaba de birrefringencia y cristalinidad. Los geles de almidón son menos del 5% de gránulos birrefringentes y con un patrón amorfo de rayos X (Khan *et al.*, 1982; Rooney y Almeida-Domínguez, 1995; Serna-Saldívar *et al.*, 1993).

El uso de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ es fundamental para conseguir las propiedades mencionadas en las masas. Con otros álcalis como hidróxido de sodio ó potasio que contienen iones monovalentes, no se obtienen buenos resultados en cuanto a propiedades plásticas de la tortilla y de otros productos (Badui, 1993; Fenema, 2000; Trejo-González *et al.*,1982).

Durante las etapas críticas de cocción y reposo del proceso de nixtamalización tradicional, los cambios físicos que se provocan en el maíz facilitan la molienda y con eso un menor gasto de energía en los molinos, porque se suaviza el grano por la entrada de agua y la difusión de iones de calcio. Esto promueve cambios químicos como ya se mencionó, la desnaturalización de las proteínas del germen, del endospermo y de la matriz proteica, así como la gelatinización del almidón, lo que da como resultado un producto o masa obtenida fácil de manipular (Pflugfelder *et al.*, 1988^a).

Una adecuada hidratación de los componentes del maíz, un cuidadoso perfil térmico y una buena técnica de lavado van a proporcionarle las características reológicas necesarias a la masa como son viscosidad, pegosidad, cohesión, elasticidad, etc., y muchos de estos cambios tienen una marcada influencia sobre las propiedades texturales de los productos finales como son la rollabilidad de la tortilla, textura, color, olor y sabor, entre otros (Bello *et al.*, 2002).

La nixtamalización favorece algunos parámetros nutricionales de este cereal y afecta otros. Entre los efectos negativos de la nixtamalización se encuentran la pérdida de vitaminas que van desde un 30 hasta un 70 %; durante la cocción, reposo y lavado de maíz. Se pierde tiamina, carotenoides, proteínas, grasas, minerales y parte de la fibra dietética localizada en el pericarpio que es muy importante para darle propiedades mecánicas a la masa y necesaria para la digestión en el organismo humano.

Entre los efectos positivos de la nixtamalización puede citarse, además del mejoramiento de las características reológicas, un aumento en la relación isoleucina-leucina, que son dos aminoácidos indispensables en la alimentación humana. Durante la cocción alcalina se rompe la ligadura de niacina a la estructura del grano y este importante nutriente se hace biodisponible. Este hecho se ha empleado para explicar la ausencia de la enfermedad conocida como Pelagra en los pueblos prehispánicos que emplearon éste método para el proceso de maíz. La nixtamalización es responsable también de la disminución de contaminación por micotoxinas como fumonisinas (producidas por varias especies de hongos *Fusarium*) y de la reducción significativa de los contenidos de aflatoxinas (agentes tóxicos y hepatocarcinogénicos, producidos por los hongos *Aspergillus parasiticus* y *A. flavus*) (Bressani *et al.*, 2001).

Existe también un notable incremento de calcio en el maíz nixtamalizado, unas 20 veces mayor que el no tratado; éste macroelemento es indispensable en la nutrición humana, que además es la única fuente de este mineral en zonas marginadas, donde una insuficiente ingestión puede dar lugar a raquitismo, osteomalacia, osteoporosis, cáncer de

colon y de la glándula mamaria, así como hipertensión arterial, además de que es un constituyente fundamental de los huesos y dientes. Por otro lado el calcio iónico participa en funciones tales como relajación-contracción del corazón, contracción muscular, coagulación sanguínea, entre otras (Oceguera , 1999; Ortega *et al.*, 1991).

1.8 Difusión de calcio en el grano de maíz durante la nixtamalización

Cuando un material ya sea gas, líquido o sólido, contiene dos o mas componentes que pueden desplazarse y cuyas concentraciones varían de un punto a otro, se presenta como transferencia de masa. Ésta es una tendencia natural para que cualquier soluto se difunda desde la región de alta concentración a la de baja concentración. Tendencia que depende de la naturaleza de la mezcla, es decir del coeficiente de difusión.

El transporte de masa puede ocurrir por difusión o por convección, la convección es un mecanismo originado por el movimiento masivo (macroscópico) de un fluido y puede ser forzada o natural. La difusión en cambio es un proceso provocado por un gradiente de concentración; a diferencia del mecanismo anterior este es muy lento. Además, la difusión puede ser un fenómeno puramente físico o incluir la disolución de alguno de los materiales, seguida por una reacción química con uno o mas constituyentes en la solución o en el mismo sistema donde se está presentando el mecanismo (Perry y *Chilton*, 1996).

Si deseamos conocer mas a fondo el fenómeno de difusión, para controlarlo y manipularlo con fines útiles, es necesario analizarlo más allá de las apariencias. Un primer enfoque requeriría tener una representación del mecanismo en el cual el movimiento de los átomos o de las moléculas es una consideración básica. Otro posible enfoque nos llevaría a no tomar en cuenta el mecanismo real por el cual se transportan los átomos o moléculas, sino a ver los fluidos o sólidos como un sistema continuo y no como partículas individuales. La descripción a nivel molecular nos conduce a un modelo que podemos denominar **fundamental**, en tanto que a la descripción como un continuo, nos lleva a considerar un tipo de modelo **fenomenológico**, en el que solo importa cuantificar el fenómeno y no sus causas fundamentales (Lobo, 1997).

El maíz es un alimento que tiene relativamente baja humedad, por lo tanto puede considerarse como un material sólido. Durante el proceso de nixtamalización es sometido a varias operaciones unitarias, donde se lleva a cabo transferencia de calor y de masa, el grano de maíz se encuentra inmerso en su licor de cocción, una solución de agua e hidróxido de calcio calculada en base al peso de maíz que se procesa. Así se inicia la cocción, con temperaturas mayores de 70 °C. A medida que transcurre el tiempo la

solución se satura, dependiendo de la temperatura en que se procese siendo de 0.15 g/l a temperatura ambiente (Trejo-González *et al.*, 1982) y de 0.77g/l a 100 °C (Zazueta *et al.*, 2002). Una parte del hidróxido de calcio se disocia en el agua para dar iones divalentes de calcio, hidroxilos, así como hidróxido de calcio sin disociar, todos ellos van a difundir al grano de maíz en función de la temperatura.

La primera estructura de maíz en contacto con el licor o nejayote es el pericarpio ésta es una delgada película impermeable al agua; al transcurrir el tiempo, empiezan a disolverse los sólidos solubles, las pectinas y almidones presentes en el pericarpio durante la cocción, habiendo cambios significativos a nivel local que modifican la permeabilidad de la estructura, la que a su vez permitirá la entrada de agua y calcio. Las hemicelulosas presentes que se encuentran formando la matriz con celulosa y lignina, son afectadas por efecto de la elevada temperatura y el álcali. Sus ácidos urónicos localizados en su cadena principal son neutralizados, fijándose calcio (González *et al.*, 2004^a).

En la figura 3 se muestra un modelo propuesto en este trabajo de la degradación del pericarpio durante el proceso de nixtamalización.

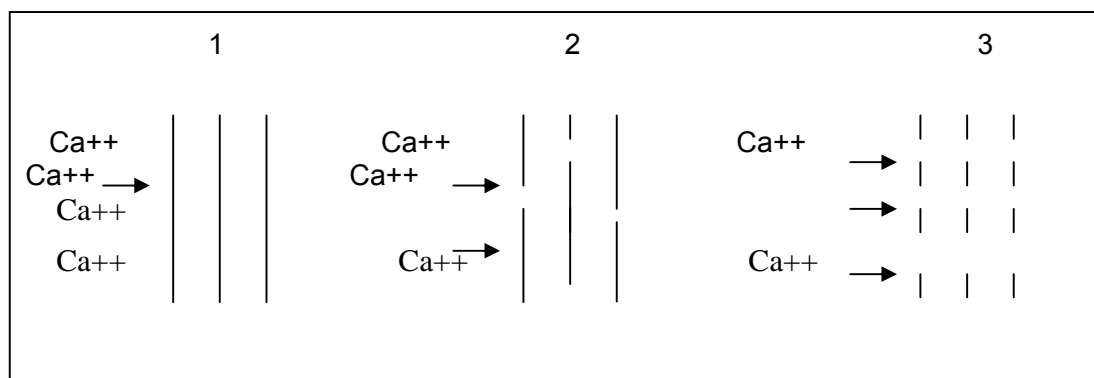


Figura 3 . Modelo del mecanismo de degradación del pericarpio en el maíz durante el proceso de nixtamalización.

En éste modelo hipotéticamente se piensa que el pericarpio se va poco a poco percolando, hasta que se desprende del grano y deja de ser una barrera que delimita al grano. Como va gradualmente presentando daños físicos que favorecen la entrada masiva de calcio y agua a las estructuras internas del cereal (capa de aleurona, germen y endospermo). Al transcurrir el tiempo, aumenta la degradación física y los sólidos desprendidos, los que se conocen en la literatura como materia seca perdida, finalmente se pierden sólidos no solubles los cuales quedan en el licor de cocción o nejayote. También se van perdiendo fracciones de la estructura y con ella un porcentaje de calcio,

que ya se había fijado durante la cocción. Después, durante la etapa de reposo donde se suspende el calentamiento y se deja el grano en su medio de cobertura, se sigue dando la difusión de calcio y agua al interior del grano hacia las otras estructuras mayoritarias, germen y endospermo, una vez percolado el pericarpio. Lo anterior significa que el estado del sistema vuelve a cambiar, ahora la difusión de iones de calcio tendrá otra velocidad y otro mecanismo de fijación con los componentes químicos propios de cada estructura.

Del calcio total empleado en la nixtamalización, solamente una pequeña fracción es retenida en el grano durante la cocción y el reposo, otra se queda en el nejayote y el resto se elimina durante el drenado y los dos lavados sucesivos (Trejo-González *et al.*, 1982).

El mecanismo de difusión se presenta de manera casi simultánea en el germen y en el endospermo una vez dañado el pericarpio; sin embargo, la forma en que se fija el calcio es diferente, depende de la interacción química con los componentes de cada parte del grano. Es por eso que no se puede considerar como homogéneo, sino como un sistema multicapa, que constantemente está en estado transitorio. Por lo anterior se presenta como la necesidad de realizar estudios a cada estructura (Fernández *et al.*, 2004).

También se presenta una saponificación de los lípidos localizados en la capa de aleurona al mismo tiempo que se fija calcio en el endospermo como compuestos de inclusión molecular dentro del almidón (Bakshi y Singh, 1980; Godet *et al.*, 1993; González *et al.*, 2004^a). Probablemente el calcio pudiera tener alguna interacción con las proteínas, lo cual no se ha reportado hasta el momento en las publicaciones relacionadas con este tema.

La degradación del pericarpio acontece en un tiempo largo que se mide en horas de tal forma que no es despreciable de ningún modo desde el punto de vista del mecanismo de difusión y menos desde el punto de vista nutricional, pues ahí se fija una cantidad considerable de calcio, que puede perderse en exceso con una técnica inadecuada de lavado (Zazueta *et al.*, 2002). Fernández *et al.* (2002), consideran que la cinética de difusión de calcio en el maíz nixtamalizado tiene un tiempo crítico, donde se pierde la mayor parte del pericarpio por el lavado.

Capítulo 2
METOGOLOGÍA

Para llegar a la solución del problema, en donde se plantea como influyen las condiciones de proceso sobre los cambios físicos del pericarpio de maíz durante la nixtamalización y su efecto en la difusión de calcio al interior del grano, se formuló el siguiente objetivo general, que se ha desglosado en cuatro objetivos particulares.

1.- OBJETIVOS

Objetivo General

Conocer y evaluar los cambios físicos en el pericarpio de maíz con alta calidad proteica (QPM-H368C), provocada por el tratamiento térmico-alkalino manejado a diferentes condiciones de proceso, mediante el análisis de la degradación de esta estructura a través del tiempo, para justificar como influyen en la difusión de calcio al interior del grano.

Objetivos Particulares

I.- Conocer la concentración de calcio en el grano total y en el pericarpio de maíz, determinando el calcio residual después de someterlos a tratamiento térmico-alkalino a distintas temperaturas y tiempos de reposo, para establecer la tendencia a la fijación de iones calcio a diferentes condiciones de proceso.

II.- Observar por microscopía electrónica de barrido de bajo vacío (SEM-LV) granos de maíz nixtamalizados, describiendo y analizando cambios en los pericarpios obtenidos a diferentes tiempos de reposo, para realizar un análisis comparativo de la degradación de esta estructura durante el proceso y explicar el mecanismo de difusión de calcio.

III.- Reproducir la etapa de cocción del proceso de nixtamalización, en un sistema prototipo celda fotoacústica diferencial, obteniendo cambios "*in-situ*" en el pericarpio de maíz estimulados durante el tratamiento térmico-alkalino a diferentes temperaturas, para relacionarlos con las transformaciones físicas de esta estructura.

IV.- Determinar el grado de cristalinidad del pericarpio de maíz, obteniendo difractogramas de rayos X en el pericarpio separado de granos tratados durante la nixtamalización, para establecer cambios estructurales e identificar formación de compuestos de calcio.

METODOLOGÍA

2.- DESARROLLO EXPERIMENTAL

Los procedimientos experimentales se resumen en el cuadro metodológico de la figura 4, el cual fue el mapa a seguir durante el trabajo experimental. El cuadro contiene la descripción del problema, objetivos, variables, actividades preliminares, actividades a desarrollar, incluyendo la evaluación de las muestras obtenidas.

Considérese a este cuadro como la organización racional y congruente de la descripción de actividades correspondientes para lograr el alcance de los objetivos, los instrumentos utilizados, condiciones de trabajo, técnicas experimentales y de evaluación de las muestras obtenidas en los diferentes objetivos particulares.

En cuanto a su estructura y secuencia metodológica, el cuadro se dividió en tres etapas que se relacionan entre sí, las cuales fueron jerarquizadas con el fin de establecer prioridad a las actividades de mayor importancia y de las que pueden realizarse de manera simultánea.

Etapas en que se dividió el cuadro metodológico:

Etapa 1: Actividades preliminares

Etapa 2: Preparación de las muestras

Etapa 3: Descripción de actividades por objetivo

Las actividades experimentales desarrolladas en el trabajo se esquematizaron en el cuadro para facilitar la ejecución de la parte experimental y para proyectar el trabajo conjunto, así como las relaciones que existen en las actividades que sustentan el proyecto

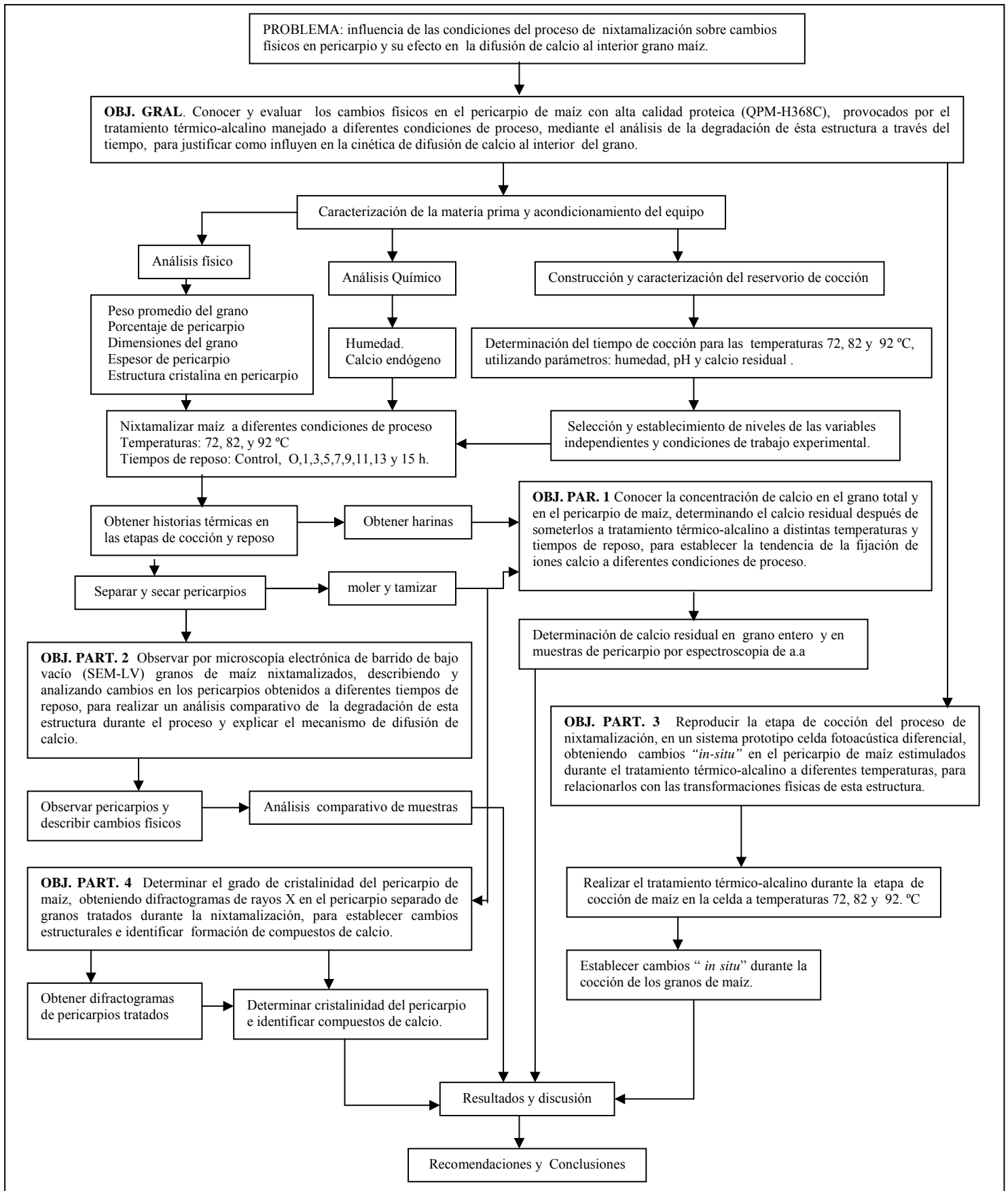


Figura 4. Cuadro metodológico del desarrollo experimental.

Etapa 1

2 Descripción de actividades preliminares:

Las actividades preliminares que se ilustran en el cuadro metodológico de la figura 4,, pertenecen a la primera etapa donde se contempló: la caracterización de la materia prima, el acondicionamiento del equipo, la determinación del tiempo de cocción del grano, el desarrollo del experimento piloto, fijar los niveles de las variables independientes a estudiar y finalmente el establecimiento de condiciones de trabajo.

2.1 Caracterización de la materia prima

El maíz QPM-H368C, fue proporcionado por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Delegación Bajío, ubicado en Celaya, estado de Guanajuato. Esta variedad es un híbrido de alta calidad proteica (QPM). Obtenido a partir del desarrollo de versiones con el gen opaco, pero con fenotipo normal o cristalino donde se obtienen poblaciones con endospermo modificado.

La caracterización de la materia prima se realizó para conocer las características del grano de maíz sin haber sido procesado (crudo), para poder definir los objetivos particulares y para compararse con los cambios físicos que le provoca el tratamiento térmico-alcálico a los granos de maíz a diferentes condiciones de proceso.

2.1.1 Análisis Físico

2.1.1.1 Peso promedio:

Dado que es necesario el conocimiento del peso de maíz para homogenizar cantidad de granos, se cuantificaron 1000 granos, registrando su peso en una balanza analítica. Se realizó por triplicado y se calculó el valor promedio de los datos.

2.1.1.2 Porcentaje de pericarpio

Las variedades QPM son granos que han sido modificados, la cantidad de pericarpio presente en el grano es variable, es necesario conocer el porcentaje de la estructura, ya que durante el tratamiento térmico-alcálico esta estructura se degrada y hay una pérdida de materiales que puede cuantificarse con un balance de materia, a partir de la cantidad de pericarpio disponible del grano crudo, con respecto al grano tratado.

La determinación de la distribución ponderal de las principales estructuras anatómicas del maíz se realizó en granos individuales, se aprovechó la actividad también para conocer

el porcentaje real de cada estructura en el grano (cofia, pericarpio, germen y endospermo). Se llevó a cabo en 100 granos de maíz íntegros, hidratándolos con 50 ml de agua destilada por 40 minutos, después se drenó el agua, los componentes anatómicos del maíz se separaron manualmente, secándose a temperatura ambiente por 24 horas; los granos y sus componentes fueron pesados individualmente en una balanza analítica calibrada. Para obtener el porcentaje real, se calculó el valor promedio de los datos y su desviación estándar.

2.1.1.3 Dimensiones de los granos

Los granos de maíz QPM son de menores dimensiones que las variedades comunes (Serna-Saldívar *et al.*, 1996); esto representa una ventaja, porque las superficies menores se deterioran menos que las superficies de granos grandes. La determinación de dimensiones fue necesaria para posteriormente elegir un posible elemento de volumen que pueda representar al grano de maíz.

La medición se realizó en muestras de 100 granos de maíz retenidos en un tamiz de abertura 8.0 mm, utilizando un vernier digital para semilla. Se midieron las dimensiones de largo, ancho y espesor de los granos. Se calculó el valor promedio y desviación estándar.

2.1.1.4 Espesor del pericarpio en maíz crudo

El conocimiento del espesor puede resultar un parámetro importante para evaluar cambios físicos por efecto de la temperatura en la etapa de cocción durante el proceso de nixtamalización; así como para establecer condiciones de frontera en el mecanismo de difusión durante la cocción y el reposo de los granos de maíz. La determinación del espesor también sirve para establecer la profundidad a la que debe penetrar el rayo láser, que se requiere solamente incida en el pericarpio, en la evaluación de la técnica fotoacústica diferencial .

Una vez separados los pericarpios de granos crudos, éstos se colocaron en un porta objeto y se adhirieron con cinta de carbón, se utilizaron para realizar mediciones del espesor de pericarpio. Las muestras se fueron rotando, moviendo su posición de enfoque en el microscopio en una misma muestra, para obtener lecturas de espesor en 25 diferentes zonas. Esta actividad se desarrolló en 5 muestras en un microscopio electrónico de barrido de bajo vacío modelo JEOL JSU-5600 LV.

Se calculó el valor promedio y la desviación estándar de todas las mediciones obtenidas para el espesor de pericarpio.

2.1.1.5 Cristalinidad del pericarpio de maíz crudo

Durante la nixtamalización hay cambios de estructura y formación de compuestos de calcio, que pueden ser conocidos mediante la técnica de rayos X; es necesario partir de las características estructurales del pericarpio de granos sin tratamiento, para tenerlo como base y posteriormente compararlo con pericarpios tratados.

El pericarpio obtenido de granos crudos, una vez seco se molió y se tamizó en un juego de mallas 60 y 70 serie USA. La parte retenida en malla 70 se utilizó para hacer las determinaciones en un equipo de rayos X.

Se colocó una muestra de 1.0 g, utilizando el método de Rodríguez *et al.*(1996). La difracción de rayos X, se realizó en un difractómetro (Siemens D 5000) operando a 35 kv y 15 mA, con una radiación de $\text{CuK}\alpha$, con longitud de onda $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$. Éstos datos fueron recolectados de 4 a 30 ° en la escala de 2θ , los difractogramas se realizaron por triplicado.

2.1.2 Análisis Químico

2.1.2.1 Humedad

El análisis químico del maíz QPM–H368C crudo se realizó únicamente para humedad de acuerdo con las metodologías descritas por la AOAC (2000).

La determinación fue necesaria dado que es un parámetro cuantitativo para establecer el tiempo de cocción de los granos de maíz y se realizó por triplicado.

2.1.2.2 Calcio endógeno

La determinación de calcio endógeno es importante para conocer su concentración de calcio en el grano crudo. la fijación de calcio residual en granos de maíz procesado debe plantearse a partir del calcio endógeno. Esta actividad se realizó por espectrofotometría de absorción atómica para muestras de pericarpio crudo, de acuerdo al método descrito por Fernández *et al.* (2004).

El aparato está equipado con una lámpara de deuterio con corrector de trasfondo y una lámpara de cátodo hueco para leer calcio. Las condiciones en que se operó el equipo fueron aire (12 psi), acetileno (70 psi), flama 422.7 nm, lámpara de uso corriente 10mA y el corte de ancho 0.7 nm.

Las determinaciones se realizaron en un laboratorio certificado, LAFGA, del instituto de Geografía de la UNAM, para análisis de calcio en materiales, utilizando un microondas

para digerir las muestras, un estándar de 1000 ppm de calcio para preparar la curva de calibración y una referencia certificada corn meal-solid, para establecer el porcentaje de recuperación en un espectrofotómetro modelo AA-110 VARIAN, Las determinaciones se hicieron por triplicado y se obtuvo el promedio de los resultados, así como la desviación estándar (Montgomery, 2003).

2.2 Caracterización y acondicionamiento del equipo

2.2.1 Validación de termopares

Los termopares son instrumentos de medición para temperatura, por lo que debemos asegurarnos que sus mediciones sean lo más confiables posibles. Se estableció un protocolo de validación a cinco termopares utilizando un fluido conocido (agua destilada), considerando como referencia para el cálculo de la exactitud la temperatura de ebullición en el estado de Querétaro, se utilizó un termopar patrón previamente calibrado.

Posteriormente los termopares se fijaron en un recipiente de 8 cm de diámetro, aislado térmicamente. Los termopares fueron distribuidos uno en el centro y los cuatro restantes, en cada uno de los cuadrantes. Se calentó el agua en una parrilla, registrando los datos de temperatura de cada termopar cada minuto, hasta que alcanzó la temperatura de ebullición. Con la finalidad de conocer las desviaciones de cada uno de ellos, se graficaron los datos de temperatura en función del tiempo. Posteriormente se corrigieron los termopares con los valores del termopar patrón, para obtener los valores reales. Estos termopares fueron utilizados para las mediciones de temperatura durante el trabajo experimental para establecer el perfil térmico con que se trató la muestra.

2.2.2 Construcción del reservorio de cocción

Uno de los principales problemas en el proceso de nixtamalización es obtener el perfil de temperaturas durante el tratamiento de las muestras, esto realmente es importante para conocer como se afectará el material. Por esa razón se diseñó un equipo piloto para llevar a cabo pruebas a pequeña escala.

Se construyó un reservorio de cocción: se roló una placa de acero inoxidable de 3/16 de pulgada, considerando que no habría esfuerzos a través del espesor de la pared del recipiente para hacer un cilindro, se utilizó soldadura de acero inoxidable, empleando un arco eléctrico para formar un cilindro de 35 cm de diámetro interno y 50 cm de altura.

El fondo y la tapa del recipiente se cortó de la placa de acero inoxidable y se soldó al cuerpo cilíndrico con el mismo tipo y sistema de soldadura, en la parte superior se le colocó un accesorio para tomarla manualmente. Se perforó un orificio de 3 cm de diámetro interno para dejar fijos los termopares. Por el exterior, en la parte inferior del cilindro se soldaron cuatro resistencias de media luna, como medio de calentamiento, finalmente el recipiente se aisló térmicamente para evitar la transferencia de calor .

2.2.3 Caracterización térmica del reservorio

Con los termopares descritos anteriormente, se llevó a cabo la caracterización térmica del reservorio: Se dividió el área superficial del mismo en cuatro zonas, colocando un termopar en la parte central de cada una de ellas y en el centro del recipiente como lo muestra la figura 5. Este procedimiento se realizó inicialmente con agua y posteriormente con una muestra de maíz, agua y calcio, registrando las temperaturas durante una rampa de calentamiento de 1 hora, con el objeto de conocer el perfil de temperaturas.

Se colocaron los termopares en las mismas posiciones en la parte central de la zona, tomando el registro de temperaturas durante la etapa de cocción en la nixtamalización. Este mismo procedimiento se realizó en otra muestra, pero ahora se colocaron los termopares en la periferia y centro de uno de los granos en cada uno de los cuadrantes.

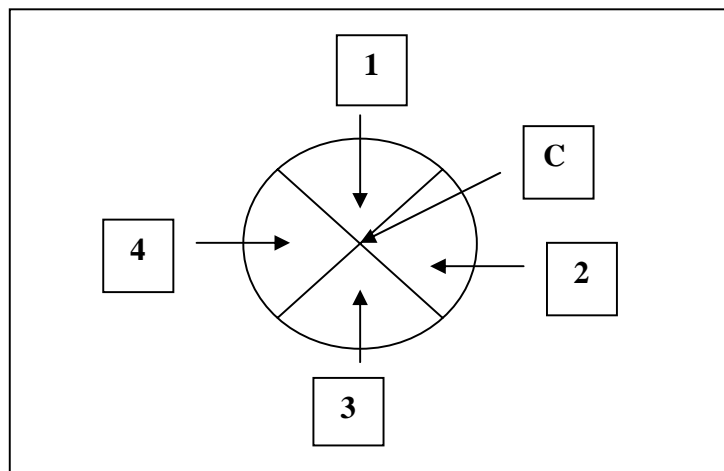


Figura 5. Reservorio y su división en cuadrantes (1,2,3,4 cuadrantes, C el centro).

