



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN**

**EVALUACIÓN DE LA DEGRADACIÓN DE AFLATOXINAS EN  
PROCESOS ALTERNOS DE NIXTAMALIZACIÓN POR  
MICROONDAS**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**INGENIERA EN ALIMENTOS**

PRESENTA:

**GUADALUPE CRISTINA PÉREZ FLORES**

ASESOR:

**DR. ABRAHAM MÉNDEZ ALBORES**

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO

2011



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## PRÓLOGO

El presente trabajo de investigación, se desarrolló en la Unidad de Investigación en Granos y Semillas (UNIGRAS), laboratorio 14 de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria. Con parte de la información obtenida se publicó un artículo científico en la revista Journal of Food Science, indexada por el Journal Citation Reports edición 2010, misma que se anexa al final del escrito.



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

**ASUNTO: VOTO APROBATORIO**

**DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO  
DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE**

**ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ  
Jefa del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán**

Con base en el Art. 28 del Reglamento de Exámenes Profesionales nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis:

Evaluación de la degradación de aflatoxinas en procesos alternos de nixtamalización por microondas

Que presenta la pasante: **Guadalupe Cristina Pérez Flores**  
Con número de cuenta: 301244721 para obtener el Título de: Ingeniera en Alimentos

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

**ATENTAMENTE**

**"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 22 de junio de 2011.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	<b>NOMBRE</b>	<b>FIRMA</b>
<b>PRESIDENTE</b>	M. en I. Fernando Beristain	
<b>VOCAL</b>	Dra. Elsa Gutiérrez Cortez	
<b>SECRETARIO</b>	Dr. Abraham Méndez Albores	
<b>1er SUPLENTE</b>	L.A. Miriam Alvarez Velasco	
<b>2do SUPLENTE</b>	L.A. Frida Rosalía Cornejo García	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 120).  
HHA/pm

*Si  
proteste  
un poco, es porque  
soy un corazón de hombre,  
y los corazones de hombre son así. Tienen miedo de realizar sus mayores  
miedos porque consideran que no los merecen, o no van a conseguirlos.  
Nosotros, los corazones, nos morimos de miedo solo de pensar  
en los amores que partieron para siempre, en los  
momentos que podrían haber sido buenos y que no lo fueron,  
en los tesoros que podrían haber sido descubiertos y se quedaron para  
siempre escondidos en la arena. Cada hombre sobre la faz de la tierra tiene  
un tesoro que lo está esperando.  
Cada hombre tiene  
su propio des  
tino*

*Si tu corazón tiene miedo, explícale que el miedo a sufrir es peor que el mismo sufrimiento y que ningún corazón jamás sufrió cuando fue en busca de sus sueños porque cada momento de búsqueda es un momento de encuentro con Dios y con la eternidad. Nunca desistas de tus sueños. Sigue las señales.*

*Paulo Coelho*

## AGRADECIMIENTOS

*Gracias a Dios, Lupita y Juquilita, por darme una familia unida y perspicaz; un cuerpo sano, capaz de caminar hacia la meta y un alma para volar libre como el aire; una vida, acompañada de personas (buenas o malas), que directa o indirectamente, me orillaron a ser la persona que soy.*

*Gracias a mi padre, por todo tu esfuerzo y amor; por enseñarme a valorar las cosas que tengo y a luchar por las que no. Esto no habría sido posible sin ti. ¡Te amo!*

*Gracias a Esther, por la dosis perfecta de amor, dedicación, entrega, fuerza, respeto,....  
Gracias por ser el mejor ejemplo de la "MADRE" que espero algún día ser. ¡Te amo!*

*Gracias a mis hermanos (as) por el apoyo incondicional y por las porras que siempre me echaron. Por ser los superhéroes y las heroínas, a los que me quería parecer cuando fuera grande; por siempre estar ahí, cuando más los (as) necesite.*

*Gracias a los Mejía Pérez y Pérez Flores, por ser pilar esencial en el desarrollo de mi carrera, por ayudarme a ser lo que soy, atreves de sus consejos y ayuda.*