2.2.4 Instalación de la computadora, programa y termopares

Los termopares se introdujeron y se fijaron perforando la tapa del reservorio de cocción, los cuales se conectaron a su aparato de registros un puerto, RS232, para la captura de datos en una computadora con un programa instalado, el cual efectúa la corrección de temperaturas con el termopar patrón, realizando también el promedio de temperaturas.

El equipo fue diseñado para registrar la historia térmica de cada evento. En la figura 6, se muestra el sistema prototipo completo. **A este conjunto elementos se le ha denominado sistema prototipo de cocción-reposo para la nixtamalización** (se define de esta manera, en virtud de que en este contenedor también se llevará a cabo la etapa de reposo). El equipo puede llevar a cabo el proceso a escala, su capacidad es de 8 kg.

2.2.5 Determinación del tiempo de cocción para las temperaturas

Esta actividad comprende la determinación del tiempo de cocción del grano de maíz para cada temperatura, 72, 82 y 92 °C de la siguiente manera: se colocó en el reservorio de cocción una muestra de maíz de 2 kg, 4 litros de agua y 20 g de hidróxido de calcio. Se programó el sistema a una temperatura de 92 °C, para iniciar la cocción desde la temperatura ambiente. La muestra se mezcló cada 10 minutos, se obtuvieron muestras de 20 gramos cada 5 minutos durante el tiempo de cocción, para la determinación del porcentaje de humedad. Se estableció el porcentaje de humedad como parámetro para considerar que el grano está precocido, lo que deberá alcanzar un rango de 34 a 36 %.

Finalmente, la determinación de la concentración de calcio residual en el pericarpio se realizó en la misma muestra por espectrofotometría de absorción atómica de acuerdo al método descrito por Fernández *et al.* (2004). Para obtener la tendencia de fijación de calcio en el pericarpio durante la etapa de cocción, la cual se realizó a diferentes temperaturas 72, 82, y 92 °C

Una vez registrados valores de humedad cercanos al rango pre-establecido, el muestreo se realizó cada minuto, analizando el valor de la humedad; se midió pH y calcio residual en pericarpio durante esta parte del proceso. Estos parámetros cuantitativos fueron empleados para establecer el tiempo de cocción, correlacionado con el desprendimiento del pericarpio, que se retira de manera manual frotándolo entre los dedos.

Las determinaciones se realizaron por triplicado, se calculó el promedio y la desviación estándar de los datos obtenidos.

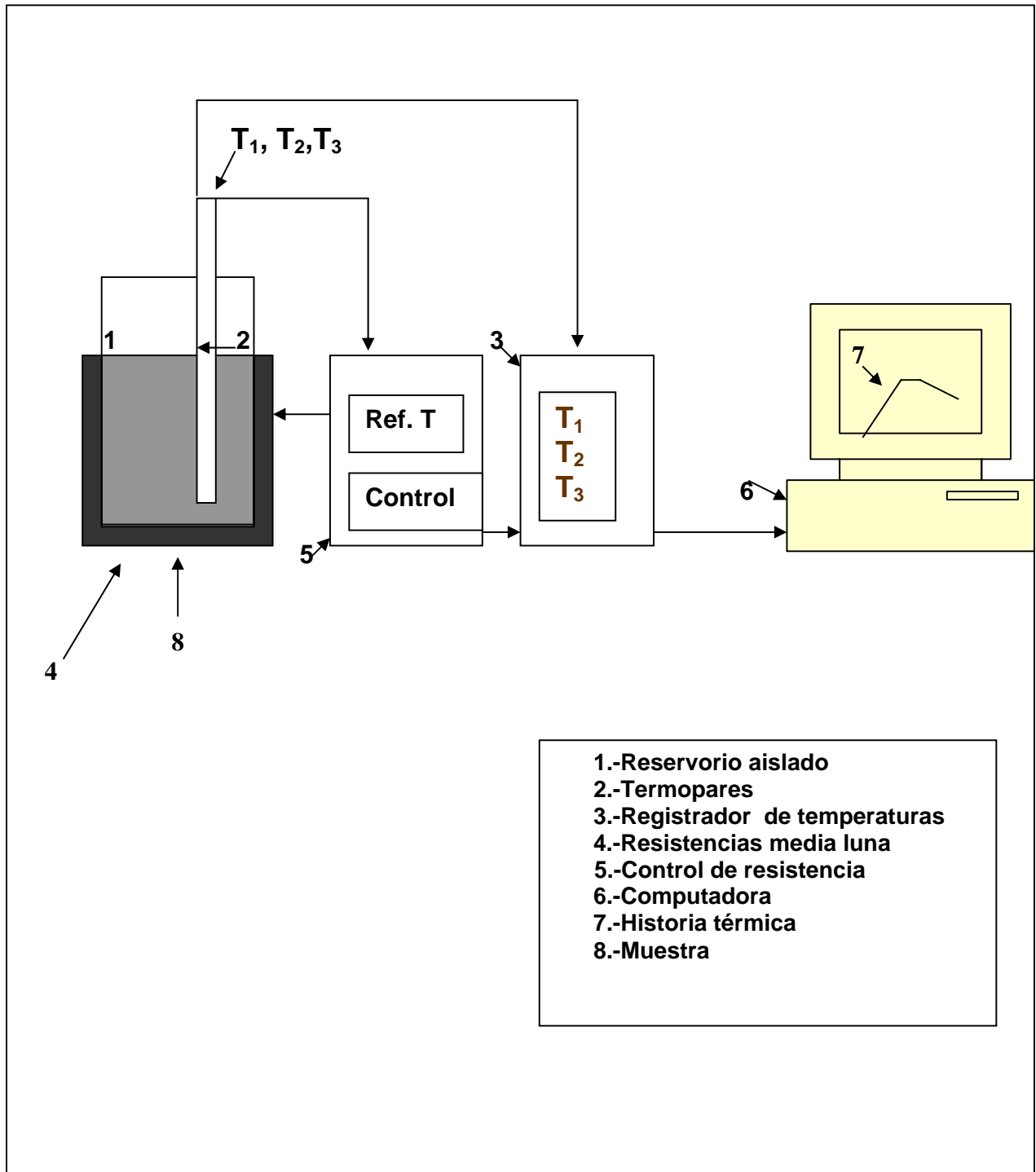


Figura 6. Sistema prototipo de nixtamalización tradicional.

2.2.6 Experimento piloto

Una parte del experimento piloto se realizó en el sistema prototipo de cocción-reposo mostrado en la figura 6. Éste permitió, a la vez caracterizar todos los equipos que se utilizaron en la parte experimental, para el proceso de nixtamalización del grano de maíz objeto de estudio. Al interior del reservorio de cocción se vertieron 4 litros de agua, 2 kg de maíz y 20 g de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ grado alimenticio. Se programó la temperatura deseada para el tiempo de cocción, una vez concluída la etapa de cocción y de reposo de los granos, se drenó el licor de cocción (nejayote) durante 10 minutos, enseguida el maíz se lavó de la siguiente manera: en un contenedor con dos litros de agua (relación 1:1 w/v) se vació el grano drenado, mezclando tres veces con una paleta en forma manual, se eliminó el agua durante un período de 10 minutos drenándola, el mismo procedimiento se repitió para efectuar un segundo lavado.

El nixtamal se trituró en un molino de piedras, que consta de un par de piedras colocadas una frente a la otra, una gira y la otra permanece estática. El grado de la molienda del nixtamal se estableció previamente por la abertura entre las piedras (3mm). El producto obtenido fue un granulado que cuando se hidrata forma una masa para hacer tortillas, en este punto concluye el proceso de nixtamalización tradicional. Sin embargo, debido a que gran parte de las determinaciones se llevaron a cabo en harinas porque así lo especifican las metodologías para la preparación de las muestras, apegándose al proceso tecnológico para fabricación de harinas de maíz que incluye otras dos operaciones unitarias, se secó y molió el granulado obtenido.

El secado se llevó a cabo en un horno de vacío a 40 °C, en este punto el equipo se caracterizó previamente colocando un termopar en cada nivel interno del horno para conocer la temperatura en cada zona. La muestra se retiró del horno cuando alcanzó un 12 % de humedad y se pulverizó en un molino de martillos (pulvex), utilizando un dosificador a la entrada del equipo para no saturarlo y una criba a la salida de 0.5 mm. Finalmente, se obtuvo el análisis granulométrico para conocer su distribución de tamaños con una serie de tamices (30, 40, 60, 70, 80, 100 y plato) en un vibrador rot-tap durante 15 minutos de agitación, para ajustarse a la Norma Oficial Mexicana (NMX-FF-034-1-SCFI-2002), donde se especifica que el 60 % de la muestra deberá estar retenida en la malla 70, serie USA.

2.2.7 Selección de niveles de variables independientes

Se seleccionaron las variables independientes, las cuales se manipularon a lo largo del desarrollo del trabajo experimental, siendo las siguientes:

Variable independiente : **Temperatura de cocción**

Niveles de Variación (3) : T = temperatura :72, 82 y 92 °C

Se decidió trabajar con estas temperaturas en base a que 92 °C es la que corresponde a la temperatura a la que se procesa a nivel industrial, 82 °C es la que reportan la mayor parte de las investigaciones para la etapa de cocción, y finalmente los estudios existentes de difusión de iones de calcio se han efectuado a 72 °C, con esto justificamos los niveles de estudio para poder considerar un punto de comparación.

Variable Independiente: **Tiempo de reposo**

Niveles de variación (9) t = 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 y 15 horas.

Los tiempos de reposo fueron elegidos en base a la revisión de los antecedentes. Puesto que esta variable es considerada crítica para la mayoría de los investigadores relacionados con esta área, se eligieron nueve niveles que se han trabajado por separado en la mayor parte de las investigaciones. Los intervalos se establecieron considerando que exista un nivel de significancia estadística.

2.2.8 Caracterización de equipos (molinos, horno, rot-tap, serie de tamices)

Uno de los propósitos de realizar el experimento piloto fue conocer el funcionamiento de los equipos que se utilizan durante la nixtamalización y los niveles en que pueden ser manipuladas las variables por el operador.

Después de realizar la cocción y reposo de maíz en el equipo prototipo de nixtamalización, se continuó la preparación de las muestras hasta obtener harinas, las cuales fueron las unidades experimentales con las que se trabajó durante el proyecto.

- 1.-El molino de piedras fue operado con una abertura entre las piedras de 0.3 mm, esto se consigue con 16 vueltas al tornillo sinfín de cierre. Las piedras se remojaron en agua durante una hora previa a ser instaladas al equipo.
- 2.- El granulado obtenido se secó en un horno de vacío, en el segundo y tercer nivel interno, ya que ahí se registró la temperatura de 40 °C, según lo estipulado al inicio
- 3.- Al molino de martillos-pulvex, se acondiciono un dosificador para alimentar el equipo y evitar un sobre calentamiento. Se le colocó una criba para tamizar de 0.5 mm, para

obtener harinas de maíz nixtamalizado que cumplieran con la Norma Oficial Mexicana (NMX-FF-034-1-SCFI-2002), donde se especifica que el 60 % de la muestra deberá estar retenida en la malla 70, serie USA.

4.- Se tamizaron 100 g de muestra, durante 15 minutos en un rot-tap, con una serie USA, utilizando los tamices (30, 40, 60, 70, 80, 100 y plato).

2.2.9 Establecimiento de condiciones de trabajo

Se establecieron las condiciones de trabajo y los puntos críticos del proceso, a fin de estandarizar el proceso térmico alcalino con el que se elaboran las unidades experimentales, las cuales se registran en el diagrama de bloques de elaboración de harinas mostrado en la figura 7.

1. Maíz variedad QPM- H368C.
2. 2 kg de maíz.
3. 4 litros de agua.
4. 20 g de $\text{Ca}(\text{OH})_2$, concentración del 1 % (w/w en base al peso del grano).
5. Durante la cocción se mezclaron el grano con su solución alcalina cada 10 minutos, dando tres vueltas con un agitador manual de paleta.
6. Se estableció la cantidad de agua para efectuar cada uno de los dos lavados al nixtamal (1litro por kg de maíz).
7. Los tiempos de cocción para cada temperatura: se obtuvieron de acuerdo al resultado de la actividad de determinación de tiempos de cocción.
8. Los tiempos reposo en que permaneció el grano son: 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 y 15 h
9. Las muestras de harina fueron obtenidas siguiendo el diagrama tecnológico preparación de harinas de maíz Figura 7.
10. Las muestras correspondientes a las estructuras anatómicas del maíz pericarpio, germen y endospermo del grano, fueron obtenidas manualmente y secadas a temperatura ambiente.
11. Las temperaturas manejadas para la etapa de cocción: 72, 82 y 92 °C.

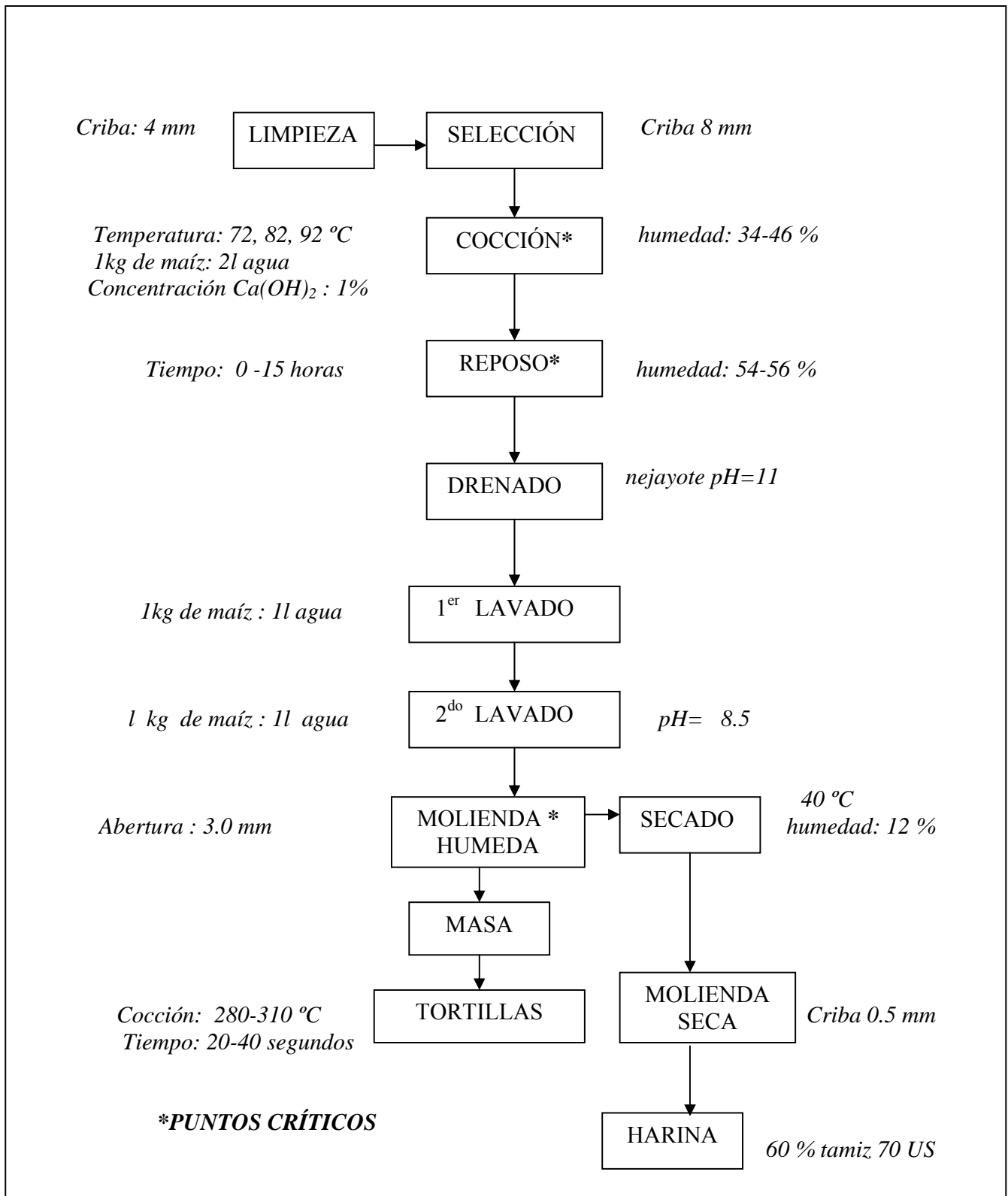
Etapas 2:

2.3 Preparación de las muestras

2.3.1 Preparación de las unidades experimentales

La preparación de las muestras de maíz QPM H-368C se realizó de acuerdo al diagrama de bloques del proceso de fabricación de harinas de maíz nixtamalizado que se muestra en la figura 7. Anteriormente descrito en el capítulo de antecedentes.

El proceso inicia con la limpieza de los granos, haciéndolos pasar a través de una criba metálica con abertura de 4.0 mm de diámetro interno, para eliminar basura, productos extraños, fragmentos de granos. Se continuó con una selección por tamaño, utilizando una criba de 8.0 mm, los granos retenidos se recolectaron, 2 kg de maíz se vertieron en el reservorio de cocción con 4 litros de agua y 20 gramos de hidróxido de calcio (1 % w/w). Inicialmente se trabajó a una temperatura de 92 °C, las muestras obtenidas a esta temperatura se denominaron serie I, con un tiempo de cocción obtenido en las actividades preliminares. Se inició el calentamiento con dos rampas, la primera desde la temperatura de 22.5 °C hasta la temperatura de cocción 92 °C, ahí se mantiene la temperatura por el tiempo establecido en la determinación de tiempo de cocción, ésta corresponde a la segunda rampa; el sistema registró las temperaturas cada 30 segundos. Al terminar la etapa se suspendió el calentamiento y en este mismo reservorio se deja el grano reposar durante periodos de : 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 y 15 horas, dependiendo del tiempo destinado para cada muestra, incluyendo las que no fueron reposadas (0 horas y control), ésta última sin adición de hidróxido de calcio. Al concluir el reposo de cada una de las muestras, se drenó el nejayote por diez minutos, posteriormente se efectuaron dos lavados, después del último lavado se determinó el pH. Estos lavados tienen la función de eliminar partes de pericarpio disueltas, fracciones de endospermo, germen, exceso de cal y disminuir el pH. Este mismo procedimiento se llevó a cabo para la temperatura de 82 °C que se nombró serie II y la de 72 °C se le nombró serie III. El nixtamal ya drenado, se separó en dos partes: 200 gramos para pruebas de fijación de calcio y estado del pericarpio, el resto de la muestra, 1800 g, se destinó para preparar las harinas de maíz nixtamalizado.



Fuente: Serna-Saldivar et al., (1988).

Figura 7. Diagrama tecnológico de elaboración de harinas de maíz nixtamalizado.

2.3.2 Historias de cocimiento y reposo

Se obtuvieron las historias de cocción que registraron el perfil de temperaturas durante el proceso de cada una de las muestras, para las temperaturas de 72, 82 y 92 °C lo que demuestra el rigor experimental con el que se trabajó.

2.3.3 Separación manual de pericarpios

Los 200 g de granos de maíz obtenidos después de drenar el agua de los lavados, se dejaron a temperatura ambiente durante dos horas para secar parcialmente el pericarpio y facilitar su desprendimiento del grano; 2/3 partes de la muestra se emplearon para la separación de las estructuras del maíz (pericarpio, germen, endospermo). El otro tercio corresponde a granos enteros que se fraccionaron en cortes longitudinales y transversales para obtener imágenes de las estructuras internas y observar daños físicos provocadas por el tratamiento térmico-alkalino.

2.3.4 Elaboración de harinas

Se continuó el proceso de elaboración de harinas de maíz nixtamalizado; siguiendo el diagrama tecnológico. Se procedió a secar 1800 g de muestra de nixtamal, las cuales se molieron en un molino pulvex para hacer harinas, las cuales constituyen las otras unidades experimentales que se utilizarán en actividades para obtener calcio residual en grano total. Después se envasaron en bolsas de polietileno y se guardaron a temperatura de 5 °C para posteriores evaluaciones.

2.3.5 Secado de las muestras

Todas las muestras correspondientes a las estructuras anatómicas del maíz, se secaron a temperatura ambiente por 24 h, hasta alcanzar una humedad del 12%.

2.3.6 Molienda y tamizado de las muestras

La tercera parte de la muestra de pericarpio se molió en un molino pulvex y se tamizó en mallas de 60–70 serie USA. Las muestras fueron nixtamalizadas a diferentes condiciones de proceso, realizando procedimientos similares en todos los tratamientos. Todas las unidades experimentales se almacenaron en bolsas de polietileno, que a su vez se colocaron en contenedores de plástico para su conservación a 5 °C.

Etapas 3:

2.4 Descripción de actividades por objetivos

La tercera y última parte del cuadro metodológico consistió en la evaluación de las muestras para cumplir con las actividades a desarrollar mediante las técnicas mencionadas en los objetivos.

2.4.1 Actividades para determinación de calcio por absorción atómica

En el objetivo 1 se establecieron las tendencias de fijación de calcio residual en el grano total y en muestras de pericarpios obtenidas a diferentes condiciones de proceso.

Las determinaciones se realizaron por triplicado para todas las unidades experimentales. Se analizaron por espectrofotometría de absorción atómica de acuerdo al método descrito por Fernández *et al.* (2004). Se utilizó un estándar y una referencia certificada.

Se graficaron los datos calcio residual versus tiempo. Se obtuvieron las tendencias de los datos para grano total, realizando un análisis comparativo de las cinéticas obtenidas a las tres temperaturas de cocción del grano, 72, 82 y 92 °C. Con los datos de la variable de respuesta (calcio residual) en pericarpio, se aplicó una regresión lineal para realizar el ajuste del comportamiento en esta estructura; ésta constituye una parte de la tendencia total de calcio residual, es decir, para poder darle una explicación a la fijación de calcio en el grano entero, se obtuvieron las tendencias de calcio residual en pericarpio.

El análisis estadístico que se propuso para los datos obtenidos de calcio residual es una covarianza, que es una combinación de una anova mas una regresión lineal. Este método hace un ajuste para los efectos de una variable perturbadora y la regresión permite establecer una ecuación de comportamiento para predecir la variable de respuesta (Montgomery, 2003).

Preparación de la muestra para ser analizada por absorción atómica.

Esta técnica espectroscópica destruye la muestra, determina cuantitativamente el elemento presente y realiza el análisis elemental de la mayoría de los elementos de la tabla periódica, en muestras o extractos líquidos.

Para determinar un analito en una muestra es necesario proporcionarle energía a los átomos y subir de nivel a los electrones, lo que se lleva a cabo en el equipo utilizando una

lámpara de cátodo hueco que debe ser del analito que se desea analizar, en este caso es calcio. En este nivel, los electrones están en un estado excitado con muy poca estabilidad, tratando de regresar a su nivel original. Los electrones en un átomo en estado basal absorben un cuanto de energía, es decir, tienen una transición de un nivel de baja energía, a uno de alta energía; cuando el electrón regresa al estado base hay emisión de luz. Se genera una serie de líneas a longitudes de onda bien determinadas a la cual se le conoce como espectro, que es detectado por un espectrofotómetro y que es específica para cada uno de los elementos. La absorción de energía y la concentración del analito están cuantitativamente relacionadas con la ley de Lambert-Beer (Amezquita, 2003; Skoog *et al.*, 1995).

Las muestras de harina de maíz fueron digeridas, ya que estas contienen residuos orgánicos que pueden influir en las mediciones. La digestión de las muestras de harina y muestras de pericarpio se realizó utilizando 0.25 g de muestra, agregando 10 ml de ácido nítrico con alto grado de pureza; para esto se utilizó un microondas a tres rampas de calentamiento: la primera de temperatura ambiente hasta 130 °C en 4:30 minutos, la segunda de 130 °C, hasta 150 °C en 4:00 minutos y la última de 150 a 175 °C en 4:00 minutos, manteniendo la temperatura constante durante 15 minutos. Después de digerir, la muestra se filtra, se le adiciona óxido de lantano y se afora a 50 ml. Se analizó la muestra con adición de lantano porque forman compuestos más estables con el fosfato y libera mejor el calcio. La lectura se realizó en un equipo de espectroscopía de absorción atómica de flama utilizando como gases aire-acetileno para producir la flama; las muestras ya diluidas se colocan en un vaso de precipitado. Se introduce el nebulizador a la muestra y se hizo incidir la luz de una lámpara de un cátodo hueco a través de una muestra vaporizada por una flama, en la que los átomos en estado basal absorben la luz, disminuyendo su intensidad. Se eligió la longitud de onda de 422.7 nm característica del calcio. El porcentaje de absorción registrado por el detector es una medida de la concentración del elemento de la muestra.

Las condiciones experimentales en las que se trabajó el equipo son las siguientes:

- a) Presión de aire seco: 12 psi.
- b) Presión de acetileno: 70 psi.
- c) Longitud de onda del láser: 422.76 nm.
- d) Corriente de la lámpara: 10 mA.

2.4.2 Actividades para observar degradación de pericarpio por microscopía electrónica de barrido de bajo vacío

Éste objetivo se realizó únicamente para una temperatura 92 °C, debido a que los cambios físicos pueden correlacionarse con los datos de calcio residual. Las actividades permitieron conocer visualmente la degradación del pericarpio por efecto de las condiciones de proceso, lo cual da una explicación de cómo los cambios físicos o el daño del grano facilitan la difusión de iones de calcio al interior del grano; por esa razón las transformaciones a otras temperaturas menores pueden ser extrapoladas con respecto a la temperatura mayor 92 °C.

El análisis se realizó con granos de maíz nixtamalizados en un microscopio electrónico de barrido de bajo vacío modelo JEOL JSU-5600 LV.

El microscopio electrónico de barrido utiliza un cañón de electrones de alta energía que sistemáticamente barre la superficie de la muestra a bajo vacío; la interacción del cañón con la superficie de la muestra produce gran cantidad de señales, en que se incluyen electrones de baja energía y electrones secundarios. La baja energía de los electrones secundarios hace conveniente la colección de la señal por el barrido en el sistema detector. La señal del electrón es convertida a señal electrónica y es proyectada a un tubo de rayos catódicos y pasada a un foto multiplicador. La imagen es transmitida a través de una cámara tipo televisión, en donde observamos una imagen de la superficie de la muestra con profundidad del campo.

Preparación de la muestra para ser observada en Microscopía electrónica de barrido.

La muestra se coloca en un portamuestra, después se pega sobre una cinta adherible de carbón electroconductiva, con el fin de que la emisión de electrones sea continua dentro del microscopio de barrido. De esta forma la muestra está lista para ser observada al microscopio de barrido (González *et al.*, 2004). El portaobjeto con muestras es introducido al microscopio. Después se enfoca la muestra que se desea observar, cambiando los aumentos a decisión del operario. No necesariamente el mayor aumento es el que proporciona la mejor imagen, ya que algunas veces la distorsionan.

2.4.3 Actividades para obtener cambios “ *in situ*” por celda fotoacústica

Los cambios “*in situ*” del pericarpio de maíz durante la cocción fueron determinados en una celda fotoacústica diferencial (DPC figura 8), a la cual se le acondicionó una cámara de calentamiento, para realizar la etapa de cocción de los granos de maíz durante el tratamiento térmico-alcalino.

El efecto fotoacústico es generado por una señal acústica dentro de una celda que contiene gas (comúnmente aire). Debido a la absorción de radiación modulada (luz) de la muestra al absorber radiación, sus niveles electrónicos excitados decaen al estado base en forma no radiativa, generando un calentamiento periódico local. Este calentamiento se difunde a través del material dando origen a una onda térmica que se propaga y se extingue en la interfase muestra-gas.

La fuente de la señal fotoacústica es el flujo periódico de calor de la muestra hacia el gas circundante, cuando la muestra es calentada periódicamente por la absorción de radiación modulada (figura 9). Los flujos periódicos de calor dentro de la celda que contiene el gas producen fluctuaciones de presión, que pueden ser detectadas como una señal acústica por medio de un micrófono.

La etapa de cocción se reprodujo a escala menor en una celda fotoacústica, manteniendo las condiciones de proceso con las que se prepararon las muestras en el sistema prototipo de nixtamalización. Se utilizaron 20 gramos de maíz, en una solución de 40 ml de agua destilada al 1% de Ca(OH)_2 . La solución alcalina se fue calentando a razón de 2.5 °C/ minuto, partiendo de temperatura ambiente hasta 92 °C y se mantuvo durante 25 minutos. El mismo procedimiento se realizó para temperaturas de 82 y 72 °C, con tiempos de cocción de 40 y 65 minutos respectivamente. Las determinaciones se realizaron por triplicado para cada una de las temperaturas. Las señales de la celda fotoacústica fueron guardadas y analizadas en su historia térmica de cocimiento realizando una comparación de los efectos causados por cada temperatura (Hurtado-Castañeda *et al.*, 2005).

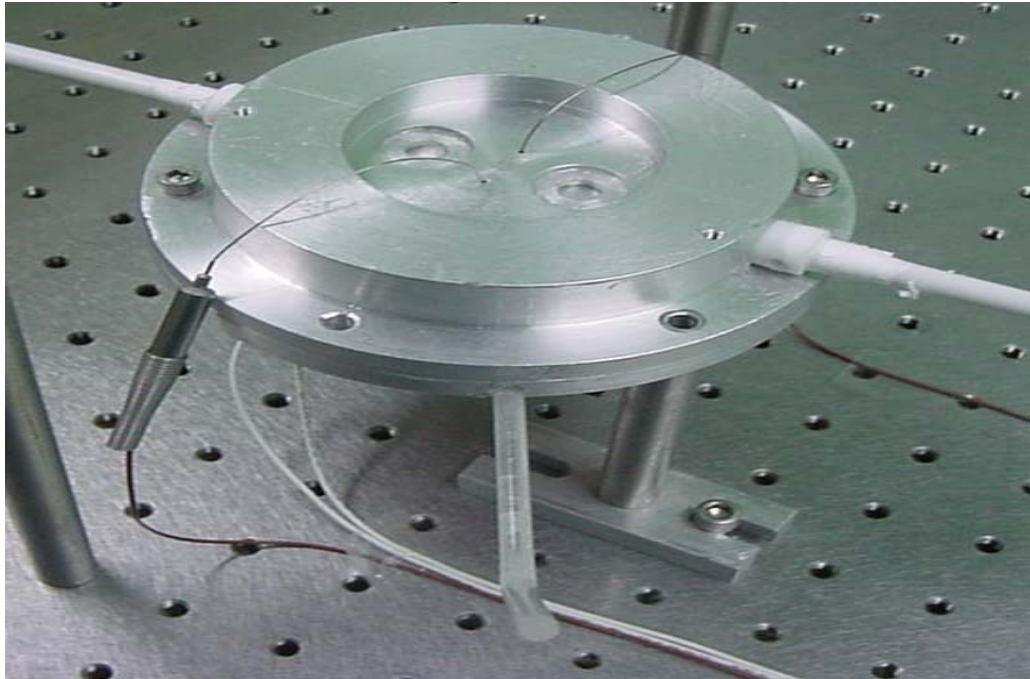


Figura 8. Celda fotoacústica diferencial (DPC) para Nixtamalizar.



Figura 9. Calentamiento con láser de la celda fotoacústica.

Preparación de la muestra a estudiar en celda fotoacústica diferencial.

Fotoacústica es una técnica utilizada para identificar cambios "*in situ*" por efecto de la temperatura en diferentes materiales, ya que la técnica es muy fina y confiable ha comenzado a ser usada en investigar propiedades termofísicas, ópticas y propiedades estructurales de alimentos y sustancias orgánicas.

La celda fotoacústica diferencial se diseñó y construyó para poder realizar el proceso de nixtamalización; ahí se colocaron los granos crudos en una cámara acondicionada, la cual es un cilindro de 7.8 cm de diámetro y 5 cm de profundidad, donde pueden nixtamalizarse de 20 a 40 gramos de maíz; aquí se efectuó el tratamiento térmico alcalino para la etapa de cocción a diferentes temperaturas por separado. Con esto se obtuvieron las historias térmicas de cocimiento, donde el equipo detecta las señales en el momento de los cambios en las muestras que están siendo tratadas.

El equipo cuenta con dos platillos, uno donde se coloca la referencia (oro) y el otro la muestra (maíz); ambos platillos están separados, pero a los dos se le hace llegar la misma fuente de luz, que es un haz a 415 M láser emitiendo a una longitud de onda de 532 nm, usado como fuente de excitación. La radiación del láser fue modulada (de 5 Hz a 1 kHz) por medio de un modulador optoacústico (isomet model 232 A- 2). Una frecuencia de modulación de 45 Hz fue usada en el estudio de difusión (agua-calcio). El rayo es dividido en dos haces: 60 % y 40 %. El calentamiento por radiación se hace por medio de los dos rayos, cada uno es enfocado en el aparato sobre la celda, uno para la referencia y otro para la muestra de maíz. La señal de salida depende de la amplitud de la fase, las señales son amplificadas en un lock-in (OPAM-TL084) y conectada a una interfase SRS 830.

El estudio para obtener la cinética de agua e hidróxido de calcio en función de la temperatura se realizó para 72, 82 y 92 °C. El reservorio de cocción fue calentado por un controlador Fashion Watlow- 96 i / 116 D/ N, es un controlador de temperatura y dos tipos de termopar (6302986) localizados en el centro de el reservorio. Se obtuvieron los perfiles de temperatura para la muestra y la referencia y con estos el equipo reporta la historia térmica de cocción. La radiación reflejada o dispersada por la muestra no tiene efecto en el micrófono y por lo tanto no interfiere. Esta última propiedad es quizás la característica más importante del método

2.4.4 Actividades de variación de la cristalinidad del pericarpio por rayos X

El objetivo 4 se desarrolló para conocer como cambia la estructura del pericarpio, analizando el comportamiento micro estructural, éste se refleja en la variación de la cristalinidad después de cocer los granos a temperatura de 92 °C y reposarlos a diferentes tiempos. Ésta técnica nos permite también identificar si hay formación de compuestos de calcio durante el proceso. Los difractogramas de muestras de pericarpio se analizaron utilizando el método de Rodríguez *et al.*(1996). La difracción de rayos X, se realizó en un difractómetro de polvos Siemens D 5000 operando a 35 kv y 15 mA, con una radiación de CuK α , con longitud de onda $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$. Estos datos fueron recolectados de 4 a 30 ° 2Φ ,° a una velocidad de 0.1 ° seg^{-1} y un tiempo de conteo por punto de 5 segundos.

Preparación de la muestra para obtener difractogramas de rayos X.

Granos nixtamalizados a 92 °C, se reposaron por diferentes tiempos, se lavaron y se dejaron secar a temperatura ambiente durante 1 hora, posteriormente se separó de ellos el pericarpio. Éste se secó por 24 h a temperatura ambiente hasta una humedad del 12%. Finalmente se molieron y se tamizaron en dos mallas; que la muestra atravesará la 60 y hasta retenerse en la 70 USA. Se recolectó 1 gramo de pericarpio, se colocó en su porta muestra para ser comprimida, finalmente se introdujo a la cámara de difracción de rayos X para su análisis.

Capítulo 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3- ANALISIS DE RESULTADOS

El tratamiento térmico-alkalino al que se somete el maíz para utilizarse como materia prima en la elaboración de una gran variedad de alimentos tales como tortilla, tamales y totopos entre otros, da lugar a cambios físicos y químicos en los granos de maíz; la magnitud de éstos cambios depende de los niveles de variación en que se manejen las variables críticas, es decir la temperatura, el tiempo de cocción, la concentración inicial de hidróxido de calcio y de los tiempos en que reposa el grano.

Durante la nixtamalización, que no es un simple proceso como se ha creído siempre, ocurren modificaciones en las estructuras del maíz en sus propiedades estructurales, reológicas, ópticas y fisicoquímicas que finalmente se reflejan en las características de textura, sabor y color de los productos. Muchas de ellas aún no se han dilucidado dada su complejidad; por esa razón, el propósito principal de éste trabajo fue conocer los cambios físicos que el proceso de nixtamalización induce a nivel local únicamente en la estructura del pericarpio, ya que éste representa una importante barrera para la difusión de agua y calcio durante la nixtamalización.

Los resultados incluyeron determinaciones en granos crudos para considerarlos como patrones de comparación y estudiar las modificaciones fisicoquímicas durante y después del tratamiento térmico-alkalino. Se presentan los datos obtenidos para la caracterización de la materia prima en primer término, siguiendo el orden del cuadro metodológico presentado en el capítulo 2. Después, el acondicionamiento de equipo y condiciones en que se obtuvieron las unidades experimentales. Enseguida se presentan los resultados del objetivo 1, que corresponden a la cuantificación del calcio residual en grano total y en pericarpio de maíz, durante el proceso de nixtamalización. Posteriormente aparecen los resultados de las actividades planeadas en el objetivo 2, donde se presentan las imágenes de microscopía electrónica de barrido de bajo vacío para identificar los daños físicos a nivel pericarpio en granos nixtamalizados a diferentes condiciones.

Se obtuvieron las señales *in-situ* en el pericarpio durante la etapa de cocción, para especificar los tiempos reales donde se presentan cambios en esta estructura; estas acciones corresponden al objetivo 3. Finalmente se cumplieron las actividades del objetivo 4, que era encontrar los cambios de cristalinidad e identificar compuestos de calcio en pericarpio durante el tratamiento térmico-alkalino.

3.1 Caracterización de la materia prima maíz QPM-H368C

3.1.1 Análisis Físico de granos de maíz QPM-H368C

3.1.1.1 Peso promedio de granos de maíz

En la tabla 2 se muestra el peso promedio de 1000 granos. El análisis se realizó con la finalidad de mantener con la mayor aproximación la cantidad de granos por muestra.

Tabla 2. Peso promedio¹ del grano de maíz QPM- H368C

Número de granos	Peso promedio (g)
1000 granos	380.20 ± 1.04

¹Determinación en base seca (n = 3)

Cabe mencionar que el peso promedio de 1000 granos de maíz variedad QPM-H368C es menor que los valores reportados para granos convencionales con calidad nixtamalera, el cual se encuentra en un rango de 402 a 436 g (Serna-Saldívar *et al.*, 1992).

3.1.1.2 Porcentaje de Pericarpio

Se obtuvieron los pesos promedio de pericarpio y de cada una de las partes anatómicas del grano de maíz objeto de estudio como fueron, cofia, germen y endospermo para conocer el porcentaje real de cada grano de forma individual. La distribución ponderal de cada uno de los componentes mayoritarios para variedad de maíz QPM-H368C se reportan en la tabla 3.

La norma oficial mexicana NMX-FF-034/ 1- SCFI-2002 reporta para la cofia < 2%, para el pericarpio < 5.5 y % para el germen < 12%.

Tabla 3. Porcentaje de pericarpio y de estructuras anatómicas del maíz QPM-H368C

Partes del grano	%
Cofia	1.20 ± 0.10
Pericarpio	7.10 ± 0.40
Germen	12.50 ± 0.50
Endospermo	79.20 ± 0.80

Los valores representan el promedio ± la desviación estándar, (n = 100)

El valor reportado para pericarpio fue mayor en el grano de maíz QPM-H368C que el de otros granos de calidad nixtamalera, en concordancia con lo que reportan estudios realizados por Serna-Saldívar *et al.*(1992) y menor que el señalado por la norma, lo cual resulta significativo. Los resultados obtenidos comprueban que la variedad QPM-H368C presentó mayor porcentaje de pericarpio. Durante el tratamiento térmico-alcalino hay una pérdida de ésta estructura provocada por el proceso, lo que trae como consecuencia también una merma del calcio que se había fijado durante la nixtamalización. Esto representa una ventaja para ésta variedad puesto que al presentar mayor porcentaje en peso de pericarpio y mayor espesor, es mas difícil de ser degradado y por tanto eliminado del grano. Para las demás estructuras del grano los porcentajes se encontraron dentro de lo establecido por la misma norma.

3.1.1.3 Dimensiones del grano de maíz QPM-H368C.

Las mediciones de las dimensiones de los granos de maíz se realizaron para homogenizar tamaños de granos. En la tabla 4 se muestran los valores obtenidos de largo, ancho y espesor de 100 granos de maíz variedad QPM-H368C.

Tabla 4. Dimensiones del grano de maíz QPM-H368C

Medidas del grano	Dimensiones (mm)
Largo	10.10 ± 1.01
Ancho	7.80 ± 0.20
Espesor	4.00 ± 0.80

Los valores representan el promedio ± la desviación estándar, (n = 100)

Los granos de maíz QPM-H368C corresponden a granos de dimensiones menores que los de las variedades convencionales de maíz más comerciales para uso del proceso de nixtamalización (Serna-Saldívar *et al* .,1992). Esta característica significa que existen más granos de maíz por cada 1000 g, lo que trae como consecuencia mayor área superficial en contacto con la solución de cocción y por ende mayor fijación de calcio en la muestra.

3.1.1.4 Espesor del pericarpio

La medición del espesor del pericarpio del grano crudo se realizó en un microscopio electrónico de barrido a bajo vacío (Arenas, 1999). En la tabla 5 se muestra el valor promedio tomado de 25 lugares medidos c/u de 5 pericarpios y en la figura 10 se muestra la forma en que se midió.

Tabla 5. Espesor del pericarpio nativo.

Medida de pericarpio	Dimensión (μ)
Espesor ¹	87.00 ± 0.03

¹ Medidas de espesor obtenidas en 125 Zonas.

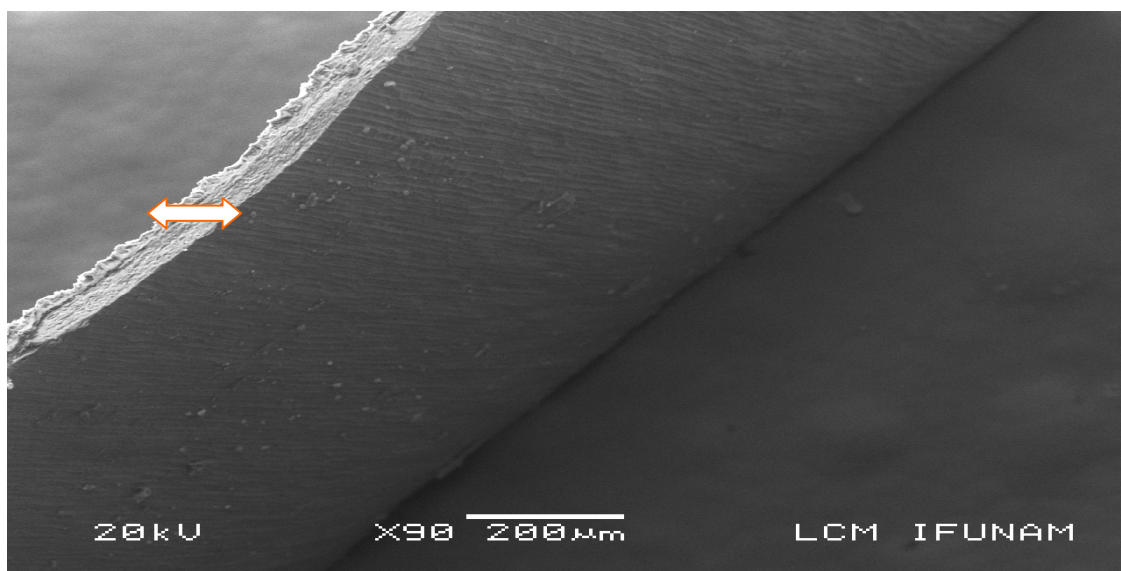


Figura 10. Micrografía del espesor de pericarpio de maíz nativo.

El conocimiento del espesor para esta estructura es un parámetro importante para evaluar cambios físicos por efecto de la temperatura durante la etapa de cocción. Se ha asumido que el espesor del pericarpio es igual en todo el grano de maíz (Klaus y Karel, 1991), sin embargo las imágenes muestran las diferencias y que no hay homogeneidad.

En la figura 11 a, se muestra el pericarpio para las diferentes regiones que cubren al grano. La figura 11 b (A, B, C) corresponde a las tres regiones del pericarpio, pero con mayor resolución para poder visualizar con detalle su textura.

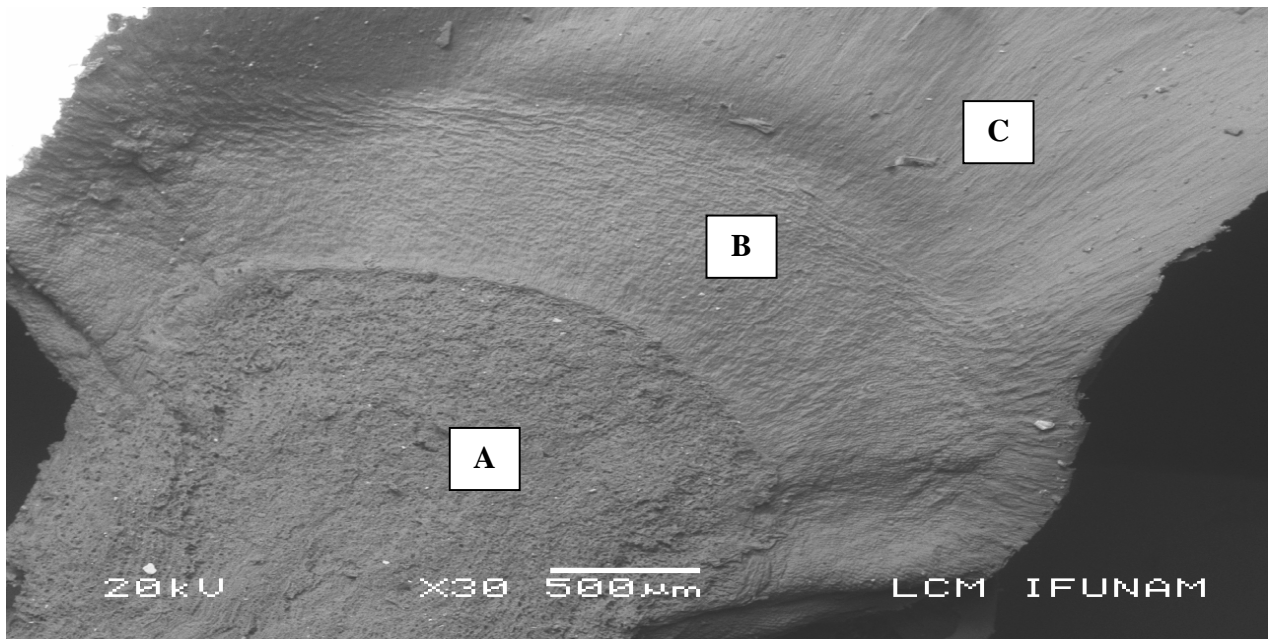


Figura 11 a. Micrografía de regiones del grano de maíz cubiertas por el pericarpio.

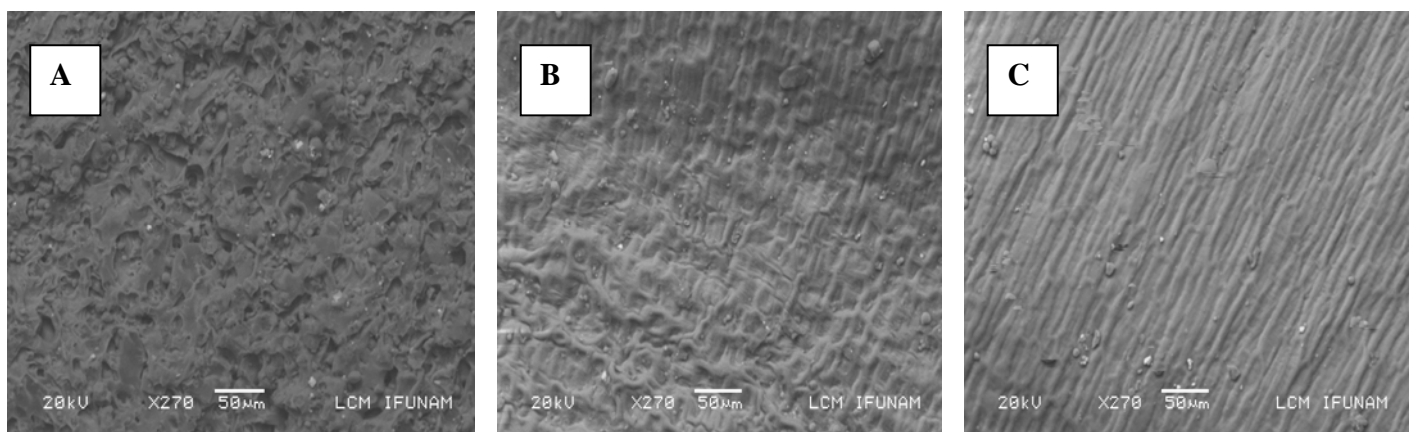


Figura 11 b. Micrografías de pericarpio nativo cubriendo estructuras: A) Sobre una parte de la cofia, B) Sobre el germen, C) Sobre el endospermo.

La figura 11 a es la imagen representativa de que el pericarpio no es homogéneo sobre todo el grano; fue tomada en microscopía electrónica de barrido a bajo vacío y muestra la superficie del pericarpio de la cofia hacia el centro. Podemos observar que en esta imagen se identifican tres diferentes regiones, las cuales se han denotado de la siguiente manera: región A, corresponde a pericarpio que cubre la parte de la cofia mas cercana al germen, otra parte esta descubierta; región B, es pericarpio que recubre al germen y la región C, corresponde al pericarpio que cubre al endospermo.

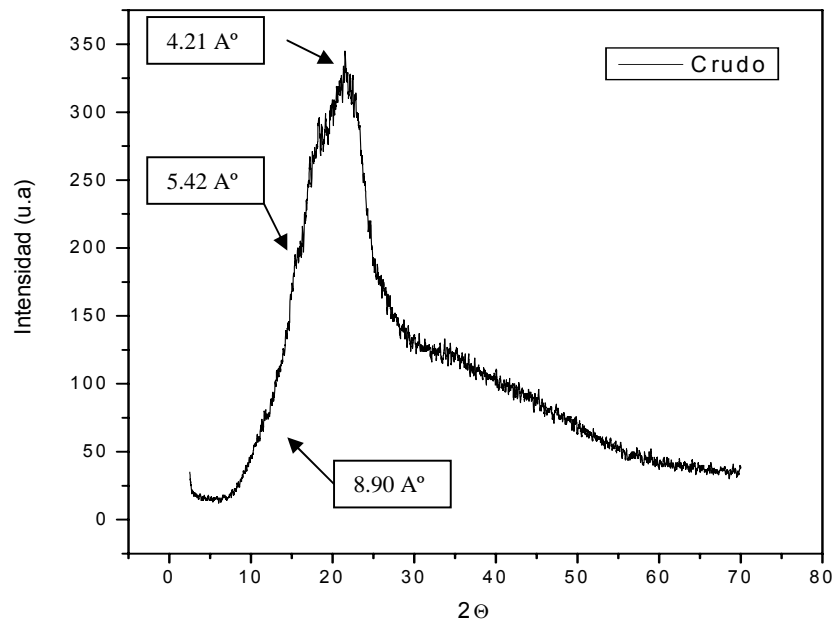
Un análisis de espesor del pericarpio como función de su localización mostró que éste cambia. Se pudo establecer que la región A tiene un espesor promedio de 75 micras, la región B tiene un espesor promedio de 79 micras, mientras que la región C tiene un espesor de 87 micras. En la figura 10 b podemos realizar un análisis comparativo entre las tres imágenes A, B, C, sobre la textura del pericarpio. Es importante resaltar que cambia como función de la posición en el grano, con lo que queda demostrada la no homogeneidad de esta estructura. Este hecho tiene una influencia significativa en el fenómeno de transferencia de masa, durante el proceso de nixtamalización, pues es bien sabido que el mecanismo de difusión de agua y calcio hacia el grano durante la cocción y el reposo depende del estado físico y de la estructura del grano (Ramos *et al.*, 2004; Zazueta *et al.*, 2002; Fernández-Muñoz *et al.*, 2002). En el caso de la imagen 11 b-A, el pericarpio que cubre a la cofia es rugoso y poroso; ésta parte es por donde se transportan los nutrientes que el grano necesita durante la etapa de crecimiento. En la parte que termina en punta se encuentra localizado un tejido negro conocido como capa hilar que funciona como sello del grano cuando ha alcanzado cierta madurez. Adicionalmente dentro de la cofia hay células esponjosas en forma de estrella, conectadas con canales ramificados, formando una estructura abierta que es continua con la tercera capa hacia el interior del pericarpio. La capa de células cruzadas está a su vez conectada con la capa de células tubulares que es la encargada de la distribución de agua y nutrientes a otras estructuras como el endospermo y al germen (Klaus y Karel, 1991; Serna-Saldívar *et al.*, 1996). La figura 11 b-B muestra la región del pericarpio que cubre al germen, es menos rugosa que la anterior, formando figuras cuadradas y rectangulares no muy bien definidas, en forma de paneles. La imagen de la figura 11 b-C es la parte del pericarpio que cubre al endospermo y corresponde a la mayor superficie del grano; ésta zona con respecto a las anteriores es más lisa con figuras de paneles alargados y direccionados muy bien definidos.

3.1.1.5 Determinación de la estructura cristalina del pericarpio

El pericarpio de maíz está compuesto por una matriz sacárida con una pequeña fracción de lignina que es un polímero fenólico presente en las fibras naturales, sus unidades estructurales son derivadas del 3,4-dihidroxifenil-propano. La matriz está integrada por celulosa, que es un homopolisacárido cristalino-amorfo, donde predomina la parte cristalina. También contiene hemicelulosa que es un heteropolisacárido amorfo. La hemicelulosa, al igual que las celulosas, están compuestas de cadenas constituidas a partir de las unidades de glucosa unidas mediante puentes glucosídicos; en ellas se incluyen en ocasiones los ácidos urónicos que son polisacáridos con grupos ácidos en el carbono 6 de la unidad monosacárida. Es difícil separar estos componentes dado que desde el punto de vista morfológico esta matriz es un compuesto.

Otros estudios, donde se reportaron espectros en infrarrojo de pericarpio nativo, distinguieron dos bandas, una en 1737 cm^{-1} que corresponde a los grupos carboxílicos de los ácidos urónicos de la hemicelulosa y otra en 1519 cm^{-1} , correspondiente a la lignina cuyo contenido representa menos del 1 por ciento en peso en el pericarpio, pero que es indispensable para formar el compuesto dadas sus características cementantes (González *et al.*, 2004^b).

En la figura 12 se presenta el difractograma de rayos X de pericarpio de maíz nativo, el cual será utilizado como un comparativo para granos tratados por el proceso de nixtamalización y analizados a nivel pericarpio. El difractograma muestra que es en esencia análogo al reportado para otras fibras celulósicas. Presenta máximos de difracción de $2\theta = 8.90, 5.42$ y 4.21 A° correspondientes a las fibras ordenadas de la celulosa en plantas (Hon y Shiraishi, 2001).



Pericarpio de maíz crudo

Figura 12. Difractograma de Rayos X para pericarpio nativo.

El pericarpio de maíz nativo tiene una estructura semi-cristalina característica de las fibras como podemos apreciar en la figura 12. Debido a que el pericarpio está compuesto por celulosa, que en mayor proporción es cristalina, repercute en la imagen que presenta el difractograma de pericarpio. Durante el tratamiento térmico-alcalino aplicado al grano, el pericarpio es afectado por las condiciones del proceso de nixtamalización, provocando cambios locales; la determinación de la cristalinidad del grano crudo puede servir para identificarlos cuando los granos son tratados.

3.1.2 Análisis Químico

3.1.2.1 Determinación de humedad del grano

Los resultados del análisis de determinación de humedad en granos crudos de la variedad de maíz QPM H-368C se reportan en la tabla 6. El valor sirvió de parámetro cuantitativo para establecer el tiempo de cocción del grano. Los datos del análisis representan el promedio de tres repeticiones.

Tabla 6. Determinación de humedad en maíz nativo QPM H-368C

Componente	Valor
Humedad ¹	12.00 ± 0.50

¹porcentaje en base seca. (n = 3)

El valor representa el promedio ± desviación estándar

3.1.2.2 Concentración de calcio endógeno.

La concentración de calcio endógeno se reporta en la tabla 7. La determinación se realizó en granos enteros y en el pericarpio de maíz por la técnica de espectrofotometría de absorción atómica.

Tabla 7. Resultados de calcio endógeno del grano de maíz QPM-H368C

Calcio endógeno ¹	Valor (%)
Grano de maíz	0.06 ± 0.00
Pericarpio	0.03 ± 0.10

¹Calcio presente en el maíz crudo, (n = 7)

El valor representa el promedio ± desviación estándar

Fue necesaria esta determinación debido a que el maíz tiene su correspondiente calcio endógeno, al cual se va a sumar el calcio que el grano retiene durante la cocción y el reposo en el proceso de nixtamalización, para tener la cantidad de calcio total que se fija.

3.2- Caracterización y acondicionamiento del equipo

3.2.1-Validación de termopares

Las mediciones instrumentales requieren de confiabilidad ya que le confiere rigor experimental al trabajo. Por esa razón se validó la técnica de mediciones de temperatura de los termopares, para asegurar que se conocen las desviaciones de cada uno de ellos. Los resultados se presentan en la tabla 8.