*Gracias a los Pérez González, por estar presentes en cada etapa de mi vida.*

*Gracias a todos mis hijos (adoptivos), Ali, Alex, Alá, Vivi, Emi, Karlita y en especial a Luis Eduardo (Coco), por hacerme la mamá más joven y feliz; por llenar de felicidad, orgullo y amor, la vida de todos y cada uno de los muéganos.*

*Gracias muéganos. Estoy orgullosa de pertenecer a una gran familia como lo es la nuestra. Recuerden que aún nos falta mucho. ¡Los amo con todo mi corazón!*

*Gracias a los 3 Luisitos † y a mis abuelas, por su ayuda total, cuando más lo necesitamos.*

*Gracias a Fany, por ayudarme a imaginar una vida color de rosa y motivarme a construirla; por ser mi comadre de toda la vida.*

*Gracias a mis padrinos Tere T y Toño T, por consentirme y quererme como si fuera su hija. Por ser parte esencial en mi niñez. Donde sea que estén ¡Los quiero mucho mucho!*

*Gracias a mi tía Marialuisa, y mis tíos Crescencio y Clemente, por ser los mejores tíos maternos que pude tener; por los maravillosos momentos familiares que vivimos.*

*Gracias a Mario, Ale, José, Elvia y Marlen, por los buenos momentos.*

*Gracias a Daniela, Rubén y Abigail, quienes con sus locuras, hicieron inolvidable aquella etapa que dicen, es la más difícil de la vida "la adolescencia" . . . ¡Los quiero!*

*Gracias a Mary y Cirenita, por acompañarme en aquellos asombrosos días que vivimos y que seguramente viviremos. Por ser y hacer de mí, "chicas súper poderosas". ¡Las quiero!*

*Gracias a Jeaneth, Lupita, Judith, Denisse, Miguel, Dania y Jaz, quienes son el Tesoro que recolecte en esta etapa de mi vida. Aún nos falta mucho colegas. ¡Los quiero!*

*Gracias a Mario, por enseñarme el significado de las palabras paciencia, perseverancia, confianza y amor. Esta es mi forma de reiterarte mi amistad y cariño. Te Quiero Mucho Mucho.*

*Gracias a Adrian, Brenda y Diego, por abrirme las puertas de su corazón ¡Los quiero!*

*Gracias a David, por siempre estar dispuesto a escuchar mis tonterías ¡Te quiero!*

*Gracias a los Casa Blancos Rodrigo, Hugo, Cecy, Moy, Tere, Dalila, Gerardo y Sobre todo a Mario y Humberto que siempre me ayudaron y apoyaron en todo.*

*Gracias a las ing. Caro y Lidia y a los ing. Luis, Tavo, Santiago, Romano y Polis, que me recibieron con los brazos abiertos en el que era uno de mis sueños y me enseñaron con paciencia y dedicación.*

*Gracias al Doc. Abraham, que más que un asesor, fue un gran amigo que me apoyó e incitó con su paciencia, respeto y cariño a terminar con este proyecto; por tener al mejor asesor, al que aguanté y espero más de dos años, para este momento. ¡Gracias doctor!*

*Gracias a Linda, por hacer más amenos los días de trabajo, por su amistad y cariño.*

*Gracias a mis sinodales, las profesoras Miriam, Rosalía y el profesor Fernando, por su tiempo, observaciones y sugerencias que enriquecieron este trabajo.*

*Gracias a la Dra. Elsa, por su apoyo y compromiso; por no limitar su ayuda solo a sus estudiantes, sino por brindármela cuando la necesite. ¡Gracias Doctora!*

*También a las profesoras Marialuisa f, Nerida, Mondragón, Miriam, y el profesor Saturnino, que no solo me enseñaron cosas relacionadas a su materia, sino por enseñarme qué al hacer con amor tu trabajo, se hace la diferencia.*