Tabla 8. Valores para corrección de termopares

Temperatura del termopar patrón (2) (°C)	Temperatura del termopar (1) (°C)	Temperatura del termopar (3) (°C)	Temperatura del termopar(4) (°C)	Temperatura del termopar (5) (°C)
92	92.2	91.7	91.9	91.8
Desviación del valor de los termopares con respecto al valor del termopar patrón →	- 0.2	+ 0.3	+0.10	+0.2

Con estos valores se corrigen las lecturas de los demás termopares en todas las mediciones, para ajustarse a las del termopar patrón. Es el error sistemático de cada termopar. El programa realiza automáticamente la corrección y el promedio en el momento de registrar la temperatura.

3.2.2 Construcción del reservorio de cocción

La construcción del reservorio se detalló en la parte de metodología y se presentó el equipo donde se realizaron las pruebas experimentales en la figura 6.

3.2.3- Caracterización térmica del reservorio

Con los termopares descritos anteriormente se llevó a cabo la caracterización térmica del reservorio, para lo cual se dividió el área superficial del mismo en cuatro cuadrantes, colocando un termopar en la parte central de cada una de ellas y en el centro del recipiente. Los datos de los valores de temperatura se presentan en la tabla 9.

Tabla 9. Caracterización térmica del reservorio de cocción

Centro	Cuadrante 1	Cuadrante 2	Cuadrante 3	Cuadrante 4
Temperatura (°C)	Temperatura (°C)	Temperatura (°C)	Temperatura (°C)	Temperatura (°C)
92 ¹	92.32	92.30	92.26	92.34
90 ²	89.68	89.70	89.74	89.66
86 ³	85.80	85.70	85.60	85.90

¹Valor del termopar patrón localizado en el centro de la muestra.

²Localizado en la periferia del grano. ³Localizado en el centro del grano.

La nixtamalización se realizó manteniendo una rampa de calentamiento a la temperatura de 92 °C durante la cocción. Los valores de la tabla 9 son los registrados: en la muestra en el centro de cada cuadrante, en la periferia del grano, en el interior del grano. Las temperaturas fueron diferentes según la localización. Las medidas en la periferia del grano representaron un promedio de -2 °C con respecto a las del centro del cuadrante, y las medidas en el interior del grano -6 °C. Los valores utilizados para dejar fijos los termopares fueron los obtenidos en el centro de cada cuadrante. Se decidió colocar los termopares en el centro del reservorio ya que los valores registrados entre el centro y los cuadrantes son menores de 0.3 °C. Finalmente se perforó la tapa del reservorio y se introdujeron los termopares.

3.2.4- Instalación de la computadora, programa y termopares.

Este punto se describió en la metodología, capítulo 2, dado que era necesario tener un programa para capturar datos durante el procesamiento de las muestras experimentales.

3.2.5- Determinación del tiempo de cocción para cada temperatura

La determinación se realizó para establecer el tiempo de cocción. Esta constituye la primera etapa del proceso de nixtamalización que se ha caracterizado por ser definida con variables cualitativas, lo cual hace que el establecimiento del tiempo de cocción para cada variedad sea muy subjetivo, porque depende del operario. El parámetro de medición para el establecimiento del tiempo de cocción es el desprendimiento del pericarpio frotado con los dedos de la persona que realiza el tratamiento.

La falta de criterios fisicoquímicos motivó a realizar esta actividad para cada una de las temperaturas que fueron empleadas en este trabajo, para la etapa de cocción de los granos a 72, 82 y 92 °C, utilizando parámetros cuantitativos como: La humedad, el pH del grano y el calcio residual en pericarpio (sin realizar lavado al grano) durante la etapa de cocción. Los resultados se reportan en las tablas 10, 11 y 12.

Tabla 10. Determinación de humedad, pH y calcio residual durante la cocción a 92 °C

Tiempo de cocimiento total (min)	Rampa de Mantenimiento 92 °C (min)	Humedad del grano %	pH del grano	Concentración Ca pericarpio (%)
0	-	12.00 ± 0.10	7.03 ± 0.12	0.03 ± 0.14
5	-	12.10 ± 1.03	7.05 ± 0.13	0.08 ± 0.13
10	-	17.20 ± 1.56	7.09 ± 0.19	0.25 ± 0.17
15	-	18.63 ± 1.12	7.21 ± 1.12	0.49 ± 1.12
20	-	20.12 ± 1.62	7.40 ± 0.13	0.74 ± 0.11
25^a	0	26.06 ± 1.84	7.61 ± 0.09	1.06 ± 0.22
30	5	28.23 ± 0.29	7.64 ± 0.11	1.39 ± 0.13
35	10	30.47 ± 0.07	7.68 ± 0.13	1.52 ± 0.10
40	15	32.60 ± 0.89	7.73 ± 0.13	1.70 ± 0.00
45	20	34.12 ± 0.32	7.79 ± 0.10	1.96 ± 0.02
50 ^b	25	35.69 ± 1.11	7.85 ± 0.08	2.24 ± 0.02
51	26	40.90 ± 0.55	8.21 ± 0.31	2.56 ± 0.04

^aInicia la temperatura de cocción, ^b Termina la cocción.
El valor representa el promedio ± desviación estándar, (n = 4)

Tabla 11. Determinación de Humedad, pH y calcio residual durante la cocción a 82 °C

Tiempo de cocimiento total (min)	Rampa de mantenimiento 82 °C (min)	Humedad del grano %	pH del grano	Concentración Ca pericarpio (%)
0	-	12.00 ± 0.30	7.03 ± 0.14	0.03 ± 0.11
5	-	12.03 ± 0.21	7.04 ± 0.13	0.06 ± 0.17
10	-	14.88 ± 0.07	7.05 ± 0.26	0.11 ± 0.03
15	-	15.97 ± 0.14	7.14 ± 0.08	0.32 ± 0.24
20	-	17.02 ± 0.18	7.17 ± 0.28	0.67 ± 0.18
24^a	0	18.73 ± 0.09	7.21 ± 0.04	0.98 ± 0.06
29	5	19.46 ± 0.20	7.66 ± 0.03	1.09 ± 0.11
34	10	20.30 ± 0.31	7.52 ± 0.21	1.25 ± 0.20
39	15	26.21 ± 0.24	7.56 ± 0.01	1.54 ± 0.12
44	20	30.42 ± 0.43	7.33 ± 0.35	1.71 ± 0.04
49	25	33.95 ± 0.12	7.43 ± 0.17	1.92 ± 0.03
54	30	34.12 ± 0.50	7.41 ± 0.05	2.16 ± 0.04
59	35	35.80 ± 0.23	7.58 ± 0.04	2.20 ± 0.10
64^b	40	36.05 ± 0.16	7.55 ± 0.01	2.27 ± 0.02
65	41	36.87 ± 0.25	7.63 ± 0.01	2.33 ± 0.02

^a Inicia la temperatura de cocción, ^b Termina la cocción.
El valor representa el promedio ± desviación estándar, (n = 4)

Tabla 12. Determinación de Humedad, pH y calcio residual durante la cocción a 72 °C

Tiempo de cocimiento total (min)	Rampa de mantenimiento 72 °C (min)	Humedad del grano %	pH del grano	Concentración Ca pericarpio (%)
0	-	12.00 ± 0.09	7.03 ± 0.13	0.03 ± 0.13
5	-	12.01 ± 0.07	7.04 ± 0.15	0.04 ± 0.19
10	-	12.03 ± 0.11	7.06 ± 0.06	0.06 ± 0.09
15	-	12.04 ± 0.21	7.07 ± 0.11	0.26 ± 0.07
20	-	12.05 ± 0.14	7.08 ± 0.03	0.54 ± 0.02
22.5^a	0	12.07 ± 0.02	7.10 ± 0.05	0.82 ± 0.08
27.5	5	12.09 ± 0.15	7.34 ± 0.12	1.06 ± 0.13
32.5	10	12.10 ± 1.03	7.68 ± 0.53	1.16 ± 0.04
37.5	15	14.95 ± 0.07	7.90 ± 0.33	1.43 ± 0.20
42.5	20	18.15 ± 0.25	8.16 ± 0.22	1.52 ± 0.01
47.5	25	21.75 ± 2.19	8.38 ± 0.22	1.63 ± 0.02
52.5	30	25.84 ± 0.75	7.61 ± 0.25	1.71 ± 0.10
57.5	35	29.84 ± 0.75	8.24 ± 0.11	1.74 ± 0.03
62.5	40	31.70 ± 1.63	7.78 ± 0.03	1.79 ± 0.01
67.5	45	32.60 ± 0.85	8.46 ± 0.01	1.81 ± 0.03
72.5	50	33.10 ± 1.21	7.59 ± 0.03	1.91 ± 0.03
77.5	55	34.45 ± 0.63	7.85 ± 0.25	2.04 ± 0.05
82.5	60	34.87 ± 0.68	7.73 ± 0.05	2.11 ± 0.05
87.5^b	65	36.27 ± 0.27	7.69 ± 0.09	2.25 ± 0.03
88.5	67	37.70 ± 0.23	7.78 ± 0.07	2.32 ± 0.07

^a Inicia la temperatura de cocción, ^b Termina la cocción.
El valor representa el promedio ± desviación estándar, (n = 4)

Los tiempos de cocción parten de la temperatura ambiente hasta alcanzar la temperatura de trabajo para cada evento. El equipo tarda 22.5 minutos para alcanzar 72 °C, 24 minutos para 82 °C y requiere 25 minutos para 92 °C. Una vez alcanzada la temperatura correspondiente, se mantiene esa rampa de calentamiento por 65, 40 y 25 minutos respectivamente. Estos tiempos se establecieron como un factor a mantener constante para toda la parte experimental.

Los resultados de cada una de las variables humedad, pH y concentración de calcio en pericarpio también fueron relacionados con el desprendimiento del pericarpio.

La variable más adecuada fue la humedad del grano debido a que fue la más simple y se puede obtener de manera inmediata; La de la concentración de calcio residual es la más

precisa, pero requiere de mayor tiempo y más trabajo experimental. La determinación de pH refleja cambios significantes entre tiempos de cocción.

El establecimiento de los tiempos de cocción para cada temperatura, se reporta en la tabla 13. Corresponde al tiempo necesario para alcanzar la temperatura establecida y el tiempo en que duró la rampa de mantenimiento.

Debido a que pueden apreciarse valores de humedad en el rango de 34-36 %, de pH 7.5-7.9 y finalmente coinciden los valores de calcio en pericarpio en un rango de 2.24-2.26 (%) las variables quedaron establecidas como parámetros para determinar los tiempos de cocción de las muestras.

Tabla 13. Tiempos de cocción totales obtenidos para las temperaturas 72, 82 y 92 °C

Ca(OH) ₂	72 °C	82 °C	92 °C
Concentración (%)	Tiempo (min)	Tiempo (min)	Tiempo (min)
1	87.5	64	50
^a control	87.5	64	50

^a muestras con tratamiento térmico (sin Ca(OH)₂)

3.2.6 Experimento piloto

El experimento piloto, la actividad 3.2.7 selección de variables independientes, y la 3.2.8 correspondiente a la caracterización de los equipos se realizaron siguiendo los pasos de la metodología, capítulo 2 de este trabajo.

3.2.9 Establecimiento de condiciones de trabajo durante la experimentación

Las condiciones experimentales que se trabajaron para obtener las muestras quedaron registradas en el capítulo de metodología y aquí se presenta un resumen en la tabla 14. Las muestras se nombraron como serie I, II, III, para las temperaturas 72, 82 y 92 °C, respectivamente. En total fueron 33 muestras diferentes y sus correspondientes repeticiones, incluyendo las muestras en crudo, sin ningún tratamiento, las que no aparecen en la tabla 14.

Tabla 14. Condiciones experimentales con las que se obtuvieron las muestras de maíz

Serie	Temperatura (°C)	Concentración inicial de Ca (%)	Tiempos de reposo (h)
I	72	1	C ^a , 0 ^b , 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15
II	82	1	C ^a , 0 ^b , 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15
III	92	1	C ^a , 0 ^b , 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15

^aC. Control, muestra sin calcio y sin reposo.

^b0, muestra sin reposo

3.3 Preparación de las muestras

3.3.1 Preparación de las unidades experimentales

Las unidades experimentales fueron procesadas de acuerdo a lo que se describe en la parte de metodología a diferentes condiciones, registradas en la tabla 14. Las muestras fueron almacenadas en bolsas de polietileno a 5 °C, perfectamente selladas en frascos y almacenadas para su posterior evaluación.

3.3.2 Las historias térmicas

Durante el proceso de nixtamalización (cocción y reposo) se obtuvo el perfil temperatura versus tiempo que representa el tratamiento térmico al que fueron sometidas las muestras. En la figura 13 se registra una gráfica para la temperatura de 72 °C, se cuenta además con las historias para las temperaturas de 82 y 92 °C.

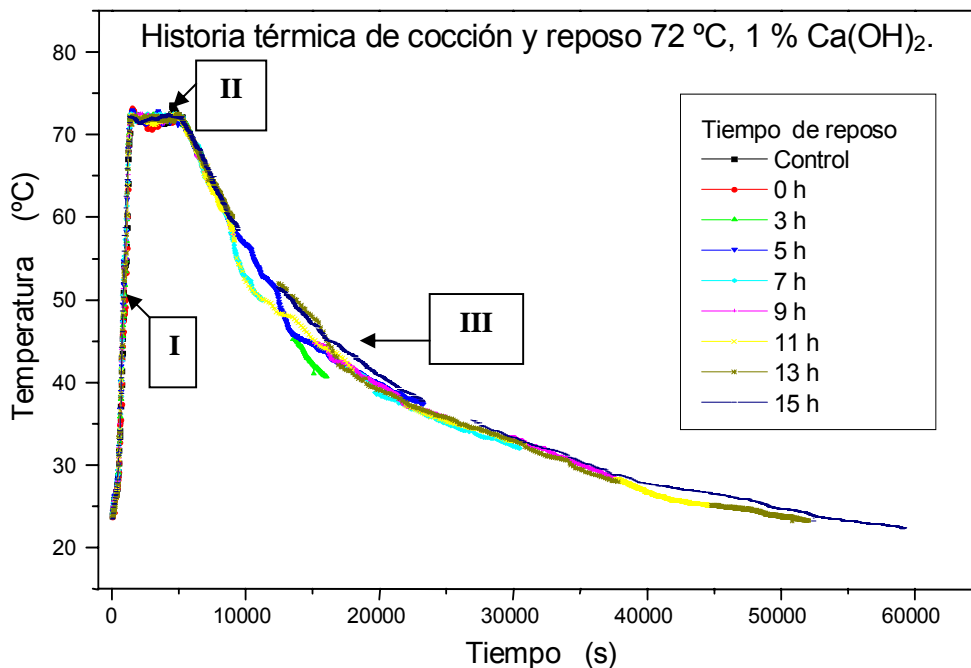


Figura 13. Historia térmica de las muestras elaboradas a temperatura de 72 °C.

La figura 13 presenta la gráfica de temperatura versus tiempo, donde se puede ver la historia térmica de cocimiento y reposo en las que se obtuvieron las muestras. La gráfica esta dividida en tres zonas, que son las rampas de calentamiento; la primera inició a temperatura ambiente y finalizó a la temperatura de 72 °C con un tiempo de 22.5 min. La segunda rampa se mantuvo a la temperatura de 72 °C durante 65 minutos, en la tercera y última rampa, se suspendió el calentamiento y se registró la etapa de reposo de la muestra hasta que concluyera la hora establecida previamente.

Se diferencia la historia térmica de cada muestra para la serie I, que corresponde a 72 °C, 1 % de Ca(OH)₂. En la gráfica aparece un recuadro para ejemplificar la correspondencia con las horas en que reposaron los granos de maíz. Con esta gráfica podemos mostrar el rigor experimental en el tratamiento térmico, así como un estricto control en la preparación de muestras, junto con el manejo de los niveles de variación que se establecieron para cada una de las variables. Comparemos por ejemplo la historia térmica de 7 h, con la de 9 h, las historias se sobreponen, lo que indica una normalización en los procedimientos de preparación. También sirve para eliminar unidades experimentales, que se desviaron del

comportamiento, como es el caso de la curva que corresponde a 3 horas de reposo, esta muestra se elimina y se repite.

Este sistema que se diseñó para visualizar el perfil térmico en el momento en que se está procesando el grano, es una herramienta que evidencia lo que sucede en dos de las etapas críticas del proceso, la cocción y el reposo.

Uno de los logros de esta investigación ha sido el control de la temperatura de cocción, que es una de las variables críticas y el otro una estandarización del proceso térmico-alcalino para las condiciones que se establecieron en un principio.

Dada la importancia de la repetibilidad y reproducibilidad de las muestras, en la Figura 14 se presenta la etapa de cocción por separado para un análisis más profundo en donde se muestra la reproducibilidad de la técnica para cada uno de los eventos. El factor de reproducibilidad se calculó mediante el cociente resultante de cada corrida entre el de la muestra control que fue la que obtuvo los valores de desviación estándar más bajos, 0.0132. Las fluctuaciones de temperatura que se permitieron en este proceso fueron del 2 % como máximo, cualquier cocimiento que exceda este valor será rechazado.

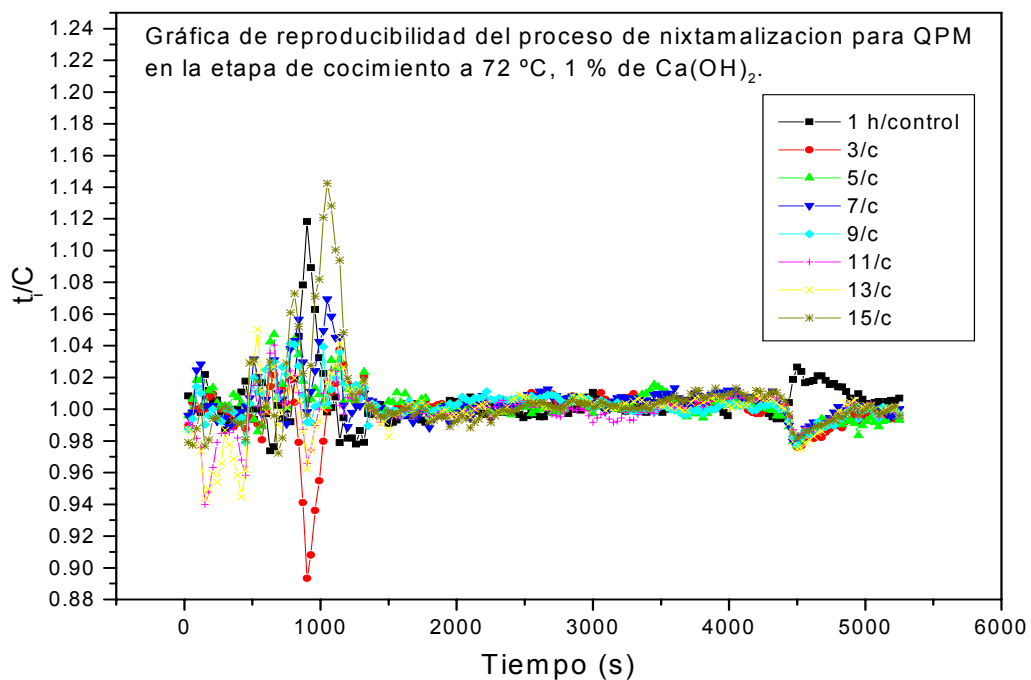


Figura14. gráfica de reproducibilidad durante la etapa de cocción, 1 % Ca(OH)₂ a 72° C.

Los picos que aparecen en la figura son el resultado de los períodos de mezclado, ya que éste se efectúa manualmente. Para eso es necesario abrir el reservorio durante unos segundos, lo que provoca un descenso en la temperatura dentro del reservorio del orden de 0.2 °C, lo cual no resulta significativo para el proceso de cocimiento, de acuerdo al criterio establecido previamente.

3.3.3 Separación manual del pericarpio

Las actividades correspondientes para la separación manual de pericarpios de maíz, para cada una de las muestras de 200 g de nixtamal, se realizaron para desarrollar tres de los objetivos siguiendo la metodología propuesta del capítulo 2.

3.3.4 Elaboración de harinas de maíz nixtamalizado

El resto de la muestra de nixtamal (1800 g), se convirtió en harina de maíz nixtamalizado, ya que una parte de las evaluaciones se realiza en ella. Las muestras se almacenaron en bolsas de cerrado hermético y se mantuvieron en un cuarto a temperatura de 5 °C, para su posterior evaluación.

3.3.5 Secado de las muestras

Los pericarpios separados de granos se secaron a temperatura ambiente junto con 50 granos de maíz sin retirar pericarpio, así como germen, cofia y endospermo, obtenidos a las mismas condiciones, hasta que alcanzaron la humedad del 12%.

3.3.6 Molienda y tamizado de las muestras

Las muestras de pericarpio se molieron y tamizaron, el polvo se utilizó para desarrollar los objetivos 1 en la determinación de calcio residual y el objetivo 3 para rayos X.

Resultado y discusión por objetivo.

En esta parte se presentan los resultados de la cuantificación del contenido de calcio residual durante la etapa de cocción y de reposo para el grano de maíz QPM H-368C, sometido como se mencionó en la sección de metodología a tres temperaturas de cocción 72, 82 y 92 °C. Se realizó la determinación cuantitativa del contenido de calcio en el grano, se obtuvo una gráfica para conocer la tendencia de la difusión de calcio residual

durante el tiempo de reposo y se describió detalladamente. Posteriormente se obtuvo la concentración de calcio en el pericarpio, que es la estructura que funciona como barrera para la difusión de calcio al interior del grano.

Los resultados de calcio fueron obtenidos mediante una determinación cuantitativa por espectroscopia de absorción atómica, utilizando estándares de calibración, así como un sistema de referencia para maíz como se describió anteriormente.

Los datos experimentales de calcio residual fueron utilizados para la elaboración de curvas que representan el contenido de calcio en el grano de maíz, durante el proceso tecnológico de nixtamalización y evidentemente tienen que ver directamente con el proceso de difusión de agua y calcio durante las etapas de cocimiento y reposo.

Para dar una explicación fenomenológica de las curvas de la concentración de calcio residual obtenidas para el grano en función de la temperatura de cocimiento y del tiempo de reposo, se obtuvo mediante microscopía electrónica de barrido a bajo vacío un análisis morfológico de los cambios estructurales en el pericarpio y en la parte más externa del endospermo. Con las dos técnicas anteriores se puede plantear un modelo que describa la tendencia del calcio residual originada por el mecanismo de difusión en un sistema complejo como lo es el grano nixtamalizado durante sus dos etapas críticas.

El pericarpio es la parte más externa del grano y la que está inicialmente en contacto con la solución alcalina, los cambios físicos y químicos en esta estructura durante la etapa de cocción fueron analizados mediante la utilización de una técnica "*in-situ*" denominada espectroscopia fotoacústica diferencial, que puede percibir en el instante cambios en el material; los cambios en el pericarpio permitieron explicar el mecanismo simultáneo de difusión de agua y calcio como función de la temperatura.

Durante la nixtamalización, la composición estructural en los complejos cristalinos y amorfos del pericarpio se vio modificada por el carácter ácido de esta estructura que es tratada en una solución alcalina. Se utilizó difracción de rayos X para estudiar estos cambios, así como identificar formación de compuestos de calcio durante la cocción

3.4 Resultados del objetivo particular 1.

3.4.1 Contenido de calcio residual en el grano total nixtamalizado

Objetivo particular 1. A partir de las determinaciones de calcio se construyeron las gráficas de calcio residual en grano total y en pericarpios de maíz nixtamalizados, sometidos a diferentes condiciones de proceso, para entender como esta primera

estructura cambia su estado físico y permite la difusión al interior del grano a otras estructuras como germen y endospermo.

El estudio de la concentración de calcio en maíz nixtamalizado en forma de harina fue un problema tratado por Trejo-González *et al.* (1982), su tendencia en una gráfica describe que el grano se satura de calcio en tiempos mayores a 7 horas. Posteriormente existen otros estudios que muestran lo contrario, ya que consideraron que el grano no es un todo homogéneo; su morfología muestra que tiene varias estructuras con distinta composición química, lo que implica diferente mecanismo de difusión de calcio, según el modelo propuesto por Fernández-Muñoz *et al.* (2002 y 2004) mostrado para una temperatura de 92 °C y después para 72 °C, donde indicó que la tendencia del contenido de calcio en función del tiempo de reposo debe ser explicada en términos de un sistema multicapa (pericarpio, germen y endospermo). Nosotros estamos de acuerdo con su planteamiento, dado que el pericarpio tiene mayor importancia, porque su degradación sucede en un largo período y de manera no homogénea, lo que trae como consecuencia que la difusión de calcio y agua no sea igual a todas las estructuras del maíz y que se requiere de diferentes tiempos para que exista una alta concentración de calcio en cada una de ellas. Como el grano experimenta cambios en las estructuras, el mecanismo de difusión debe tener relación con sus transformaciones fisicoquímicas. Zazueta *et al.* (2004) realizaron un experimento cualitativo para establecer la ruta de difusión de calcio al interior del grano y encontraron, al igual que Fernández-Muñoz *et al.* (2004), que el calcio entra de manera casi simultánea al germen y al endospermo una vez que atraviesa el pericarpio.

La figura 15 muestra el contenido de calcio en grano total, es decir en harinas de maíz nixtamalizado QPM-H368C, en función del tiempo de reposo. Las determinaciones se realizaron para tres temperaturas de cocción 72, 82 y 92 °C. Y se obtuvo la tendencia de la difusión de calcio residual.

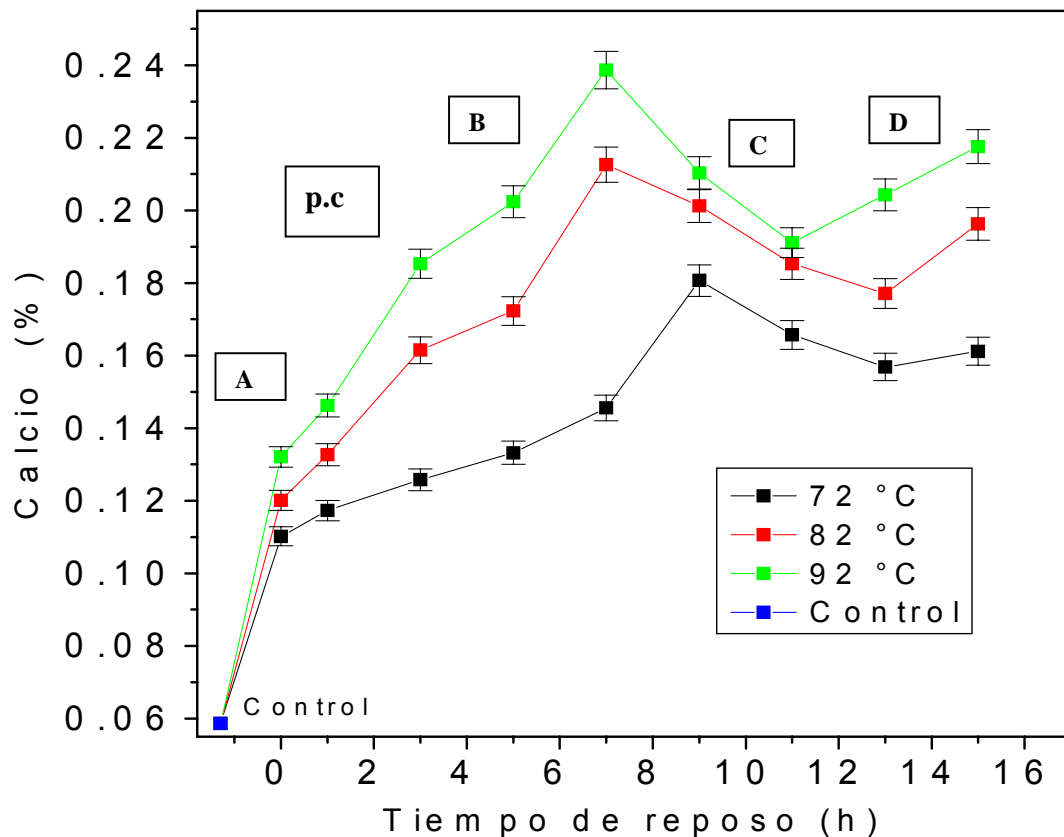


Figura 15. Concentración de calcio residual en el grano total durante la nixtamalización.

En la figura 15 cada punto de la gráfica corresponde a concentraciones de calcio residual en los tiempos de reposo. El primer punto es el valor del calcio endógeno, que es el valor de la muestra control tratada térmicamente y sin adición de calcio ni horas de reposo con un valor de 0.0585 % de calcio. Después se obtiene un incremento de calcio en la hora cero, que corresponde a la primera etapa o cocción del grano, que tampoco tiene reposo, pero si fue sometida a tratamiento térmico-alcalino durante la cocción. Durante esta etapa se deposita calcio en el pericarpio. La fijación de iones de calcio se ve favorecida por la alta temperatura y un medio alcalino como se puede apreciar de la figura 15.

Podemos observar claramente que existe una dependencia del contenido de calcio con la temperatura, es decir si aumenta la temperatura de proceso, se incrementa la concentración de calcio residual. Este hecho puede ser explicado de la siguiente manera: la solución alcalina es sobresaturada, pues el limite de solubilidad del calcio es de 0.185

w/w para 0 °C , 0.15 w/w a temperatura ambiente y 0.08 w/w a 100 °C. (Trejo-González *et al.*, 1982; Zazueta *et al.*, 2004). Este hecho podría hacer suponer que a temperatura de 72 °C la solubilidad de la solución es mayor que a 92 °C. Por lo tanto hipotéticamente podríamos pensar que a temperaturas bajas de nixtamalización el licor de cocción es más agresivo para las estructuras de contacto del grano (pericarpio), dando ligeras modificaciones físicas y químicas en el pericarpio y permitiendo el ingreso de calcio a las estructuras internas. Pero de acuerdo a la figura este hecho no se da, debido a que el pericarpio esta compuesto de fibras naturales: celulosa y hemicelulosa, que requieren elevadas temperaturas y altas concentraciones de calcio para ser modificadas morfológica y químicamente, como lo indican los estudios en muestras de pericarpio nixtamalizado, obtenidas por calorimetría diferencial de barrido realizados por González *et al.* (2004^a). De acuerdo a sus resultados, las temperaturas donde se presenta la descomposición química de la hemicelulosa y celulosa fueron 284 y 342 °C, respectivamente. Similares cambios pueden lograrse con concentraciones elevadas de calcio de alrededor de 20%, según Martínez *et al.* (2001). Estos niveles de calcio y temperaturas utilizados para provocar modificaciones fisicoquímicas en la celulosa y hemicelulosa, no corresponden a las condiciones reales del proceso de nixtamalización, por lo que no es factible en teoría que la solubilidad del hidróxido de calcio a las temperaturas manejadas en este trabajo, le provoquen grandes cambios fisicoquímicos por separado a estas fibras de celulosa y hemicelulosa. No obstante, el compuesto formado por la matriz fibrosa celulosa-hemicelulosa-lignina, si fue afectado por la combinación de temperatura-concentración-tiempo de reposo, lo que hizo posible modificaciones, que se presentarán mas adelante.

El segundo aspecto importante que muestra la figura 15 es que el contenido de calcio residual en granos no presenta un comportamiento como el descrito por Trejo-González *et al.*(1982), mas bien el comportamiento del contenido de calcio en función del tiempo de reposo fue similar al reportado por Fernández-Muñoz *et al.*(2004), por lo que la explicación del contenido de calcio en función del tiempo debe contemplar los cambios en las tres estructuras mayoritarias del grano (pericarpio, germen, endospermo), debido a que su composición química, y ubicación en el grano son diferentes.

El análisis de este proceso de transferencia de masa se dividió en cuatro partes: **A, B, C, D**, que corresponden a cuatro tiempos combinados. El período inicia en 0 h, hasta el primer punto de inflexión en la curva, el segundo contempla desde del punto de inflexión hasta el pico. El tercero, desde el pico hasta el descenso y punto de inflexión, y el último corresponde al incremento final. El período A representa la habilidad del pericarpio para retener calcio que se fija en esta estructura en forma de sales de calcio y calcio iónico, y

se manifiesta con un ascenso y una marcada dependencia lineal del tiempo de reposo. En el límite de la región A y B, el cambio de pendiente está caracterizado por un punto crítico (**p.c**), que podría deberse a un cambio físico, referido a una pérdida parcial del pericarpio y a un posible efecto de percolación, que analizaremos en detalle mediante microscopía electrónica de barrido y análisis de absorción atómica en el pericarpio.

Inmediatamente después de este punto crítico, se detecta un incremento en la concentración de calcio residual en el grano, lo que quiere decir que la difusión de calcio va en aumento. Esto probablemente es debido a que los daños irreversibles ocasionados a la primera estructura de contacto con el álcali (pericarpio), ya no representa una barrera física para la difusión, sino que favorece la difusión a las estructuras internas como el endospermo y germen. Debido a este hecho, puede considerarse que la difusión de calcio al endospermo es a través del pericarpio.

El periodo C corresponde a un descenso bastante significativo de calcio, que está basado en la pérdida casi total del pericarpio, por efecto del tiempo de reposo y del lavado además de posibles pérdidas de la parte externa del endospermo y capa de aleurona.

Finalmente la última región de la grafica D manifiesta un incremento en el contenido de calcio, que puede estar relacionado con el mecanismo de fijación de calcio ahora en el endospermo; esto se debe a que la mayor parte del pericarpio se ha depositado en su licor de cocción. Por consiguiente, el pericarpio ya no es una barrera para que pasen los iones de calcio a las estructuras internas del grano, la entrada de calcio es casi simultánea para germen y endospermo.

El tercer punto importante de la gráfica en el comportamiento del contenido de calcio como función del tiempo de reposo, es el desplazamiento de los picos máximos de la concentración de calcio. Al disminuir la temperatura del tratamiento, este pico se corre hacia mayores tiempos de reposo. Esto se debe a que los cambios en el pericarpio dependen de la temperatura de cocción y este parámetro afecta la disolución de sólidos solubles, una disolución de las gomas y pectinas como explica Martínez *et al.* (2001), una remoción de la película cerosa que recubre la epidermis o capa más externa del pericarpio (Hurtado-Castañeda *et al.*, 2005). Estos cambios fisicoquímicos se verán reflejados en modificaciones como es el espesor por efecto de la temperatura.

El análisis de microscopía electrónica de barrido a bajo vacío podría probar cambios de morfología que pueden fundamentar que la temperatura es una variable crítica en el deterioro de las estructura y con esto facilita el fenómeno de transferencia de masa a través del mecanismo de difusión, lo que refleja que a temperatura de 92 °C, el tiempo en que se llega a la máxima concentración de calcio en el grano es más rápido.

El análisis anterior se basa en el contenido de calcio en toda la estructura (grano total). Con estas observaciones no podría explicarse completamente el comportamiento de la gráfica, hasta no analizar que sucede con cada una de las estructuras del grano a través del tiempo. Considerando que el grano es un sistema multicapa, entonces la difusión de iones de calcio no será homogénea en el grano, pues cada una de ellas tiene diferente composición química. Al hacer el análisis por separado de todas las estructuras del maíz nos ayudará a entender como ocurre la difusión de agua y calcio para explicar con precisión el mecanismo de fijación de calcio residual.

El análisis estadístico que se realizó para los datos es una covarianza, que es una combinación de una anova mas una regresión lineal; este método realiza un ajuste para los efectos de una variable perturbadora, la regresión permite establecer una ecuación de comportamiento para la predicción de la variable de respuesta, en este caso la difusión de iones de calcio.

3.4.2 Contenido de calcio residual en pericarpios nixtamalizados

Para entender el comportamiento del contenido de calcio en función del tiempo de reposo, presentado en la figura 15 para el grano total, fue necesario realizar una disección del grano en sus componentes anatómicos, iniciando por el pericarpio y determinar de manera cuantitativa el contenido de calcio residual.

En la figura 16 se muestra el contenido de calcio residual en el pericarpio, como función del tiempo de reposo.

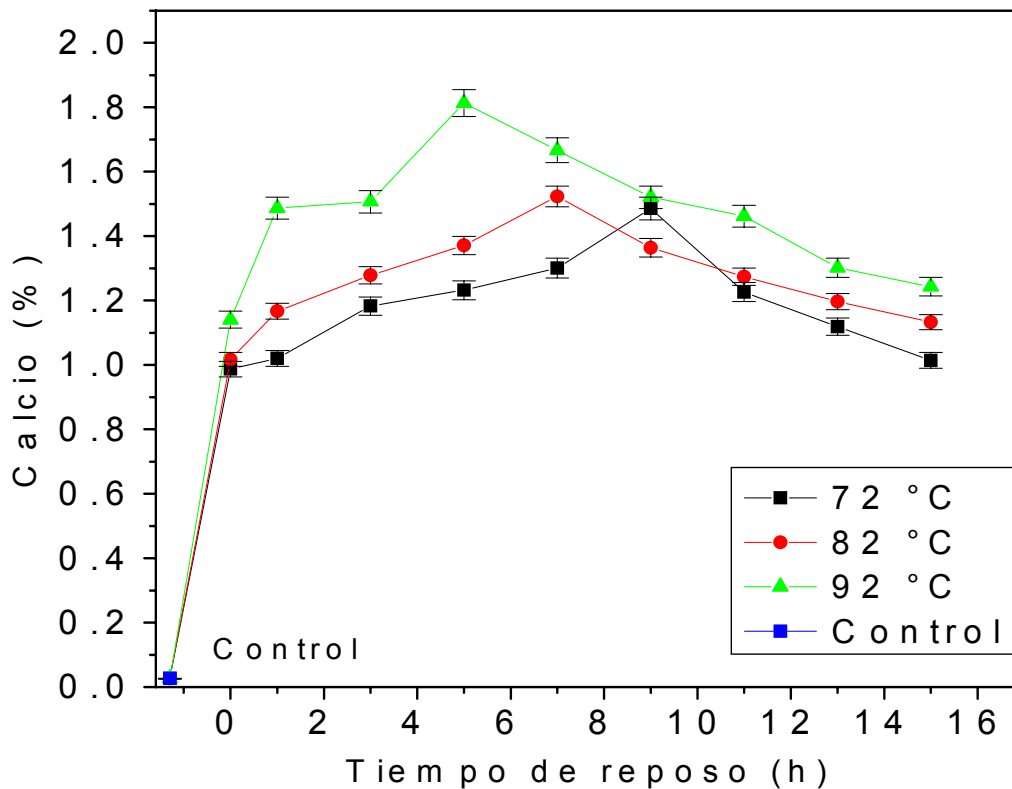


Figura 16. Concentración de calcio residual en pericarpio durante la nixtamalización.

Como se puede ver en la figura 16 la concentración de calcio residual en el pericarpio es mayor si la temperatura de tratamiento incrementa; se puede apreciar que para el pericarpio a la temperatura de 92 °C hay un máximo a la hora 5, y este pico se va corriendo hacia tiempos mayores, cuando la temperatura de tratamiento disminuye. Para cada tratamiento después de este pico característico, se presenta un descenso en el contenido de calcio, que se debe a las pérdidas de pericarpio por efecto de los lavados. Como el pericarpio se ha suavizado, es fácil de desprender del grano y depositarse en el licor de cocción, aumentando por consiguiente el contenido de calcio en el nejayote e incrementando las pérdidas de materia seca (Fernández- Muñoz *et al.*, 2004).

Como el proceso térmico-alcalino es realizado en condiciones atmosféricas, es factible que existan reacciones químicas entre los componentes del medio y el grano en el nejayote. Esto significa que después de unos minutos de cocción se podrían formar algunos compuestos de calcio, como se verificará por medio de difracción de rayos X.

El contenido de calcio mostrado en la figura 16 para el pericarpio, es entonces una parte del contenido de calcio del grano total mostrado en la figura 15 y pone de manifiesto que

parte de la pérdida en el contenido total de calcio en el grano se debe a la pérdida por la disolución de los componentes del pericarpio y de los lavados del grano.

3.5 Resultados del objetivo particular 2.

3.51 Cambios físicos en pericarpio

De las secciones anteriores, ya conocemos el contenido de calcio en el grano total y en el pericarpio, pero es importante tener una mayor evidencia de los cambios fisicoquímicos que ocurren en cada uno de los componentes del grano durante el proceso térmico alcalino para poder generar un modelo fenomenológico. En esta sección, enfocaremos nuestra atención básicamente a los cambios que ocurren en el pericarpio por ser éste una barrera que el calcio y al agua deben de vencer para que exista la difusión al interior. La micrografía de pericarpio de maíz crudo (figura 17). fue utilizada como referencia para comparar el efecto de los tratamientos sobre el pericarpio durante el proceso de nixtamalización.

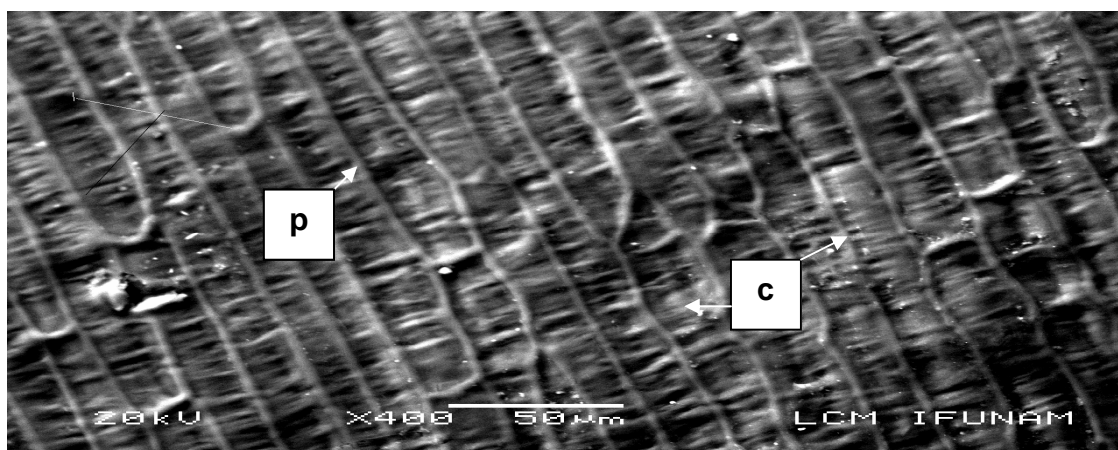


Figura 17. Micrografía del pericarpio crudo que cubre al endospermo.

La imagen de la figura 17 pertenece al pericarpio de maíz nativo o crudo, es decir sin ningún tratamiento; en la imagen podemos observar la integridad de la estructura, los paneles (p) alargados y direccionados están perfectamente bien definidos, la capa cerosa (c) epidermis presente le da brillo a la estructura y la hace casi impermeable al agua.

3.5.1 Efecto del tratamiento térmico (etapa de cocción)

La figura 18 muestra Micrografías del efecto térmico sobre el pericarpio durante la etapa de cocción, sin adicionar calcio.

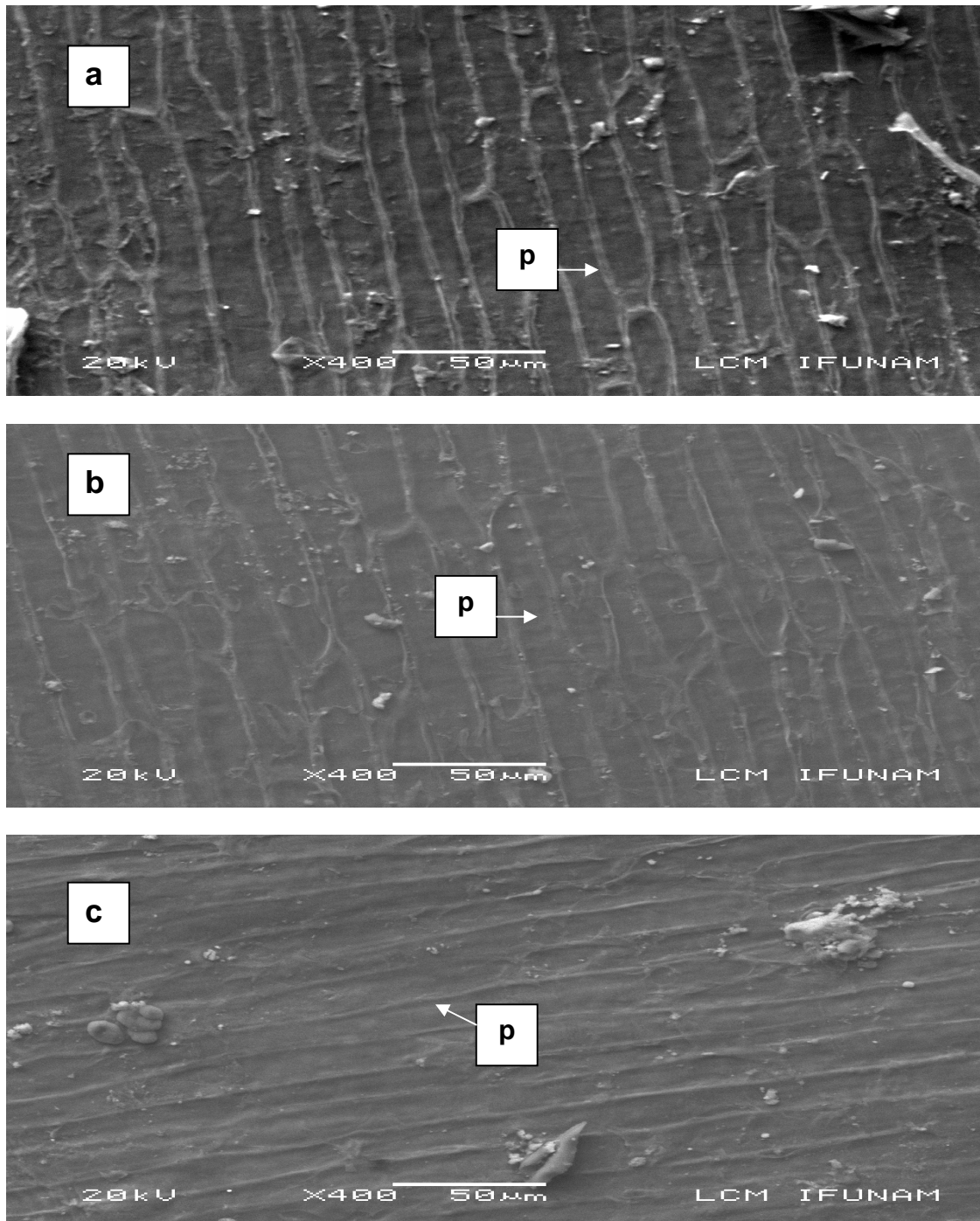


Figura 18 Micrografías de pericarpio de maíz tratado térmicamente a : a) 72 °C, b) 82 °C y c) 92 °C (sin adicción de calcio).

Estas imágenes fueron tomadas en el pericarpio que cubre al endospermo ya que representa la parte mayoritaria del pericarpio total, usando un microscopio electrónico de barrido a bajo vacío. Es importante conocer como va cambiando la morfología del pericarpio durante el tratamiento, porque puede ser correlacionados con la difusión.

Las micrografías mostradas en la figura 18 a, b, c, fueron tomadas a pericarpios tratados térmicamente, sin adición de hidróxido de calcio. La figura 18 a) fue tratada en la cocción a una temperatura de 72 °C, la 18 b) a 82 °C y la 18 c) a 92 °C.

Podemos observar en las imágenes que el pericarpio de maíz sufre cambios en su morfología, las figuras de los paneles (p) direccionados y alargados desaparecen, lo mismo que el brillo en la estructura. Comparada con la figura 17 del pericarpio nativo el efecto se percibe en todas las muestras, es mayor a temperatura de 92 °C y es menor a 72 °C, evidentemente la temperatura afecta a la capa cerosa o epidermis, que es la mas externa del pericarpio.

3.5.3 Efecto del tratamiento térmico- alcalino (durante etapa de cocción).

En esta sección, se presenta un análisis en microscopía electrónica de barrido para el tratamiento térmico-alkalino con adición de $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

Los cambios más significativos en pericarpio durante la etapa de cocción, debido al tratamiento térmico-alkalino, se apreciaron para la temperatura de 92 °C. La figura 19 muestra la micrografía de pericarpio que ha sido sometido a tratamiento térmico-alkalino durante la etapa de cocción del grano de maíz.

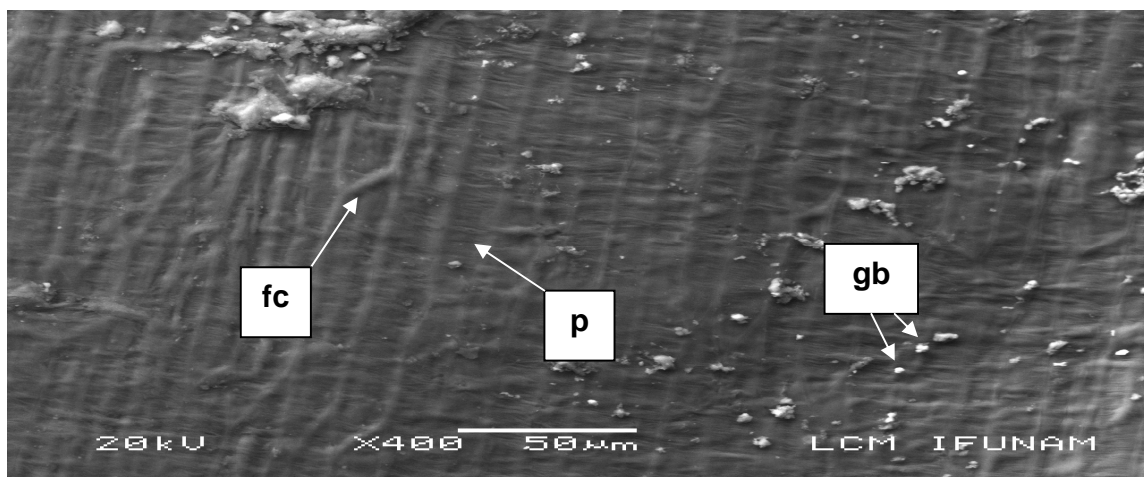


Figura 19. Micrografía de pericarpio de maíz con tratamiento térmico-alkalino (cocción).

En la imagen 19 es claro que las mallas formadas por las fibras de celulosa (fc) se han mimetizado notablemente. La capa cerosa o epidermis que le permite retardar el intercambio de la humedad ha sido afectada, puesto que ya no aparece el brillo característico de esta capa (Watson y Ramstad, 1987); además puede estar asociada con la absorción de agua. Los paneles (p) han desaparecido parcialmente, en algunas partes se perciben muy tenues y borrosos (Martínez *et al.* (2001), reportan que durante la etapa de cocimiento se disuelven los componentes solubles del pericarpio, específicamente se trata de una disolución de las gomas presentes en el pericarpio (pectinas) las que representan un porcentaje mínimo de esta estructura; sin embargo los cambios que sufre han podido ser identificados para tiempos cercanos a 10 minutos después de iniciada la cocción de los granos de maíz. Inmediatamente después se presenta una hidrólisis alcalina de sus componentes, ya que la hemicelulosa tiene carácter ácido debido a los ácidos urónicos y fenólicos localizados en los extremos de su cadena principal, los cuales son neutralizados por el licor de cocción que es un álcali según lo reportado González *et al.* (2004^b) y por Hurtado-Castañeda *et al.* (2005). También se ha demostrado el descenso del pH al final de la fase de cocimiento y una pérdida de materia seca importante (Martínez *et al.*, 2001), lo que comprueban que hubo cambios químicos a nivel de la matriz fibrosa.

Se observa en la figura 19 la acumulación de gránulos blancos (gb), que son compuestos de calcio que se formaron y se fijaron en el pericarpio durante la cocción del grano; estos compuestos fueron determinados e identificados más adelante a partir del análisis de espectroscopía de difracción de rayos X realizada en muestras de pericarpio tratado.

Una vez concluida la etapa de cocción, se suspende el calentamiento e inicia el reposo, donde también continúan presentándose cambios dependiendo el tiempo en que el grano es reposado en su licor de cocción.

3.5.4 Efecto del tratamiento térmico-alkalino (durante la cocción-reposo)

La figura 20 corresponde al grano de maíz con tratamiento térmico-alkalino. Ha sido cocido a 92 ° C y reposado por un tiempo de una hora en su mismo licor de cocción. Al aumentar el tiempo de reposo, el grano hidratado se suaviza y se hincha más, los daños son evidentes en la parte más externa del pericarpio, lo cual permite la entrada masiva de calcio al germen y al endospermo.

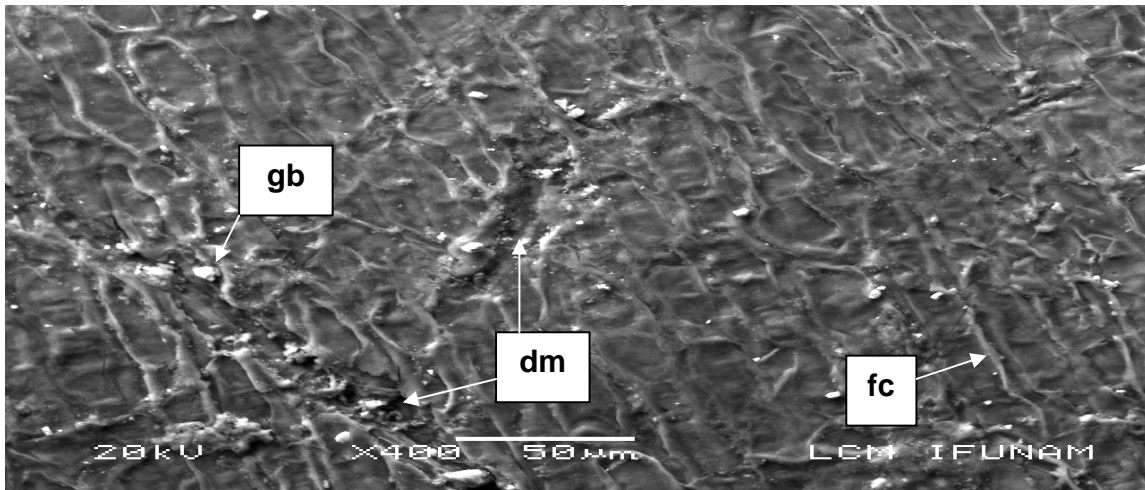


Figura 20. Micrografía de pericarpio de maíz nixtamalizado con 1 hora de reposo.

Podemos observar en la Micrografía de la figura 20 que la primera capa del pericarpio o epidermis ha desaparecido, ahora vemos desnudos las fibrillas de celulosa (fc) que constituyen a los paneles direccionados y alargado. Dentro de ellos apreciamos gránulos blancos, es decir mayor cantidad de compuestos de calcio fijados a la estructura. Se ven también degradación en la superficie, desgarre del mesocarpio (dm) que es la segunda capa de las cinco del pericarpio del exterior a interior, lo que favorece la entrada de licor de cocción a otras capas del pericarpio, facilitándose el mecanismo de difusión de agua y de calcio.

Indudablemente el efecto de la temperatura y el tiempo de reposo han hecho estragos en la estructura que son notables, evidenciando que el pericarpio es degradado a través del tiempo; en gran medida resulta que el complejo proceso de nixtamalización es transitorio, o en otras palabras cambia con el tiempo, presentando reacciones químicas, lo que hace difícil establecer las condiciones de frontera para un estudio de transferencia de masa en la nixtamalización de maíz.

Las micrografías de las figuras 21 a, b, c que se presentan a continuación muestran cambios físicos en el pericarpio de maíz tratado a 92 °C, con granos reposados en su nejayote por 3 horas, se muestran diferentes aumentos para tratar de identificar los micro cambios que pueden estar ocurriendo durante este tiempo, ya que en una sola imagen no fue posible captar todos.