*Gracias a la Dra. Rosalía, Llorente y el Dr. Arjona, que me enseñaron a saber siempre lo que quiero, lo que tengo que hacer para lograrlo y disfrutar cuando lo consiga.*

*Gracias a la UNAM, por proporcionarme la oportunidad de mejorar mi vida y hacer de mí, una persona pensante, capaz de crear, mejorar y ayudar con ética; por crearme metas y sueños que alcanzar. Gracias por darme el mejor legado, "ser universitaria de sangre azul y piel dorada".*

## DEDICATORIAS

*Les dedico esta tesis a todos aquellos que creyeron en mí.....*

*A mis padres, porque este logro les pertenece tanto y más, que a mí.*

*A mis hermanos(as) Cesar, Arturo, Mary, Alba y Paty; porque gracias a su ejemplo, estoy aquí.*

*A mis cuñadas Licha y Ruth, por darle sentido a la vida de las personas que más amo.*

*A mis sobrinos, porque este es un ejemplo de que con amor, dedicación y perseverancia, se logra absolutamente todo.*

*A mis amigos (as), por ayudarme a no desviar mi camino y hacerlo feliz.*

*De igual manera, se lo dedico a los docentes que me han acompañado durante este largo camino, brindándome orientación y profesionalismo. En especial al Dr. Abraham, quien me apoyo en la realización de este proyecto.*

*Pero sobre todo, a la familia que aún no formo, pero que deseo tener; porque son la ilusión de un futuro pleno y feliz. Por ser la razón para superarme en todos los aspectos.*

*A todos y cada uno de los que estuvieron, están y estarán en mi vida..... Este, es solo el principio de un largo y exitoso trayecto.*

# ÍNDICE

---

<b>Índice de Tablas</b>	v
<b>Índice de Figuras</b>	vi
<b>Abreviaturas</b>	vii
<b>RESUMEN</b>	1
<b>INTRODUCCIÓN</b>	2
<b>CAPITULO I</b>	
<b>ANTECEDENTES</b>	4
<b>1. Generalidades del maíz</b>	4
1.1. Origen del maíz	4
1.2. Estructura del grano de maíz	4
1.3. Composición química del grano de maíz	6
1.4. Producción de maíz por variedad	6
1.4.1. Producción de maíz en México	7
1.4.2. Consumo de maíz	7
<b>2. La tortilla de maíz</b>	7
2.1. Proceso de elaboración de tortilla por el método tradicional	8
2.1.1. Elaboración de nixtamal	8
2.1.2. Molienda de nixtamal	9
2.1.3. Elaboración de las tortillas	9
2.2. Cambios importantes durante la elaboración de la tortilla	9
2.2.1. Transformación grano-masa	9
2.2.2. Transformación masa-tortilla (cocción)	10
2.3. Procesos alternos de nixtamalización	10
2.3.1. Proceso de nixtamalización ecológico	11
2.3.2. Proceso de nixtamalización por extrusión	11

2.3.3. Proceso de nixtamalización por calentamiento óhmico	12
2.3.4. Proceso dieléctrico de nixtamalización	13
2.3.5. Proceso de nixtamalización con Microondas	14
2.4. Parámetros de calidad de la tortilla de maíz	14
<b>3. Contaminación de la materia prima por microorganismos</b>	<b>15</b>
3.1. Micotoxinas	15
3.2. Aflatoxinas	16
3.2.1. Efecto de las aflatoxinas	18
3.2.2. Control de las aflatoxinas	19
3.2.3. Métodos analíticos para la determinación de aflatoxinas	20
3.2.4. Prevención de la contaminación con aflatoxinas	20
3.2.5. Destoxificación de aflatoxinas por tratamiento térmico-alkalino	21
<b>CAPITULO II</b>	
<b>IV. CUADRO METODOLOGICO</b>	<b>23</b>
<b>Hipótesis</b>	<b>24</b>
<b>Objetivo general</b>	<b>24</b>
<b>Objetivos particulares</b>	<b>24</b>
<b>V. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>25</b>
<b>1. Materia prima</b>	<b>25</b>
<b>2. Propiedades físicas del grano</b>	<b>25</b>
2.1. Tamaño del grano	25
2.2. Peso de 1000 granos	25
2.3. Peso hectolítrico	26
<b>3. Propiedades fisicoquímicas del grano de maíz</b>	<b>26</b>
3.1. Contenido de humedad	26
3.2. pH	26
3.3. Color	26