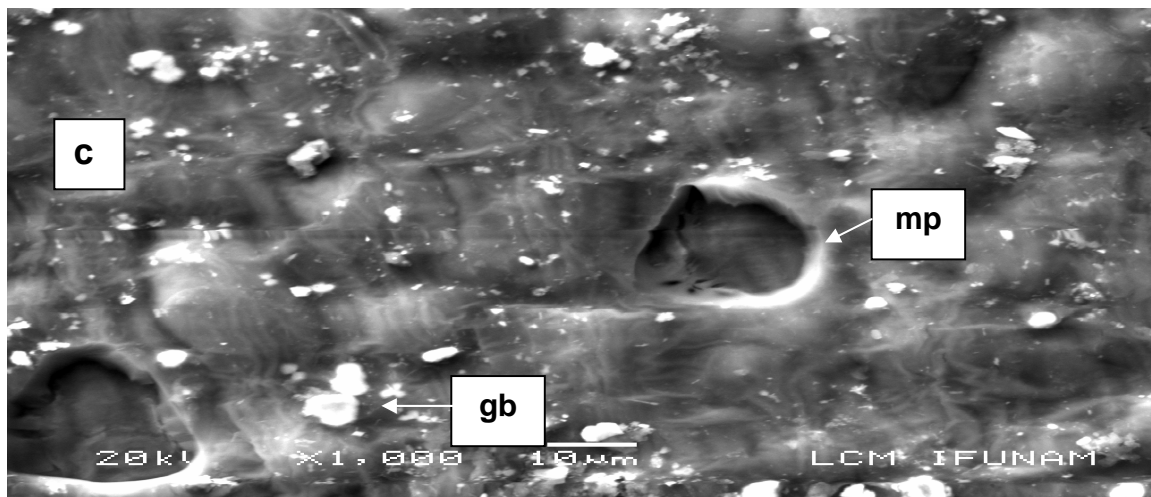
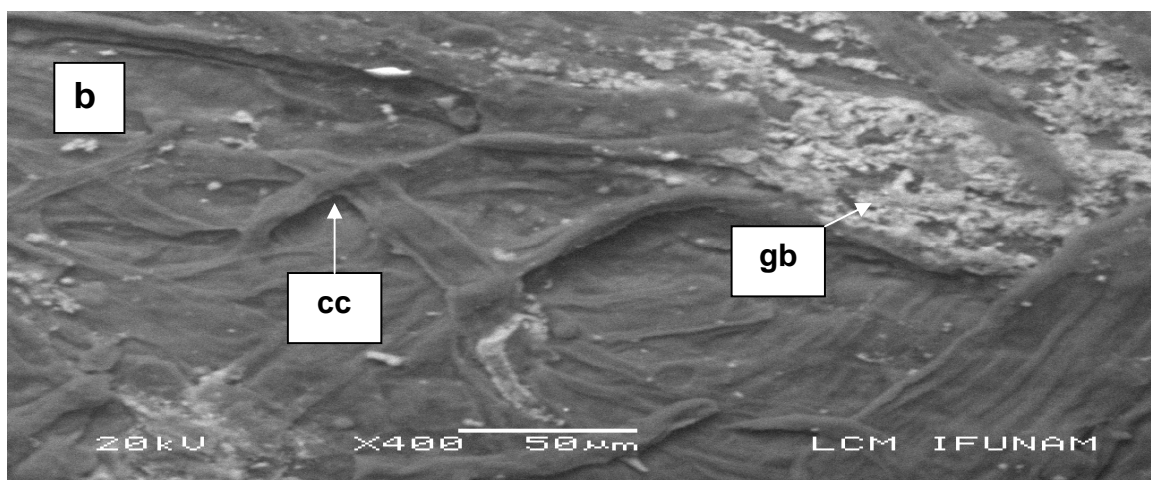
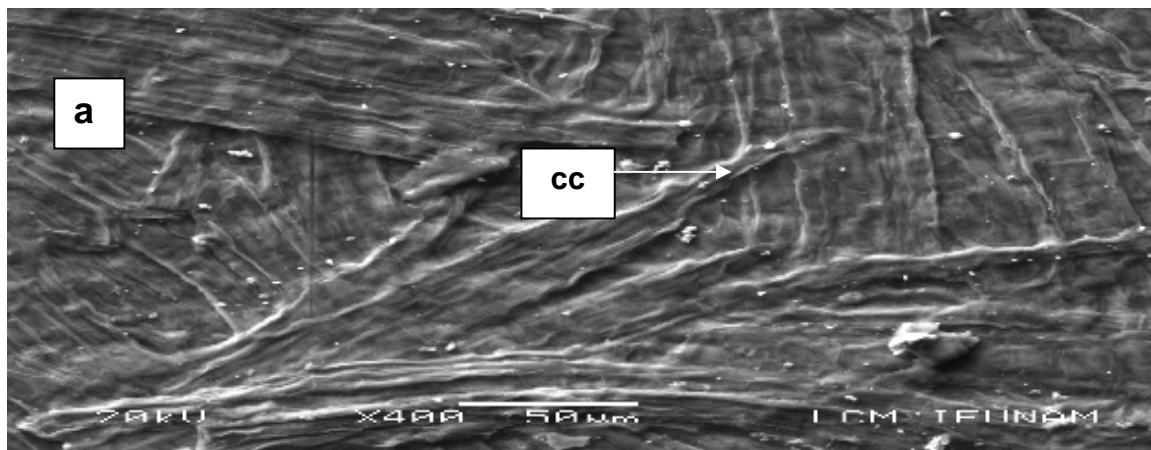


Figura 21. Micrografías de pericarpio de maíz nixtamalizado con 3 horas de reposo: a) capa cruzada b) acumulación de cristales de calcio y c) microporos en la capa cruzada.

La figura 21 a muestra la capa cruzada (cc) del pericarpio a la tercera hora de reposo. Por un lado el calcio ha estado difundándose al interior de las capas de células cruzadas, está es un área poco compacta, las células están tensadas principalmente en forma tangencial alrededor del grano, la cual tiene una gran distribución de espacio intercelular. Por otra parte también se observa la degradación de esta estructura que se va presentando en la superficie del grano, lo que comprueba que los daños en el pericarpio se dan como una desfoliación de sus capas, habiendo una pérdida importante de materia que se va depositando en el nejayote. A las tres horas de reposo del grano, dos de sus capas han desaparecido totalmente, la epidermis y el mesocarpio. En la figura 21 b podemos apreciar la acumulación de gránulos blancos (gb), que corresponden a compuestos de calcio en la estructura dentro de los cruces del tejido en algunas zonas.

Dadas las características de la degradación, se presenta una imagen con mayor aumento, que corresponde a la figura 21 c. De acuerdo a esta figura es claro que se presentan micro poros (mp), que conectan con la capa siguiente, la capa de células tubulares que es la que distribuye el agua y los nutrientes al endospermo y al germen durante su crecimiento dadas a sus características de interconexión (Serna-Saldívar, 1996). Esta capa realiza la misma función durante el proceso de nixtamalización, distribuyendo la solución de calcio hacia otras estructuras del grano.

Esto quiere decir que a la tercera hora en que los granos han reposado, la desfoliación del pericarpio ha permitido una mayor entrada de agua y calcio. El mecanismo de difusión ha sido mayormente favorecido con la degradación de la estructura, lo que trae como resultado una fijación importante de compuestos de calcio. El daño en la estructura es irreversible y sigue su curso al ir transcurriendo el tiempo. Este hecho de formación de microporos tiene una correlación con el cambio de pendiente en la figura 15, indicando claramente que los cambios físicos del pericarpio tienen una repercusión importante en el comportamiento del contenido de calcio como función del tiempo de reposo para las estructuras internas del grano. Observamos también que los gránulos blancos (gb) o compuestos de calcio son de distintos tamaños, lo que explica que los cristales de calcio se van acumulando y creciendo. Cabe destacar que esta capa del pericarpio es característica y muy fácil de identificar con respecto a las restantes.

En la figura 22 a, b, c se presentan micrografías de pericarpio con tratamiento térmico-alcalino a 92 °C y granos reposados en el nejayote por 5 horas. Estas son imágenes representativas de lo que ocurre en la totalidad del grano de maíz procesado.

En la hora 5 de reposo, los cambios no son homogéneos alrededor de todo el grano, por lo que es necesario presentar diferentes regiones.

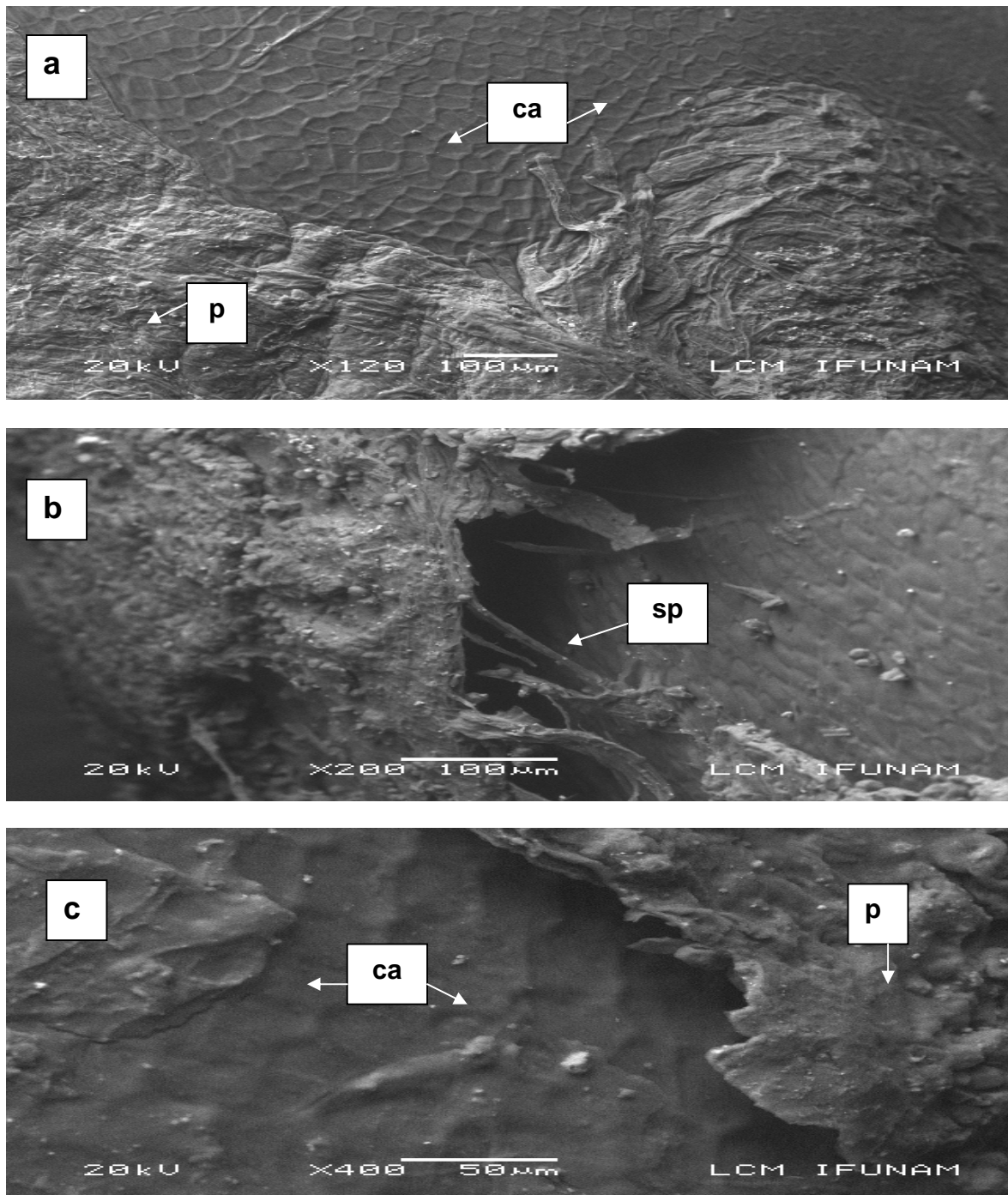


Figura 22. Micrografías de pericarpio de maíz nixtamalizado con 5 horas de reposo: a) muestra pérdida de pericarpio, b) desprendimiento del pericarpio y c) capa de aleurona.

La figura 22 a tomada a menor resolución con el propósito de abarcar una mayor área de la superficie del grano, vemos que parte del pericarpio (p) se ha desprendido del grano en algunas regiones del mismo. Podemos observar también la capa de aleurona (ca) que cubre por completo al endospermo y lo separa del pericarpio queda expuesta, y bajo ella se aprecian los paquetes de gránulos de almidón localizados en el interior. La figura 22 b, con mayor aumento, muestra la forma en que el pericarpio se separa del grano (sp). Al efecto de separación de capas del pericarpio puede denominársele desfoliación, ya que es el resultado de la desintegración de los componentes del pericarpio y la separación de las capas constituyentes de la estructura debido al proceso térmico alcalino.

En la figura 22 c con mayor aumento, podemos ver dos tipos de tejidos: fracciones del pericarpio (p) y fracciones de capa de aleurona (ca) . Es importante considerar que a las cinco horas de reposo el calcio ha llegado a otras estructuras internas por lo que las interacciones de calcio con diferentes componentes químicos dan una heterogeneidad a los cambios físicos que se reflejan en las imágenes. Estos cambios provocan que también se presente una mayor concentración de calcio en el grano, puesto que ha comenzado a fijarse en otras estructuras internas. Por esa razón no se descarta la posibilidad de que exista interacción de calcio con otros componentes químicos como son proteínas, almidones presentes en el endospermo y grasas en el germen. En la curva que se presenta de calcio residual en pericarpio, el pico máximo está fijado en la hora 5 para la temperatura de 92 °C, esto quiere decir, que a pesar de haberse presentado pérdida de materia, el calcio fijado en esta estructura representa una cantidad importante como lo muestra la figura 15. Evidentemente, después hay un descenso de calcio residual, donde entonces la pérdida del pericarpio es importante porque también arrastra calcio. Ambos se depositan en el nejayote que durante el proceso se drena y se elimina, además durante los lavados, que forman también parte del proceso, otra parte del pericarpio y de calcio se pierden.

Se puede resumir que lo sucedido a los granos de maíz a las cinco horas de reposo: Al inicio, durante la cocción, ocurren cambios químicos en la capa cerosa o epidermis, con una disolución de las pectinas y la neutralización de los ácidos urónicos presentes en la hemicelulosa; consecutivamente se presenta la desfoliación, después de tres horas de reposo la capa cruzada se percola favoreciendo la difusión de calcio y agua al grano y mayor fijación de compuestos de calcio en el pericarpio. Sin embargo también el pericarpio comienza a perderse y a depositarse en el nejayote, eliminando con esto grandes cantidades de calcio. Al desprenderse el pericarpio deja al descubierto la capa de aleurona y en contacto directo con la solución alcalina, ésta estructura tiene diferente

composición química a la del pericarpio; por lo tanto los cambios químicos que se presentan en el grano son de distinta naturaleza, tales como la saponificación de las grasas, formando sales de Ca a través de la interacción de los lípidos saponificables presentes en la capa de aleurona y posiblemente algún tipo de interacción con algunas proteínas (Gonzalez, *et al.*, 2004^a).

Hay que recordar que el pericarpio que cubre al germen es más delgado que el que cubre al endospermo, como se mostró en la determinación del espesor. De manera que la solución alcalina tendrá primero contacto con el germen y posteriormente con el endospermo, al menos la que entra después de que el pericarpio se ha degradado. En el germen predominan las grasas y las proteínas, por lo que el mecanismo de fijación de calcio se debe principalmente a la saponificación de las grasas, mientras que en el endospermo existen otro tipo de proteínas, localizadas en la matriz proteica, que es la que cubre a los paquetes de gránulos de almidón. Aquí el mecanismo de fijación de calcio es diferente, hay formación de compuestos de inclusión entre los componentes del almidón parcialmente gelatinizado.

Dado que en este momento el calcio ha provocado una degradación importante del pericarpio, la mayor parte de esta estructura ya no existe, pero además ha comenzado a degradar a las estructuras internas, a la capa de aleurona, al germen y al endospermo. La evidencia que pudiera esclarecer y justificar la situación del grano se presentan en imágenes consecutivas de los tiempos de reposo, que se han correlacionado con la curva de la concentración de calcio residual.

En la figura 23 a, b se muestran micrografías de pericarpio, tomadas de granos de maíz cocidas a 92 °C, con tiempos de reposo de siete horas en su mismo licor de cocción.

Cabe mencionar que fue necesario bajar la resolución para captar la mayor superficie del grano y poder especificar la pérdida muy notable del pericarpio.

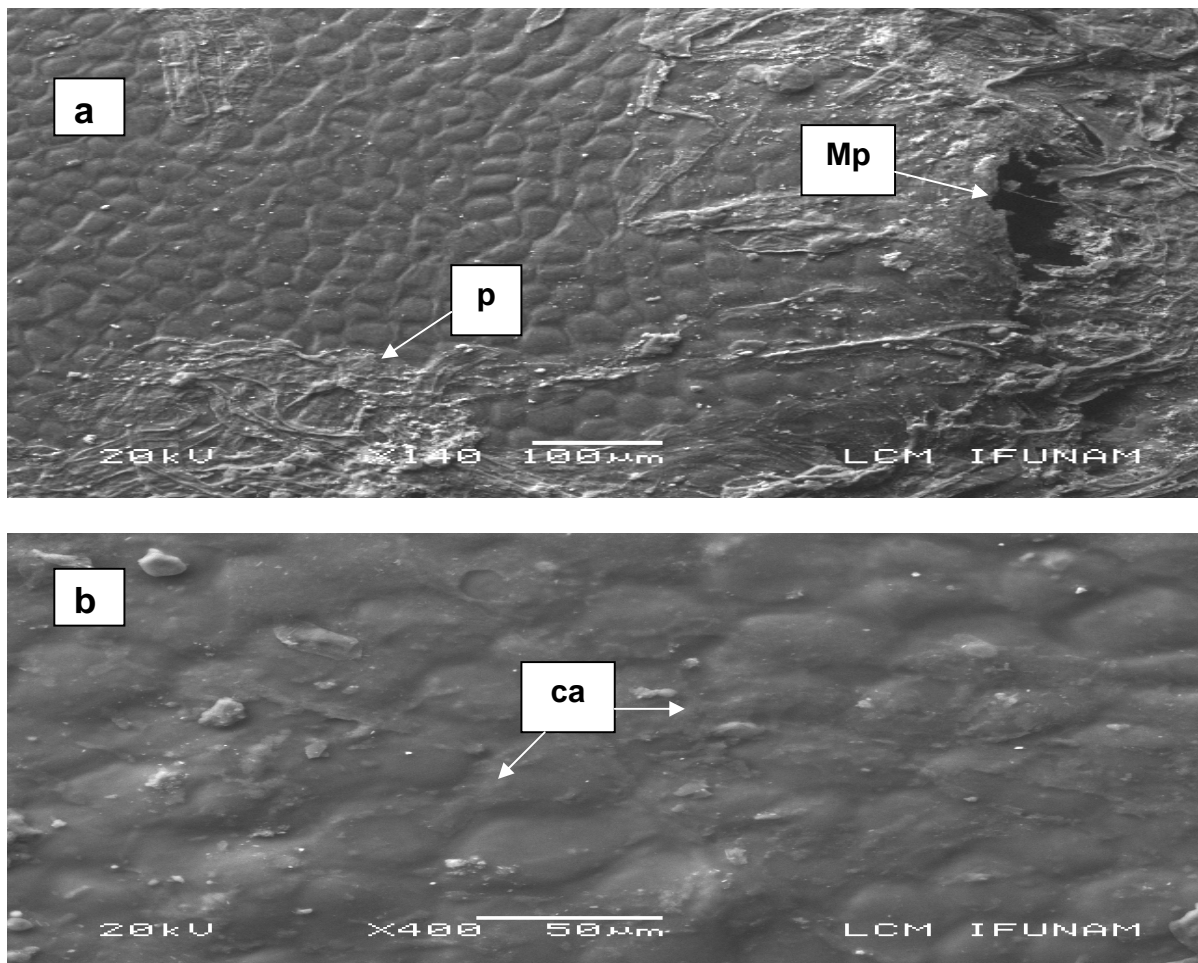


Figura 23. Micrografías de pericarpio de granos nixtamalizados a 7 horas de reposo: a) trazas de pericarpio en el grano, b) capa de aleurona.

En la figura 23 a se puede apreciar una reducción significativa de pericarpio (p) presente en el grano; esto significa que se ha presentado una importante pérdida de materia, particularmente fibra, y junto con ella se ha perdido calcio que se había fijado en esa estructura. La gráfica de calcio residual de grano entero (figura15) muestra un descenso de calcio a la temperatura para 92 °C. Aseguramos que el calcio está en contacto con las partes internas del grano porque esta imagen presenta macroporos (Mp) sobre la capa de aleuronas que han permitido la entrada del licor de cocción, específicamente iones de calcio, en contacto directo con la matriz proteica que rodea los paquetes de gránulos de almidón, que posiblemente también se encuentren dañados. También podemos apreciar en esta figura fracciones de pericarpio en la superficie del grano, sobre la capa de aleuronas. En la Figura 23 b con mayor aumento, se presenta una imagen de la capa de aleuronas (ca), con apenas rastros de pericarpio.

En la figura 24 a, b, c, d, e, f, g y h se presentan micrografías de granos de maíz nixtamalizados a 92 °C y reposados en su mismo licor de cocción a 9 horas. Aquí se presentan imágenes con apenas rastros de la existencia de pericarpio, sin embargo fue necesario ilustrar los importantes cambios que se presentan a nivel grano; por esa razón se presentan varias imágenes a distintas resoluciones. Fue además muy importante obtener imágenes con mucho mayor aumento que en las anteriores.

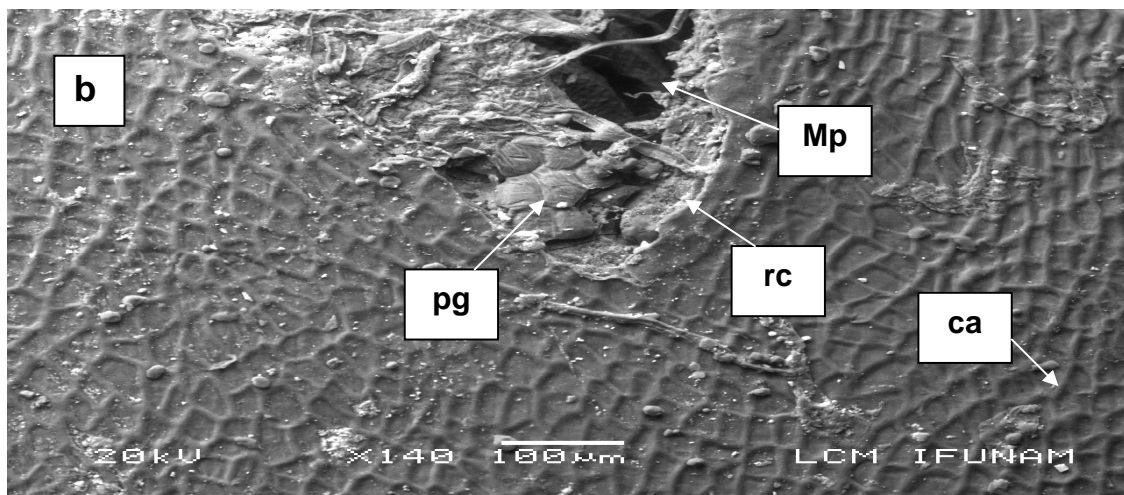
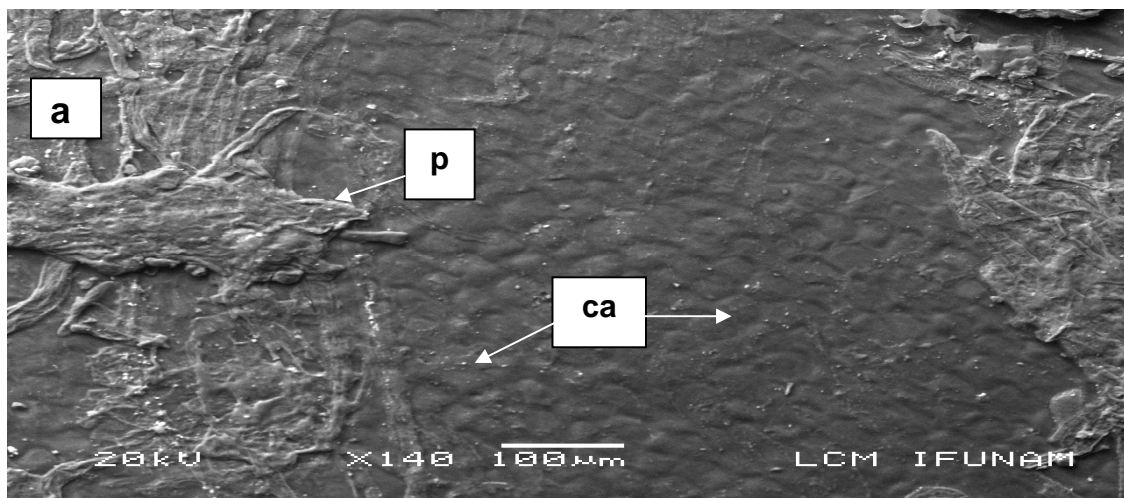
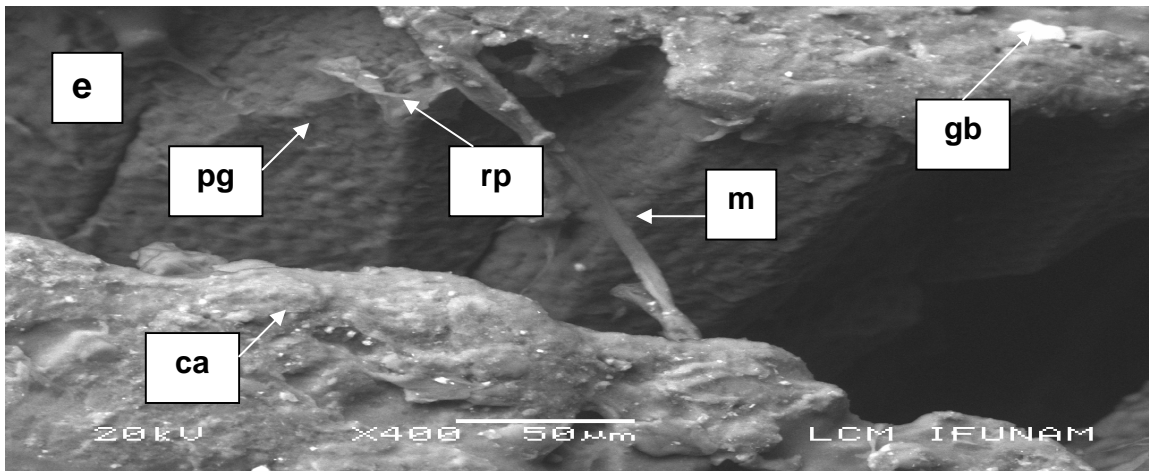
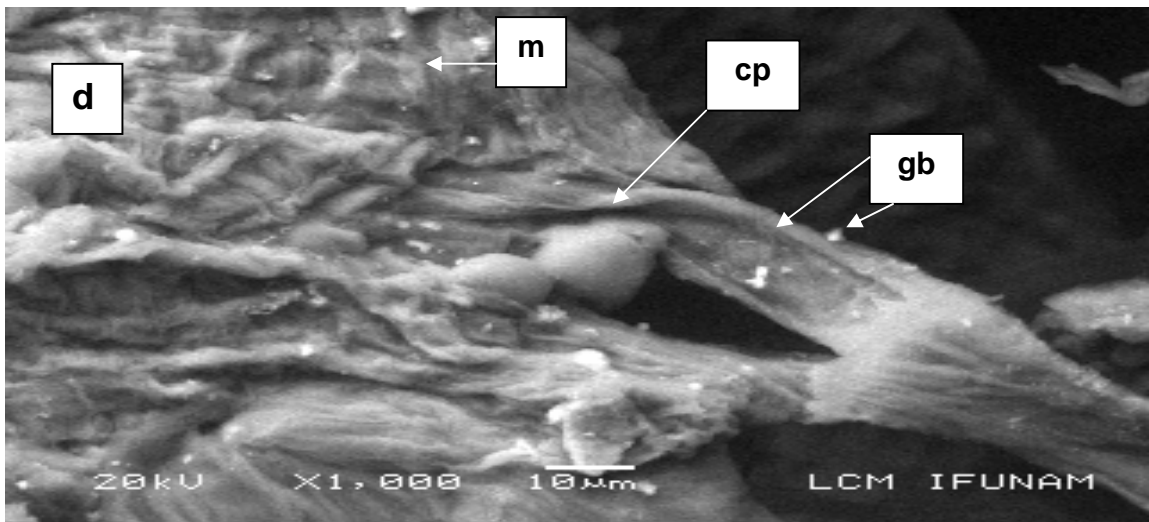
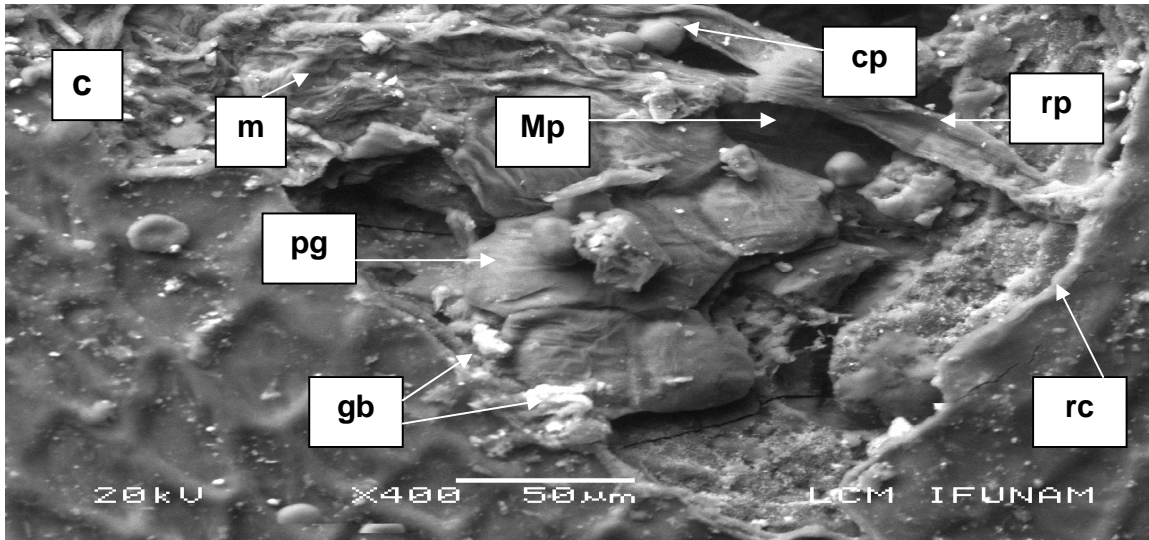


Figura 24. Micrografías de granos de maíz cocidos a 92 ° C y 9 horas de reposo: a) pericarpio y capa de aleurona, b) rasgadura de la capa de aleurona.



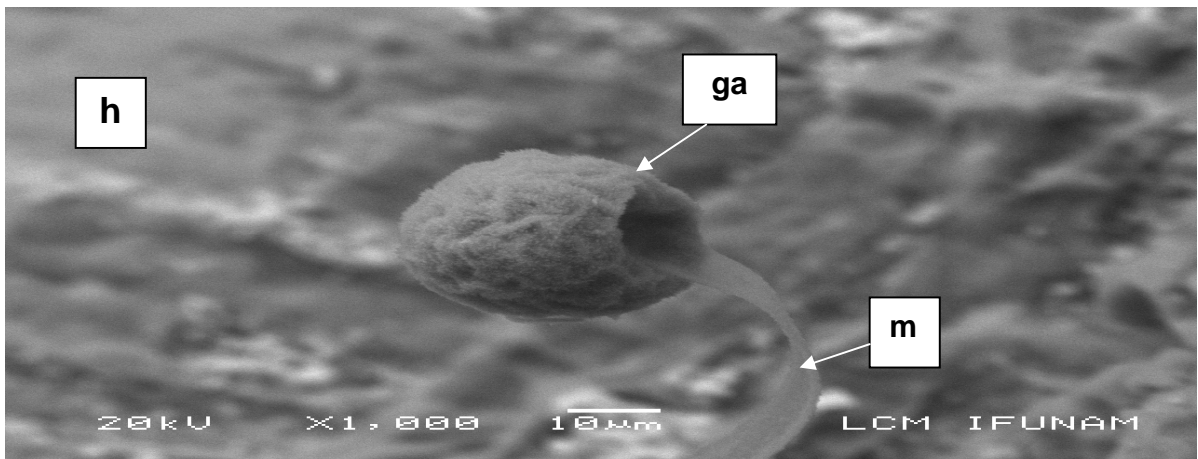
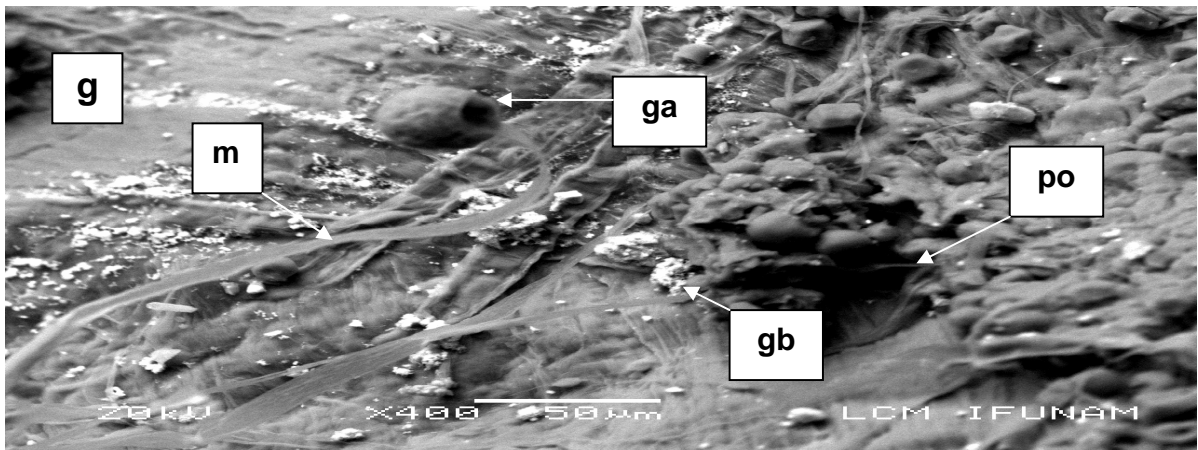
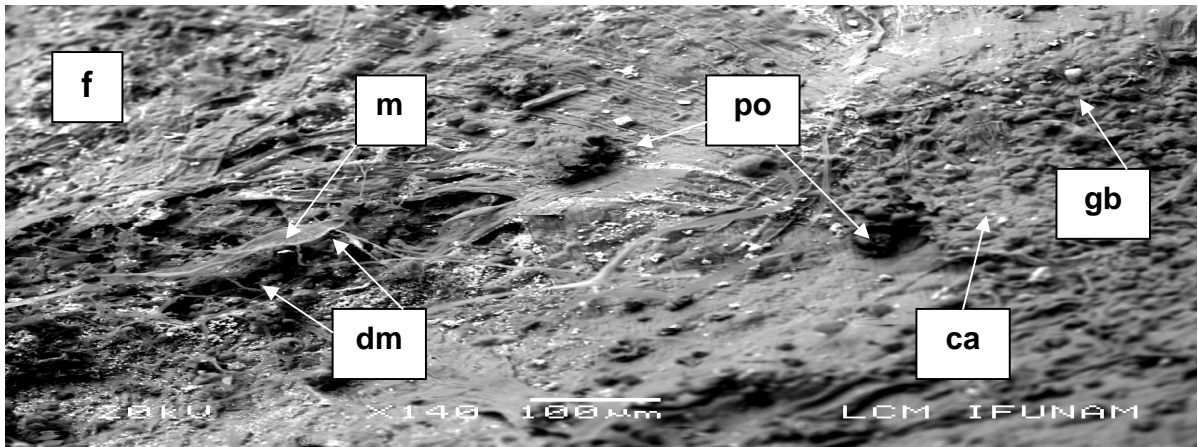


Figura 24. Micrografías de granos de maíz cocidos a 92 ° C y 9 horas de reposo: c) rompimiento de la matriz proteica, d) matriz y cuerpos proteicos, e) paquetes de gránulos de almidón, f), pozos en la capa de aleuronas, g) desorden de capa de aleuronas y matriz proteica y h) gránulo de almidón.

En la figura 24 a son perceptibles trazas de pericarpio (p). Se observa de manera más clara la capa de aleurona (ca), al no haber pericarpio. Es evidente que la contribución de calcio que se fijó en esa estructura se perdió al desprenderse del grano y depositarse en su licor de cocción; ésta es parte de la materia seca perdida durante el proceso.

En la figura 24 b se ha captado otro aspecto del mismo grano; alcanzamos a apreciar un macro poro (Mp), que ya se había identificado desde la hora 7, alrededor del cual se visualiza un rompimiento de la capa de aleurona (rc) y paquetes de gránulos de almidón íntegros (pg). Fue necesario en esta misma imagen tomarla con mayor resolución para hacer un análisis más detallado de los cambios apreciables. Así se presenta la figura 24 c, donde se observa la rasgadura de la capa de aleuronas (rc), así como el rompimiento de la matriz proteica (rp) junto los cuerpos proteicos presentes sobre ella (cp). Están presentes también los paquetes de gránulos de almidón (pg) cubiertos por su matriz proteica y pequeños gránulos blancos (gb) de formas diversas que son los compuestos de calcio fijados en la matriz (m). Un mayor aumento en la figura 24 d permite observar como los cuerpos proteicos (cp) que son blancos y esféricos, están incrustados en su matriz proteica (m), la cual tiene una apariencia rugosa, en forma de pliegues; visualizamos también pequeños gránulos blancos (gb) que son fracciones de calcio depositadas sobre la matriz proteica.

En granos tratados y con nueve horas de reposo encontramos algunas peculiaridades. Aun cuando se secaron a las mismas condiciones de temperatura ambiente (por debajo de 25 °C), se presentan fracturas (fa), que son provocadas por efecto del secado, debido a que la humedad, afectó al endospermo; las fracturas se forman en la mayoría de los granos durante su desecación. Esto es evidente sobre todo en granos que han reposado muchas horas. Sin embargo, aprovechándonos de estas fracturas, visualizamos lo que ocurre al interior del grano en la figura 24 e. En la superficie se aprecia la matriz proteica (m) y se muestra la destrucción de la capa de aleurona, lo que significa que el endospermo está desnudo en algunas zonas del grano; también se visualizan pequeñas fracciones de calcio (gb) dentro de los paquetes de gránulos de almidón muy bien ordenados; en el centro de la imagen se observa la matriz proteica desprendiéndose de los paquetes de gránulos de almidón. En la figura 24 f encontramos un desorden en la matriz proteica (dm), con pozos que comunican al interior (po), así como aglomerados blancos, que son compuestos de calcio (gb). Hay un caos y estos cambios se pueden interpretar como una pérdida del orden entre la capa de aleurona y la matriz proteica. En la figura 24 g que es la misma imagen, pero con mayor aumento y se puede apreciar el pozo (po) expulsando gránulos de almidón (ga) con restos de matriz proteica (m) y

grandes acumulaciones de calcio (gb). Por último, la figura 24 h fue tomada cambiando el enfoque de la figura anterior y dándole mayor aumento sobre un gránulo de almidón libre (ga), que lleva con él un trozo de matriz proteica (m).

Se ha realizado un análisis detallado de los cambios que presenta el pericarpio de grano de maíz cocido a 92 °C y un reposo de nueve horas. Pudimos ver que la mayor parte del pericarpio se eliminó y únicamente aparecen trazas de pericarpio, por lo que es difícil seguir explicando cambios en esta estructura. Hablamos entonces de que el pericarpio se desprende del grano en forma consecutiva; al transcurrir el tiempo de reposo de los granos, hay menos pericarpio en la superficie, y con ello una pérdida de calcio que se depositó en el licor de cocción y que será eliminado durante el drenado, lo que se relaciona con el descenso de calcio residual en la grafica de la figura 16. Sin embargo, el pericarpio residual, o las fracciones que quedan en el grano también pueden ser sometidas a un análisis comparativo por horas.

3.5.5 Calcio en pericarpio residual

La Figura 25 a, b, c, d, e, muestra micrograffas donde se aprecia calcio que se ha depositado en el pericarpio residual.

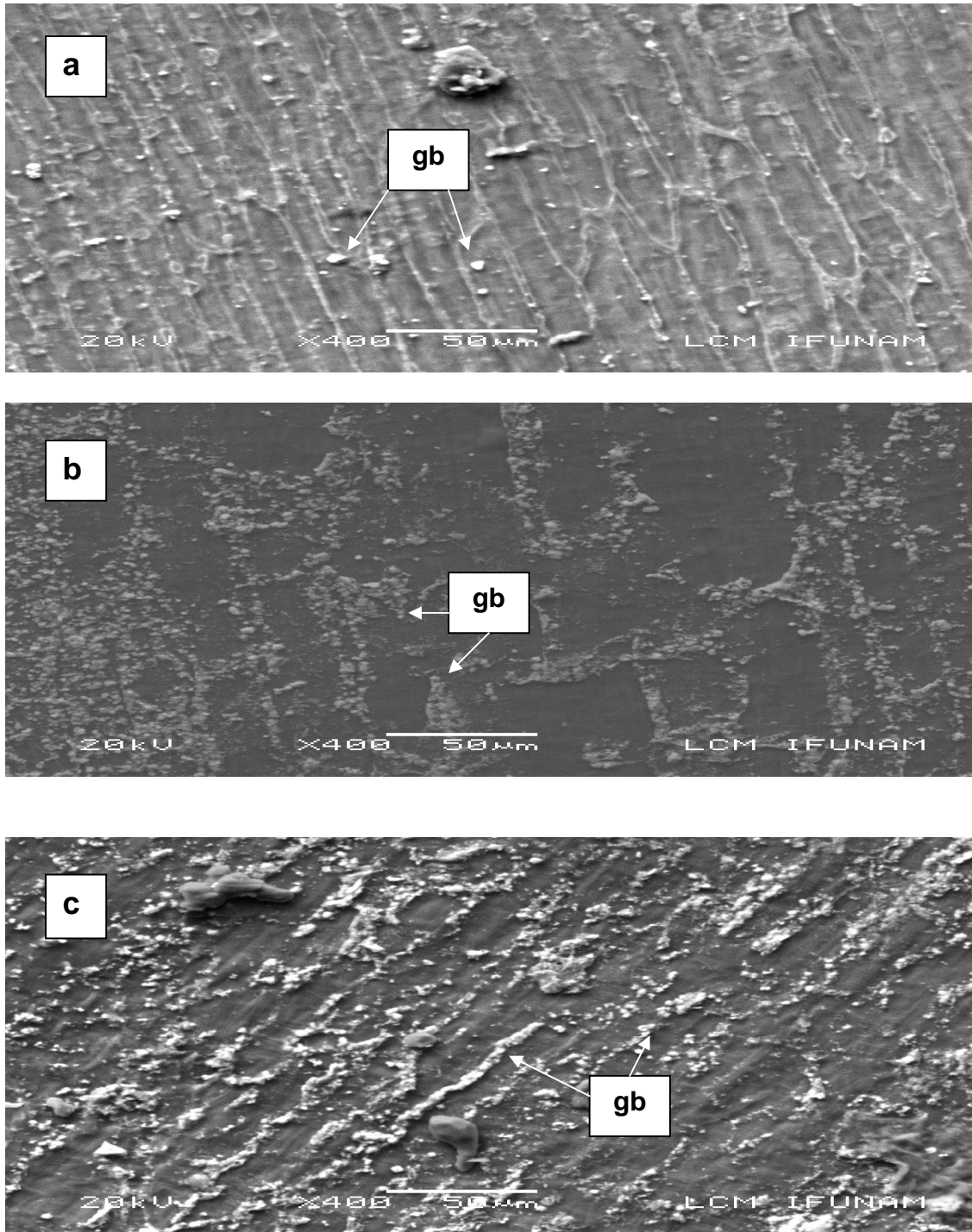


Figura 25. Micrograffas de Calcio fijado en de pericarpio residual: a) para 0 h de reposo del grano y b) para 1 hora de reposo del grano y c) para 3 horas de reposo.

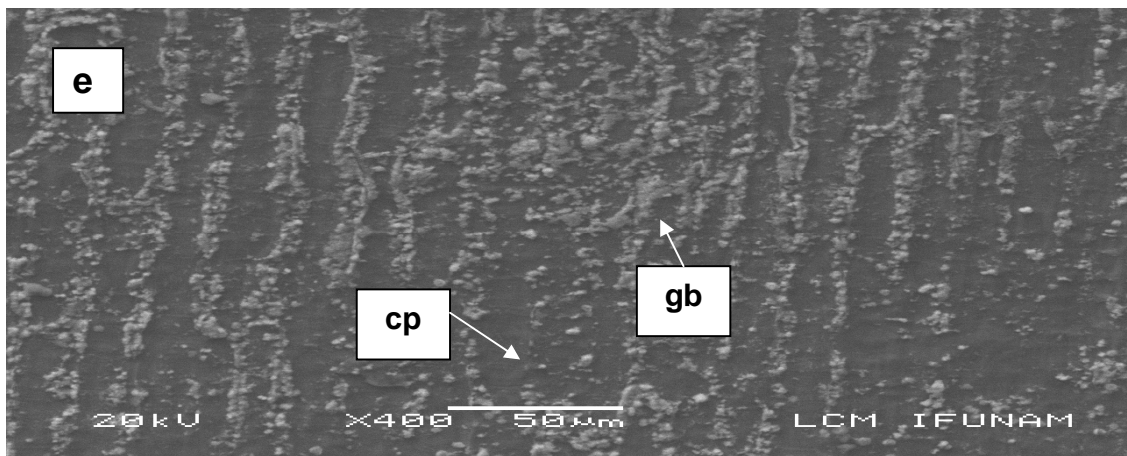
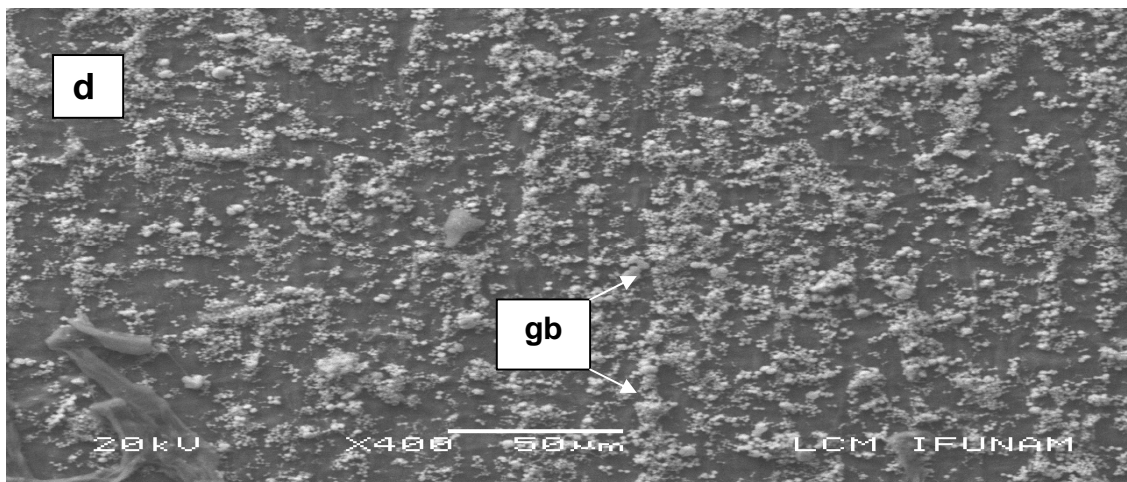


Figura 25. Micrografías de calcio fijado en pericarpio residual: reposo del grano, d) para 5 horas de reposo del grano y e) para 7 horas de reposo.

El análisis de las imágenes consiste en mostrar el pericarpio, separado del grano, después de ser tratado, desde la cocción, hasta la séptima hora de reposo. En la novena hora fue imposible obtener el pericarpio. Cabe mencionar que este pericarpio es difícil de desprender de los granos que han reposado muchas horas, porque solo aparecen trazas del mismo. Los pericarpios se obtuvieron con sumo cuidado para no eliminar calcio durante la separación manual del pericarpio.

La fijación de calcio en el pericarpio se presenta de manera gradual, también se puede observar en las micrografías cuando comienza a perderse o separarse de la estructura.

En la figura 25 a aparece la micrografía del pericarpio a 0 horas de reposo, es decir terminando la cocción o el tratamiento térmico-alkalino a 92 °C. Se observa la presencia de granos blancos (gb), que son compuestos de calcio depositados en el pericarpio.

En la micrografía 25 b se observa pericarpio cocido y con una hora de reposo; apreciamos una mayor cantidad de calcio (gb) depositado sobre el pericarpio y donde han desaparecido las figuras propias del pericarpio. En la micrografía 25 c correspondiente a pericarpio de granos cocidos y reposados durante tres horas, aparece un gran porcentaje de calcio fijado (gb). La micrografía 25 d tomada en pericarpio cocido a las mismas condiciones y obtenido con 5 horas de reposo, muestra la mayor cantidad de calcio (gb). En correspondencia con la figura 15, mostrada anteriormente en la tendencia de calcio residual versus tiempo a 92° C, sigue aumentando la concentración de calcio en grano. Hay que recordar que a esta hora también se ha perdido una cantidad considerable de pericarpio. Por último en la figura 25 e tomada a 7 horas de reposo, aquí podemos apreciar que el calcio que se había depositado ahora se ha comenzado a perder (cp). Pero también vemos en la misma gráfica un máximo debido a que el calcio ha comenzado a fijarse en otras estructuras. Lamentablemente la imagen a las 9 horas no fue posible obtenerla porque ya no hay presencia de pericarpio que pueda ser razonablemente considerada como íntegra.

Es importante mencionar que estas micrografías no fueron tomadas en grano, sino que se captaron de pericarpios retirados para cada hora de reposo, por esa razón el fondo de la micrografía es el mismo. Evidentemente en el transcurso de las horas es menor la cantidad de pericarpio y por tanto es menor la concentración de calcio en esta estructura.

3.6 Actividades para el objetivo particular 3

3.6.1 Resultados obtenidos en celda fotoacústica diferencial

Como hemos visto, el proceso de nixtamalización está dividido en dos etapas, la etapa de cocción y la etapa de reposo. En la literatura no se ha prestado mucho interés a la primera de estas etapas. Básicamente se conoce que durante los primeros minutos de la etapa de cocción se retira la capa cerosa y se alcanza una humedad en el grano mayor del 30%, entre otros aspectos, pero no se ha estudiado en tiempo real la difusión de agua y de calcio a través del pericarpio y no hay información relacionada con los cambios como función de la temperatura en la etapa de cocción en el proceso.

Como ya se mencionó en el capítulo de metodología, se desarrolló una celda diferencial, basada en el principio fotoacústico. La señal fotoacústica mide cambios en las propiedades térmicas del material, que pueden asociarse con cambios en su estructura interna, la señal generada por la celda es detectada mediante un micrófono.

En la figura 26 mostramos la señal fotoacústica proveniente de la celda diferencial relacionada directamente con los cambios que ocurren en el pericarpio durante la fase de cocción. para temperaturas de 72, 82 y 92 °C, respectivamente

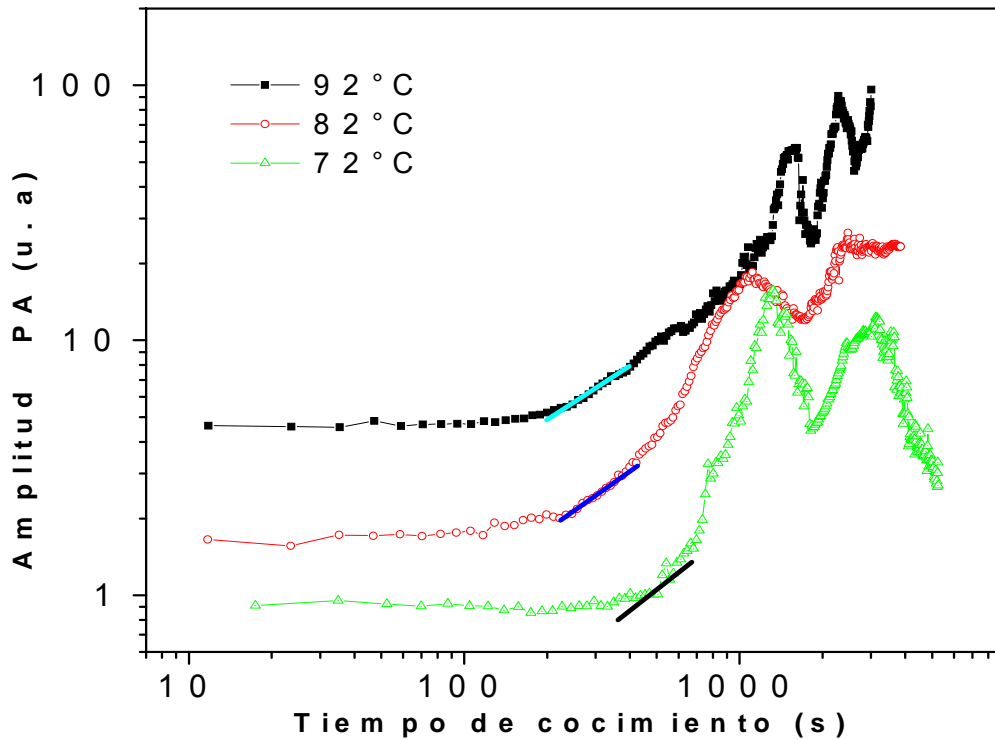


Figura 26. Cambios en pericarpio de maíz durante la etapa de cocción a diferentes temperaturas obtenidas en una celda fotoacústica diferencial.

En esta gráfica se presenta la señal fotoacústica en forma Log-Log para tener una mejor visualización del proceso. Como podemos apreciar, para tiempos cortos de cocción no hay ningún cambio apreciable en el comportamiento de la señal fotoacústica, indicando que no se presenta ningún cambio fisicoquímico en el grano. Esta parte de la figura muestra directamente que el grano de maíz es impermeable para tiempos cortos para soluciones alcalinas a altas temperaturas. También observamos que el grano es menos permeable a bajas temperaturas de cocción.

La imagen muestra dos picos que se ven con mayor intensidad a 92 °C. La rapidez con que aparece el segundo pico también fue mas notable a esta temperatura.

Dado que estos resultados fueron sólo para la etapa de cocción y que el pericarpio es la única estructura que está en contacto con la solución térmica alcalina, estos cambios están directamente asociados con transformaciones fisicoquímicas en esta estructura.

La interpretación del cambio de la señal fotoacústica como función del tiempo puede darse de la siguiente manera: el primer pico muestra la disolución de las pectinas presentes en la capa cerosa o epidermis y el segundo pico representa la neutralización de los ácidos urónicos presentes en la cadena de hemicelulosa que forma la matriz fibrosa dentro del compuesto. El tercero se presenta cuando la lignina se desprende de la matriz y se deposita en el nejayote. Estos resultados concuerdan con los obtenidos anteriormente por González *et al.* (2004^a), pero el trabajo no se realizó el análisis dentro del proceso; los resultados mostrados en la figura 25 son obtenidos en el momento real en que están aconteciendo los cambios.

Lo anterior comprueba que hay cambios químicos en el pericarpio y que van a repercutir en los cambios físicos, como muestran las imágenes de las figuras 27 y 28.

La figura 26 muestra además por primera vez el proceso de nixtamalización in-situ. Con esta figura podemos evidenciar que la cinética de difusión de agua y calcio dependen de la temperatura de proceso e inicia desde la etapa de cocción del grano y que es necesario que ocurra para la disolución de la capa cerosa del grano durante el proceso, para que el pericarpio pueda ser permeable tanto al agua como al calcio.

3.7 Actividades para el objetivo particular 4

3.7.1 Resultados obtenidos por difracción de rayos X, para pericarpios tratados térmicamente.

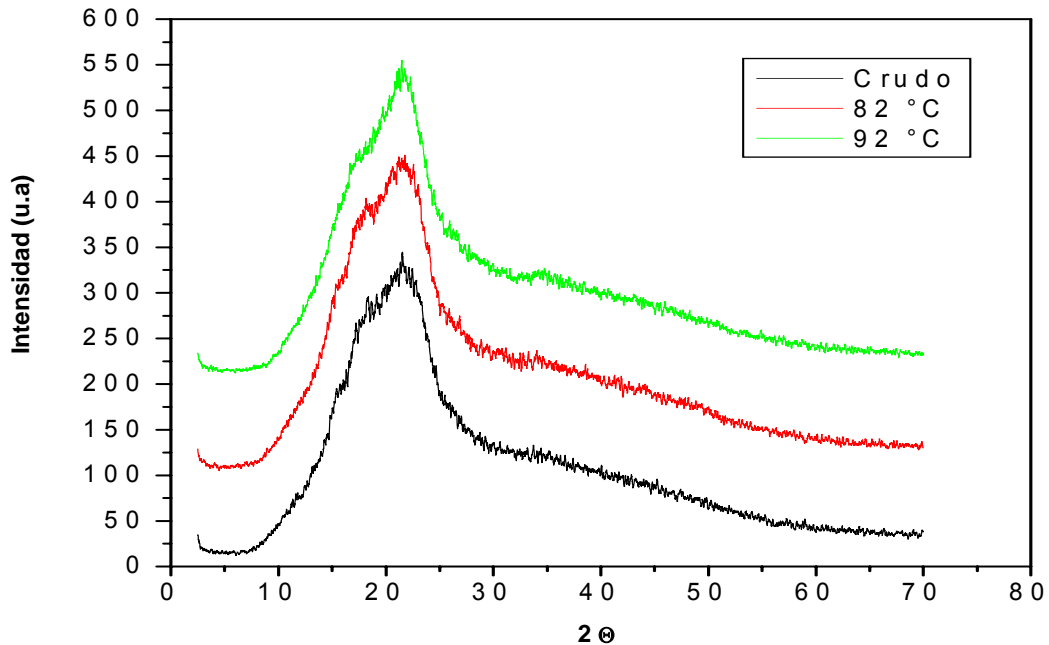


Figura 27. Diffractogramas del pericarpio de maíz tratado térmicamente (sin calcio), en la etapa de cocción.

La figura 27 muestra los patrones de difracción de rayos X de pericarpio nativo tratado térmicamente a 82 y 92 °C. Se han desplazado los diffractogramas para identificar los cambios en la figura. Como puede apreciarse, el tratamiento térmico no produce cambios en la cristalinidad del pericarpio, prácticamente el diffractograma es igual al nativo o crudo, lo que quiere decir que la temperatura por si sola no provoca cambios físicos importantes en la estructura. El análisis de calorimetría diferencial de barrido especificó que los cambios en la hemicelulosa y la celulosa se presentan a temperaturas por arriba de 260 y 345 °C, respectivamente, según lo reportado por González *et al.*, (2004^a).