<b>4. Preparación de las unidades experimentales</b>	27
4.1. Medidas de seguridad	27
4.2. Cepa del hongo	28
4.3. Inoculación del maíz	28
4.4. Determinación de aflatoxinas totales	29
4.5. Procedimiento de acidificación del extracto	29
<b>5. Proceso de Nixtamalización con Microondas</b>	29
5.1. Troquelado de la masa	31
5.2. Cocimiento de las tortillas	31
5.3. Propiedades de calidad de la tortilla	32
5.3.1. Capacidad de enrollamiento (rolabilidad)	32
5.3.2. Grado de inflado	33
5.3.3. Pérdida de peso en la cocción	33
<b>6. Diseño experimental</b>	33

## CAPITULO III

<b>VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	34
<b>1. Caracterización del grano de maíz</b>	34
1.1. Propiedades físicas	34
1.2. Propiedades fisicoquímicas	35
1.2.1. Contenido de humedad	35
1.2.2. pH	35
1.2.3. Color	36
1.3. Aflatoxinas totales en maíz antes de su procesamiento	36
<b>2. Caracterización de la masa</b>	37
2.1. Propiedades fisicoquímicas de la masa	37
2.1.1. Contenido de humedad	37
2.1.2. pH	38
2.2. Aflatoxinas totales en la masa	38
<b>3. Caracterización de las tortillas</b>	40
3.1. Propiedades fisicoquímicas de las tortillas	40

3.1.1. Contenido de humedad	40
3.1.2. pH	41
3.1.3. Color	42
3.2. Propiedades de calidad de la tortilla	42
3.2.1. Grado de inflado	42
3.2.2. Rolabilidad	43
3.2.3. Pérdida de peso	44
3.3. Aflatoxinas totales en las tortillas	44
<b>VII. CONCLUSIONES</b>	<b>49</b>
<b>VIII. RECOMENDACIONES</b>	<b>50</b>
<b>IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</b>	<b>51</b>
<b>X. ANEXO</b>	<b>61</b>

## Índice de Tablas

---

3.1. Distribución ponderal de las principales partes del grano	5
3.2. Composición química promedio del grano de maíz integral	6
3.3. Variedades y usos del maíz	6
6.1. Propiedades físicas del maíz	34
6.2. Propiedades fisicoquímicas del maíz inoculado	35
6.3. Aflatoxinas totales en los maíces inoculados	36
6.4. Propiedades fisicoquímicas de las masas producidas con el PNM	38
6.5. Aflatoxinas totales en masas producidas con el PNM	39
6.6. Efecto del pH en la recuperación de aflatoxinas en masas obtenidas con el PNM	40
6.7. Propiedades fisicoquímicas de las tortillas obtenidas con el PNM	41
6.8. Propiedades de calidad de las tortillas obtenidas con el PNM	43
6.9. Aflatoxinas totales en tortilla producidas con el PNM	45
6.10. Efecto del pH en la recuperación de aflatoxinas en tortillas obtenidas con el PNM	47

## Índice de Figuras

---

3.1. Estructura anatómica del grano de maíz	5
3.2. Esquema de un extrusor de tornillo simple	12
3.3. Diagrama de celda para cocimiento de harina por calentamiento óhmico	13
3.4. Estructura de aflatoxinas B y G	16
3.5. Cuadro metodológico	23
5.1. Diagrama de bloques para el proceso de nixtamalización por microondas	30
5.2. Esquema ilustrativo de la elaboración del nixtamal y masa	31
5.3. Troquelado de la masa	31
5.4. Cocción de las tortillas	32
6.1. Mecanismo de hidrólisis alcalina propuesto para AFB1	46

## Abreviaturas

---

AACC	American Association of Cereal Chemists
ADN	Acido Desoxirribonucleico
AFB1	Aflatoxina B1
AFB2	Aflatoxina B2
AFG1	Aflatoxina G1
AFG2	Aflatoxina G2
AFQ1	Aflatoxina Q1
ANDEVA	Análisis de Varianza
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
ARN	Acido Ribonucleico
AS-900	Variedad del maíz utilizado en la experimentación
b. s.	Base seca
CA	Corriente Alterna
Ca(OH) <sub>2</sub>	Hidróxido de Calcio (cal)
CD	Corriente Directa
CINVESTAV	Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN
cm	Centímetro (s)
CO <sub>2</sub>	Dióxido de Carbono
DBO	Demanda Bioquímica de Oxígeno
DQO	Demanda Química de Oxígeno
FDA	Food and Drug Administration
FESC	Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán- UNAM
g	Gramo (s)
h	Hora (s)
hL	Hectolitro
HPLC	Cromatografía de líquidos de alta resolución
IARC	Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer
kg	Kilogramo (s)
L	Litro (s)
m <sup>3</sup>	Metro (s) cúbicos
MHz	Mega Hertz

min	Minuto (s)
mL	Mililitro (s)
mm	Milímetro (s)
N <sub>2</sub>	Nitrógeno
ng	Nanogramo (s)
O <sub>2</sub>	Oxígeno
°C	Grados centígrados
p/p	Peso/ peso
pH	Potencial hidrógeno
PNE	Proceso de nixtamalización ecológico
PNM	Proceso de nixtamalización con microondas
PNT	Proceso de nixtamalización tradicional
RD	Real Decreto
rpm	Revoluciones por minuto
TLC	Cromatografía de capa fina
UNIGRAS	Unidad de Investigación de Granos y Semillas de la UNAM
V	Volt
v/p	Volumen/ peso
v/v	Volumen/ volumen
W	Watts
$\Delta \underline{a}$	Diferencias absolutas del valor a
$\Delta \underline{b}$	Diferencias absolutas del valor b
$\Delta E$	Diferencia total de color
$\Delta \underline{L}$	Diferencias absolutas del valor L

## RESUMEN

---

La presencia de aflatoxinas en el maíz destinado para el consumo humano es un serio problema de salud pública en México, ya que estos compuestos tóxicos pueden persistir durante el tratamiento térmico-alkalino empleado para la elaboración de la tortilla. Por lo tanto, es necesario contar con nuevos procedimientos de destoxificación que eliminen o por lo menos minimicen el riesgo de las aflatoxinas, mediante una disminución de la concentración en productos a base de maíz. Recientemente, se ha desarrollado en la FESC un proceso rápido de nixtamalización utilizando cocción con microondas, el cual posee grandes ventajas sobre el método tradicional. Aunque ya se han logrado avances en lo que respecta a calidad nutricional, textural y sensorial de las tortillas elaboradas con este método, no se habían realizado estudios respecto a la degradación de las aflatoxinas al procesar maíces contaminados. Consecuentemente, para evaluar la efectividad de destoxificación del maíz durante el proceso de nixtamalización con microondas (PNM), se contaminó maíz con aflatoxina B1 (AFB1) y aflatoxina B2 (AFB2) a niveles de 22.46, 69.62 y 141.48  $\mu\text{g/g}$  y se procesaron en tortillas. El contenido de aflatoxinas fue determinado de acuerdo al método oficial 991.31 de la AOAC. El PNM causó el 68, 80 y 84% de disminución en el contenido de las aflatoxinas, respectivamente. La acidificación de los extractos (tal y como ocurre durante la digestión) previo a la cuantificación, causó escasa reformación de la estructura de la aflatoxina en las tortillas (hasta 3%). De acuerdo a estos resultados, el PNM puede ser empleado para la descontaminación, ya que un bajo porcentaje de la concentración inicial de aflatoxinas son revertidas a su forma fluorescente original después de la acidificación.