3.7.2 Resultados obtenidos por difracción de rayos X, para pericarpios con tratamiento térmico-alkalino

El pericarpio está constituido por fracciones cristalinas y amorfas de celulosa, hemicelulosa y lignina. La difracción de rayos X es una excelente herramienta para monitorear los cambios físicos en esta estructura. La celulosa forma cerca del 30 % del pericarpio y presenta un grado de ordenamiento. La figura 28 corresponde a los Difractogramas de los patrones DRX de pericarpios obtenidos de granos nixtamalizados a 92 °C con diferentes tiempos de reposo.

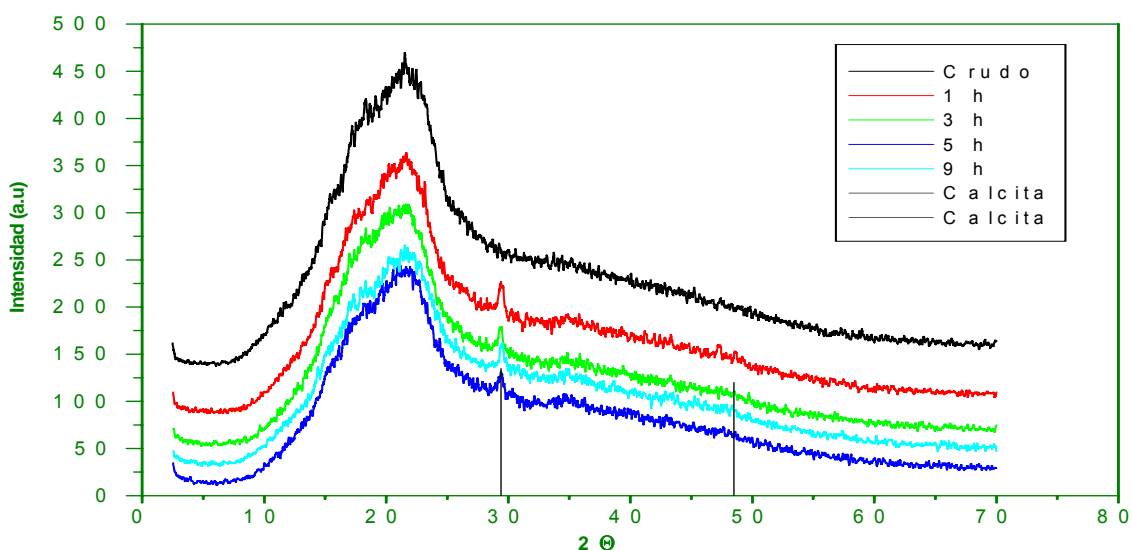


Figura 28 Difractogramas del pericarpio de maíz, con tratamiento térmico-alkalino a 92 °C, y diferentes horas de reposo del grano.

Las condiciones de nixtamalización, aunque presentan temperaturas menores de 100 °C, en combinación con el álcali y el tiempo de reposo logran modificar apenas de manera perceptible la estructura del pericarpio.

Mediante difracción de rayos X se puede estudiar las transformaciones en el pericarpio por efecto de tratamientos térmico-alkalinos como lo muestra la figura 28. El primer difractograma pertenece a pericarpio nativo, es en esencia análogo al reportado para otras fibras celulósicas, presentó máximos de difracción de 8.90, 5.42 y 4.21 Å^o correspondientes a las fibras ordenadas de la celulosa en plantas. Estos patrones en

parte son los reportados para la celulosa nativa tipo I, que es de muy bajo orden cristalino. La estructura amorfa de la hemicelulosa predomina en el pericarpio. (Hon *et al.*, 2001; Stolik *et al.*, 2004). Los patrones de muestras de pericarpio tratadas no mostraron cambios significantes en la fracción cristalina durante el tratamiento alcalino, El cambio se presenta en la remoción de la fracción amorfa (principalmente la hemicelulosa) como se mostró por la técnica de fotoacústica diferencial que es más precisa y por el análisis de microscopía electrónica de barrido. En los difractogramas de muestras de pericarpio tratados aparecen reflexiones que estaban ausentes en el pericarpio nativo. Un conjunto de estas reflexiones marcadas con líneas continuas representan al carbonato calcio (CaCO_3); si correlacionamos estos resultados con las imágenes de microscopía electrónica de barrido mostradas en la figura 25 podemos verificar que los puntos blancos en estas figuras corresponden a este compuesto cristalino fijado.

El CaCO_3 , se pudo originar por interacción de CaO , formado durante la cocción y con el CO_2 atmosférico disuelto en agua.

El pericarpio es particularmente rico en ácidos fenólicos, principalmente ferúlicos, diferúlicos y triferúlicos, los cuales tienen un rol cooperativo con los ácidos urónicos que tiene gran habilidad de fijar calcio al ser neutralizados.

El análisis de los difractogramas no mostró algún cambio que tenga relación con las pectinas y tampoco con la lignina, probablemente por la cantidad presente en el pericarpio, que corresponde a 0.2 y 0.1 % respectivamente, pero dada su importancia estos cambios se detectaron por la técnica de fotoacústica diferencial.

CONCLUSIONES Y

RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

El estudio de los cambios físicos en pericarpio durante la nixtamalización permitió conocer de manera general como ocurre el mecanismo de difusión de calcio en el maíz a diferentes condiciones de proceso.

- Los granos de maíz variedad QPM-H368C, son granos que presentaron mayor porcentaje de pericarpio que el que solicita la norma NMX-FF-034/1-SCF1-2002 para el proceso de nixtamalización. Por esa razón la concentración de calcio que se fija por kilogramo de maíz en esta variedad es mayor que en granos convencionales.
- El promedio del grosor del pericarpio en esta variedad de maíz es mayor con respecto a los híbridos normales. Esto tiene como ventaja que su degradación se presente más lentamente durante el proceso de nixtamalización, conservando mayor cantidad de calcio residual y mayor porcentaje de fibra dietética en el grano.
- El análisis del espesor y de la textura del pericarpio en función de su localización, demostró que la estructura no es homogénea en todo el grano, la fracción del pericarpio que cubre parte de la cofia es rugosa y porosa con un valor de espesor de 75 micras; la que cubre al germen es menos rugosa, presenta figuras cuadráticas regulares, con un valor de espesor de 79 micras. La parte que cubre al endospermo, tiene una textura más lisa que las anteriores, con formas de paneles alargados y direccionados, su valor promedio de espesor fue de 87 micras. Esto trae como resultado que la difusión de agua y de calcio a través del pericarpio no sea simultánea en las estructuras internas del grano (germen y endospermo) durante la cocción y el reposo porque dependen del estado físico y textura del pericarpio.
- Se pudieron correlacionar variables cuantitativas como el pH, la humedad del grano y la concentración de calcio residual con el desprendimiento del pericarpio del grano de maíz, ya que el tiempo de cocción usualmente se ha determinado con el desprendimiento manual de esta estructura.
- El contenido de calcio residual en el grano total obtenido por espectroscopía de absorción atómica, mostró una marcada dependencia con la temperatura. A temperaturas más altas la concentración de calcio que se fija es mayor. En cuanto a la tendencia representativa de calcio residual en función del tiempo de reposo es la misma para las temperaturas de 72, 82 y 92 °C, sin embargo el desplazamiento de los picos máximos al aumentar la temperatura de cocción se desplazan a menores tiempos de reposo.
- Se realizó un análisis de fijación de calcio residual en pericarpio. Se puede concluir que esta estructura tiene una marcada habilidad de fijar calcio, pero a su vez éste se pierde por efecto del tiempo de reposo. Su tendencia presenta también un máximo a las 5 h a temperatura de 92 °C, a 82 °C de 7 h y a 72 °C de 9 h.
- A través del análisis de los cambios físicos mediante micrografías de granos de maíz, se mostró la degradación del pericarpio. Los cambios más drásticos se presentan a mayor temperatura. La secuencia de los mismos fue primero una defoliación de las capas del pericarpio, después la presencia de microporos nos

indica la percolación de la estructura, a tiempos prolongados de reposo aparecen poros en la capa de aleuronas, lo que facilita la entrada de la solución alcalina.

- El análisis de micrografías de pericarpio residual retirados manualmente de granos tratados a 92 °C, mostró la formación de puntos blancos, los cuales corresponden a compuestos de calcio; al transcurrir los tiempos de reposo hay mayor acumulación a las cinco horas, sin embargo a las siete horas el calcio disminuye.
- Las señales obtenidas por la técnica fotoacústica para pericarpio durante la cocción mostraron tres picos, que se deben: el primero es debido a la disolución de los sólidos solubles (pectinas y almidón) en la epidermis o capa cerosa, el segundo a la neutralización de ácidos urónicos presentes en los extremos de la hemicelulosa y el tercero al desprendimiento de la lignina. La presencia de las señales a diferentes temperaturas, mostró además que el grano es impermeable al agua y al calcio a tiempos cortos al iniciar la cocción, después va aumentando la permeabilidad y además es dependiente de la temperatura. A temperaturas mayores, como es el caso de 92 °C, la rapidez del fenómeno de transferencia de masa fue mayor.
- El análisis de espectroscopía de difracción de rayos X (DRX), demostró que el pericarpio de maíz nativo es análogo al reportado para otras fibras celulósicas y presenta máximos de difracción en 8.90, 5.42 y 4.21 Å, correspondientes a fibras ordenadas de celulosa en plantas. La celulosa presenta el 23 % del pericarpio y la hemicelulosa el 67%. En la matriz de hemicelulosa- celulosa-lignina predomina la parte amorfa, ya que la hemicelulosa es amorfa; por esa razón el difractograma de pericarpio nativo es amorfo.
- El análisis de espectroscopía de pericarpios tratados térmicamente a diferentes temperaturas, sin adición de calcio, mostró, que prácticamente esta estructura amorfa no se ve afectada por la temperatura de proceso. Los pericarpios manejados con tratamiento térmico-alcalino presentaron difractogramas muy similares en cuanto a la estructura amorfa, esto se debe a que los cambios no suceden en la celulosa que requiere temperaturas mayores de 340 °C; para ser afectada en su estructura, Estos cambios suceden en la parte amorfa del pericarpio entre la hemicelulosa-lignina, los cuales no fueron detectados por esta técnica, pero si por la de fotoacústica diferencial que es una técnica más sensible. Esta técnica de rayos X nos permitió también identificar la formación de compuestos de calcio en el pericarpio.

Durante este trabajo se publicaron dos artículos:

- Hurtado-Castañeda, D.M.; Fernández, J.; Gutiérrez, E.; Rojas-Molina, I.; Fernández-Muñoz, J. L.; and Rodríguez, M. E. (2005). The diffusion of calcium ion into the organic layers studied by a differential photoacoustic system. *Journal Physique* . **IV**: 1251-1255.
- Gutiérrez E.; Rojas-Molina, I; Pons-Hernández, J. L.; Aguas-Angel, B.; Arenas, J.; Fernández, P.; Palacios, A.; Herrera, G.; and Rodríguez, M.E. Study of calcium ion diffusion in nixtamalized quality protein maize as a function of the cooking temperature. *Cereal Chems.* Aceptado.
- Este trabajo fue presentado en: 1er Congreso Nacional de nixtamalización, octubre 2004, 1er Congreso Internacional de Nixtamalización 2006.

RECOMENDACIONES

De igual manera, de acuerdo a lo estudiado en este trabajo, se tienen las siguientes recomendaciones:

- Se recomienda el análisis de espectroscopía de infrarrojo en pericarpio para identificar como son modificadas las bandas por adhesión o pérdida de grupos funcionales después de la nixtamalización.
- Es necesario medir por la técnica de fotoacústica diferencial, la difusión de agua en el grano durante la cocción, para hacer un comparativo con la difusión de agua y calcio y poder concluir que los cambios se deben a calcio o identificar si únicamente se deben a la difusión de agua en la estructura.
- Dado que el grano es un sistema multicapa formado por pericarpio, germen y endospermo, es necesario hacer un análisis de espectroscopía de absorción atómica, para obtener la concentración de calcio residual en cada una de las estructuras en función del tiempo de reposo, ya que se requiere conocer la tendencia del mecanismo de fijación en cada parte del grano. Así tratar de explicar con un modelo fenomenológico la transferencia de masa a través del mecanismo de difusión en granos de maíz, durante la nixtamalización a diferentes condiciones de proceso.

REFERENCIAS

BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC.(2000). *Official Methods of Analysis*. 17th Ed. Official methods 965.17 Association of Official Analytical Chemists: Gaithersburg, M. D.
- Amézquita, L. F. de J. (2000). *Fundamentos de espectroscopía aplicada a la instrumentación química*. Ed. UAG. Pp .13-140.
- AACC.(2000). American Association of Cereal Chemists. *Approved Methods of AACC*, 10th Ed. The Association: St. Paul, M. N. USA.
- Arenas, A. J. A. (1999). *Microscopía electrónica de barrido de bajo vacío*. Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ).. Ed. UNAM. México, D. F. Pp.1-73.
- Badui, D. S.(1993) *Química de los Alimentos*. Ed. Alambra. México, D. F. Pp.70-96
- Bakshi, A. S. y Singh, R. P. (1980). Kinetics of water diffusion and starch gelatinization during rice parboiling. *Journal Food Sci.* **45** :1387-1394.
- Balser. K. (1975). Celluloseather: Ullmanns Encyklopadie der technischen Chemic. 4. Aufl. Bd. 9.S.192. Verlag Chemic: Weinheim. Pp. 217-223.
- Baskin, C.C. (1981). Acelerated Aging Test. En Perry. (Ed) Handbook of vigour Test Methods. International Seed Testing Association. Pp. 43-48.
- Bedolla, S. y Rooney, L.W. (1984). Characteristics of U.S. and Mexican instantant maize flours for tortilla and snack preparation. *Cereal Foods*. World **29**(11):732-736
- Bello, P. L. A.; Osorio, D. P.; Amaga, A. E.; Núñez, S. C.y Paredes-López, O. (2002). Chemical, physicochemical and rheological properties of masa and nixtamalized corn flour. *Agrociencia* **36**:319-326.
- Biliaderis, C. G.; Page, C. M.; Maurice, T. J. y Juliano, B. O. (1986). Thermal characterization of rice starches: A polymeric approach to phase transition of granular starch. *Journal of Agriculture and Food Chem.* **34**: 6-14.
- Biliaderis, C. G. (1990). Thermal analysis of food carbohydrates, En: Thermal Analysis of Food. *Elsevier applied Sci.* London. Pp. 169-220.
- Biliaderis, C. G. (1991). The structure and interactions of starch with food constituents. *Canadian. Journal of physiology and Pharmacology.* **69**: 60-78.
- Bressani, R. y Scrimshaw, N. S. (1958). Effect of lime treatment on in-vitro availability of essential amino acids and solubility of protein fractions in corn. *Journal Agric. Food Chem.* **6**:770-774.
- Bressani, R.; Benavides, B.; Acevedo, E. y Ortíz, M. A. (1990). Changes in selected nutrient contents and in protein quality of common and quality-protein maize during rural tortilla preparation. *Cereal Chem.* **67**: 515-518.
- Bressani, R.; Turcios, J. C.; Reyes, L. C. y Mérida, R. S. (2001). Caracterización física y Química de harinas industriales nixtamalizadas de maíz de consumo humano en América Central. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* **51**(3):309-313.
- Bryant, C. M. y Hamaker, B. R. (1997). Effect of lime on gelatinization of corn flours and starch. *Cereal Chem.* **74**: 171-175.
- Castañeda, P. R. (1990). *El cultivo de maíz*.. Ed. AGT. México, D. F. Pp. 32-89.
- FAO. (1992). Anuario de Producción. Superficie cosechada, rendimiento de maíz y usos. Reporte técnico. Roma Italia.**52**:17-32.

- FAO. (1993)^a. Cambios físicos y químicos durante la elaboración. El maíz en la nutrición humana. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia. **5**: 27-31.
- FAO. (1993)^b. "El maíz en la alimentación humana". Colección: Alimentación y nutrición. Roma Italia. (ISB 92-5-303013-5). **25**: 63-91
- Fennema, O. R. (2000). *Química de los alimentos*. Ed. Acribia. Zaragoza España. Pp. 34-52.
- Fernández-Muñoz, J. L.; Rodríguez, M. E.; Pless, R. C.; Martínez, L. I. y Baños, L. (2002). Changes in nixtamalized corn flour dependent on post cooking steeping time. *Cereal Chem.* **79**: 162-166.
- Fernández-Muñoz, J. L.; Rojas-Molina, I.; González-Dávalos, M. L.; Leal M.; Valtierra, M. E.; Martín-Martínez, E. y Rodríguez, M. E. (2004). Study of calcium ion diffusion in components of maize kernels during traditional nixtamalization process. *Cereal Chem.* **81**: 65-69.
- Figueroa, C. J. de D.; Acero, G. M. G.; Vasco, M N. L.; Lozano, G. A.; Flores, A. L. M. y González-Hernández, J. (2001) Fortificación y evaluación de tortillas de nixtamal. *Archivos latinoamericanos de nutrición.* **51**(3): 293-299.
- Figueroa, C. J. de D.; Acero, G. M. G.; Vasco, M. N. L.; Lozano, G. A. y Flores, A. L. M. (2003). Nutritional quality of nixtamal tortillas fortified with vitamins and soy proteins. *Journal of Food Sciences and Nutrition.* **54**(3): 189-200.
- Godet, M. C.; Tran, V.; Delage, M. M. y Buleon, A. (1993). Molecular modeling of the specific interactions involved in the amylose complexation by fatty acids; *Int.J.Biol. Macromol.* **15**:11-18
- Gómez, M. H.; Mc Donough, M. C.; Rooney, L. W. y Waniska, R. D. (1989). Changes in corn and sorghum during nixtamalization and tortilla baking. *Journal Food Sci.* **54**(2): 330-336.
- Gómez, M. H.; Waniska, R. D.; y Rooney, L. W. (1991). Corn starch Characterization of nixtamalized Corn Flour. *Cereal Chem.* **68**: 578-582.
- González, R.; Reguera, E.; Figueroa, J. M.; y Sánchez-Sinencio, F. (2004)^a. On the nature of the Ca binding to the hull of nixtamalized corn grains. *Food Sci. and Technology.* Elsevier **10**:1016-1020.
- González, R.; Reguera, E.; Mendoza, L.; Figueroa, J. M. y Sánchez-Sinencio, F. (2004)^b. Physicochemical changes in the Hull of corn grains during their alkaline cooking. *Food Chem.* **52**: 3831-3837.
- Guzmán, M. H.C.(2005). Comunicación personal. (INIFAP). Celaya México. Delegación Bajío.
- Hon, D. N. y Shiraishi, A. (2001). Wood and cellulosic chemistry. Ed. Marcel Dekker. New York. Pp: 83-175.
- Hosney, R.C. (1992). Principios de ciencia y tecnología de los cereales. Ed. Acibia. Zaragoza, España. Pp.32-76.
- Hurtado-Castañeda, D.M.; Fernández, J.; Gutiérrez, E.; Rojas-Molina, I.; Fernández-muñoz, J. L.; y Rodríguez, M. E. (2005). The diffusion of calcium ion into the organic layers studied by a differential photoacoustic system. *Journal Physique .* **IV**: 1251-1255
- Illescas, R. (1943). *La teoría química de la formación del nixtamal*. Rev. Sociedad Mexicana de la Historia Natural. **4**:129-148.
- Katz, S. H.; Hediger, M. L. y Valleroy, L. A. (1974). Traditional maize processing techniques in the new world. *Sci.* **184**: 765-773.
- Khan, M. N.; Desrosier, M. C.; Rooney, L. W.; Morgan, R. G. y Sweat, V. E. (1982). Corn tortillas: Evaluation of corn cooking procedures. *Cereal Chem.* **59**:2279-284.

- Klaus, J. L. y Karel, K. (1991). *Handbook of Cereal Sci. and Technology*. **23**(2): 321-325.
- Lange, R. H. M. y Hill, G. D. (1987). *Plantas de interés Agrícola*. Botánica, Ed. Acribia. Zaragoza España. Pp.120-143.
- Lobo, O. R.(1997). *Principios de transferencia de masa*. Ed. UAM-I. México, D.F. Universidad Autónoma Metropolitana. Pp.163-218
- López, A. M.; Takasaki, K.; Bostwick, D. E.; Helentjaris, T. y Larkins, B. A. (1995). identification of two opaque 2 modifier loci in quality protein maize. *Mol. Gen. Genet* **247**: 603-613
- Martínez, R.; Mendoza, S.; Reguera, E.; Ortiz, P. y Martínez, J. de la L. (2001). Kinetic approach to nixtamalization of corn pericarp. *Cereal Chem. Inc.***78**: 107-112
- Mertz, E. T.; Bates, L. S. y Nelson, O. E. (1964) Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. *Sci.* **145**: 279-280.
- Montgomery, D. C. (2003). Diseño y análisis de experimentos . Ed. Limusa Willey. México, D.F. Pp. 126-164.
- Moreno, M. E. (1984). *Análisis físico y biológico de semillas agrícolas*. Ed. UNAM. Instituto de Biología. México. Pp. 250-261.
- (NMX-FF-034-1-SCFI-2002). Harina de maíz nixtamalizado. Norma Mexicana. Secretaria de fomento Industrial. Dirección de Normas.
- NOM-147-SSSA-1-1996. Bienes y servicios. Cereales y sus productos. Harinas de cereales, sémolas o semolinas. Alimentos a base de cereales, semillas comestibles, mezclas de harinas. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales.
- Ocegüera, H. K. (1999). *Interacción del Ca con los componentes del grano de maíz durante la nixtamalización*. Tesis de Maestría IPN. México .
- Ortega, E. I.; Villegas, E.; Bjarnson, M. y Short, K. (1991) .Changes in dry matter and protein fractions during kernel development of quality protein maize. *Cereal Chem.* **68**: 482-486.
- Paredes- López, O. y Sarharopulos-Paredes, M. E. (1982). Scanning electron microscopy of limed corn kernels for tortilla marking. *Journal Food Technology.* **17**: 687-692.
- Paredes-López, O. y Saharopulos-Paredes, M. E. (1983). Maize- A review of tortilla production technology. *Bakers Digest* .**57**: 16-25.
- Paredes-López, O.; Guzmán Maldonado, H. y Serna- Saldívar, S. (2000). *Los alimentos mágicos de las culturas indígenas de México*. El caso de la tortilla. El Colegio de Sinaloa. Sinaloa, México. Pp. 107-123.
- Perry, R. H. and Chilton, C. H. (1996). *Biblioteca del ingeniero Químico*. Ed. Mc Graw Hill, México, D.F. Pp. 1719-1786.
- Pflugfelder, R. L.; Rooney, L. W. y Waniska, R. D. (1988)^a. Fractionation and composition of commercial corn masa. *Cereal Chem.* **65**: 262-266.
- Pflugfelder, R. L.; Rooney, L. W. y Waniska, R. D. (1988)^b. Dry matter losses in commercial corn mass production. *Cereal Chem.* **65**. 397-406.
- Reyes, C. P. (1990). El maíz y su cultivo. (Eds) .AGT. Ed. México, D.F. Pp 15-18.
- Ramos, G.; Peste-Valdez, M.; O'Connor-Sánchez, A.; Placencia, C. y Pless, R. (2004). Hydration rates for various types of Mexican maize based on single-kernel measurements. *Cereal Chem.* **81**: 308-313.
- Rodríguez, M. E.; Yáñez-Limón, J. M.; Alvarado-Gil, J. J.; Vargas, H.; Sánchez-Sinencio, F.; Figueroa, J. D. C.; Martínez, B. F.; González- Hernández, J.; Silva, M. D., y Miranda, L. C. M. (1996). Influence of the structural changes during

alkaline cooking on the thermal, rheological and dielectric properties of maize tortillas. *Cereal Chem.* **73**: 593-600.

- Rojas, R. T.(1997). " Las diversas maneras de cultivar maíz. Ed. Raíces. México. *Arqueología Mexicana.* **5**(25): 33-49.
- Rooney, L. W. y Almeida-Domínguez.(1995). Productos de maíz nixtamalizado y calidad de maíz. Seminario sobre tecnología de la tortilla. Asociación Americana de Soya. México. D.F. Pp.25-34
- Sahai, D.S.; Surjewan, I.; Mua, J. P.; Buendía, M. O.; Rowe, M. y Jackson, D. S. (2000). Dry matter loss during nixtamalization of white corn hybrid impact of processing parameters. *Cereal Chem.* **77**: 254-258.
- Sahai, D.S. Buendía, M.O. y Jackson, D.C. (2001). Analytical techniques for understanding nixtamalized corn flour. Particle size and functionality relationship in masa flour sample. *Cereal Chem.* **78**: 14-18.
- Shandera, D. L. y Jackson, D. S. (2002). Corn kernel structural integrity: Analysis using solvent and heat treatments. *Cereal Chem.* **79**: 308-316.
- S.A.R.H. (mayo, 2004). " Cultivos básicos, Principales indicadores". Subsecretaria de planeación. Pp.1214-1453
- Saulnier, L.; Meslres, D.; Doublie, L.; Roger, P. y Thibault, J. F. (1993) Studies of polysaccharides solubilized during alkaline cooking of maize kernels. *Journal Cereal Sci.* **17**: 267-276.
- Sefa-Dedeh, S.; Cornelius, B.; Sakyi-Dawson, E. y Ohene, E. (2003). Effect of nixtamalization on the chemical and functional properties of maize. *Food Chemistry.* **86**:317-324.
- Sernas-Saldivar, S. O.; Knabe, D.A.; Rooney, L. W.; Tanksley, T. D. y Sproule, A. M. (1988). Nutritional value of sorghum and maize tortilla. *Journal Cereal Sci.* **7**:83-94.
- Sernas-Saldivar, S. O.; Gómez, M. H. and Rooney, L. W.(1990). Technology, chemistry and nutritional value of alkaline-cooked corn products. *Cereal Sci.* **10**: 243-307.
- Serna-Saldivar, S. O.; Gómez, M. H.; Islas-Rubio, A. R.; Bockholt, A. J. y Rooney, L. W. (1992). The alkaline processing properties of quality protein maize. *En: Quality protein maize.* E. T. Mertz, Ed. American Association of *Cereal Chem.* St. Paul, MN. Pp 273-294 .
- Serna- Saldivar, S.O.; Gómez, M. H.; Almeida- Domínguez, H. D.; Islas-Rubio, A. y Rooney, L. W. (1993). A method to evaluate the lime-cooking properties of corn (*zea mays*). *Cereal Chem.* **70**:603-610
- Serna-Saldivar S. O. (1996). *Química, almacenamiento e industrialización de los cereales.* Ed. AGT. México. Pp. 37-42
- Skoog, A. D. y Learly, J. J. (1995). *Análisis Instrumental.* Ed. Mc Graw-Hill. México, D.F. Pp. 227-295.
- Stolik, S.; Valor, A.; Tomás, S. A.; Reguera, E. y Sánchez, F. (2004). Determination of the thermal diffusivity of calcium salts of saturated carboxylic acids. *Journal of Thermophysics.* **25**(2): 1317-1322.
- Trejo-González, A.; Feria- Morales, A. y Wild- Altamirano, C. (1982). The role of lime in the alkaline treatment of corn for tortilla production. Modifications of proteins Food, nutritional, and pharmacological aspects. Pp. 245-263 *En : Advances in Chemistry.* R.E. Freney y J.R. Whitaker,(eds). Acs: Washington, D.C.
- UNDP-CIMMYT Report. (1985). International Maize and Wheat improvement Center, México, D.F. Ado. Postal 6-641. Pp.58-76

- Vasal, S. K. (2001). "High quality protein corn". En : *Specialty Corns*. Ed CRC Press. Boca Raton,FL. USA. Pp: 85-129.
- Villegas, E.; Ortega, E. J. Y Bauer, R. *Chemical methods used at CIMMYT for determining protein quality in cereal grains*. Ed. CIMMYT.1985. México, D.F. Pp.123-141.
- Villegas, E. (1994). *Factors limiting quality protein maize (QPM) Development and utilization*. Sete Laogas, MG, Brasil: EMBRAPA/CNPMS. Pp 28-63
- Watson, S. A. y Ramstad, P. E. (1987). *Corn Chemistry and Technology*. *Cereal Chem.* Inc. St Paul, Minnesota, U.S.A. Pp. 21-123.
- White, P. J. y Johnson, L. A. (2003). " Description, development, structure and composition of the corn kernel ". Chapter 3. En : *Corn Chemistry and Technology*. 2 Ed. *American Association of Cereal Chem.* Inc. Minnesota, USA. Pp. 69-78.
- Zazueta, C.; Ramos, G.; Fernández-Muñoz, J. L.; Rodríguez, M. E.; Acevedo-Hernández, G. y Pless, R.n C. (2002). A radioisotopic study of the entry of calcium ion into the maize kernels during nixtamalization. *Cereal Chem.* **79**:500-503.