**Palabras clave:** aflatoxinas, *Aspergillus flavus*, maíz, microondas, nixtamalización.

## INTRODUCCION

---

Para los seres vivos, la alimentación cumple con 2 funciones; la primera es la necesidad vital, para mantener el correcto funcionamiento del cuerpo (a base de nutrientes orgánicos e inorgánicos), y la segunda, es por la expresión cultural y social la cual se ve influenciada por factores emocionales, hábitos, tradiciones e inclusive los ingresos económicos.

Tomando en cuenta ambos aspectos alimenticios, en México, la tortilla juega un papel importante. Desde la época de los Aztecas, hasta nuestras fechas, la dieta de los mexicanos, se ha basado principalmente en el consumo de la tortilla de maíz. Sin embargo, en México, no se cuenta con un adecuado sistema de cosecha, transporte, secado y almacenamiento de los granos; por lo tanto uno de los factores que afecta la calidad, es la contaminación con micotoxinas, causada por la invasión de ciertas especies de hongos, entre ellos *Aspergillus* y *Penicillium*.

El hongo *Aspergillus flavus* puede producir metabolitos secundarios llamados aflatoxinas, las cuales pueden permanecer en el maíz aún después del procesamiento.

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

Este proceso, aunque es muy antiguo, no ha sido mejorado tecnológicamente, ya que hasta la fecha es utilizado con pocos cambios en las etapas fundamentales de preparación. Esta falta de modernización ha originado que lo que antes, a pequeña escala, no representaba problema alguno, hoy en día sea pronunciado. Ejemplo de esto, es la producción de grandes cantidades de nejayote, efluente altamente contaminante por su alto contenido de materia orgánica y elevada alcalinidad, que lo hace muy demandante de grandes cantidades de oxígeno para su degradación.

Tratando de resolver este problema, se han reportado otras formas de nixtamalizar el maíz y producir masas y tortillas con características similares a las obtenidas con el proceso tradicional de nixtamalización. Entre ellos se encuentra el proceso de nixtamalización con microondas (PNM).

En este proceso, se utiliza solamente el agua necesaria para que se lleven a cabo las reacciones químicas propias de la nixtamalización, sin producir nejayote; al usar el grano completo, aumenta del rendimiento masa/tortilla, además de proporcionar un mayor aporte nutricional, así como una reducción en los tiempos de cocción al utilizar como fuente de cocción a las microondas. Al modificar las etapas y condiciones del proceso de nixtamalización, se hace necesario evaluar el efecto que dichos cambios producen sobre las aflatoxinas, sustancias que frecuentemente se les encuentra contaminando el grano de maíz.

Dado que el proceso PNM difiere del tradicional, en cuanto a la no producción de nejayote, a la diferente concentración de cal, y al método de cocción, no se tiene información respecto al destino de las aflatoxinas en este proceso de nixtamalización. Por lo que, en este proyecto, se pretende evaluar la degradación de las aflatoxinas, en maíces contaminados y procesados por PNM, y además determinar algunas propiedades de calidad de las tortillas elaboradas con este proceso.

# CAPITULO I

---

## ANTECEDENTES

### 1. Generalidades del maíz

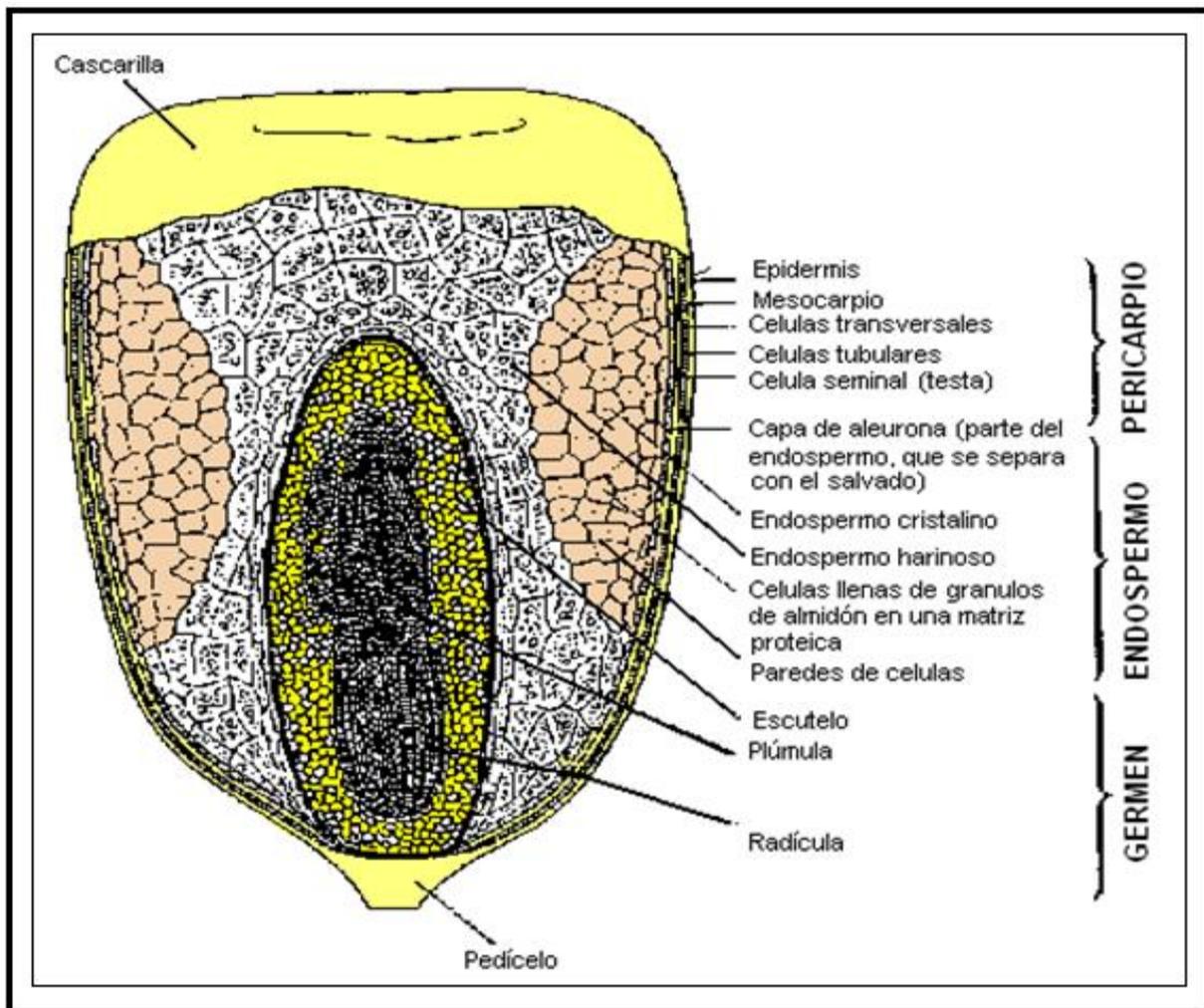
#### 1.1. Origen del maíz

La palabra “Maíz” es de origen indio-caribeño, su significado es “lo que sustenta la vida”. Botánicamente, el maíz (*Zea mays* L.), pertenece a la familia de las Poáceas (gramíneas) y es una planta anual alta (FAO, 1993).

El cultivo del maíz tuvo su origen en América Central, especialmente en México, de donde se difundió hacia el norte hasta Canadá y hacia el sur hasta Argentina. La evidencia más antigua de la existencia del maíz, es de 7 000 años de antigüedad, ha sido encontrada por arqueólogos en el valle de Tehuacán (México). Este cereal era un artículo esencial en las civilizaciones Maya y Azteca, y tuvo un importante papel en sus creencias religiosas, festividades y sobre todo nutrición. A finales del siglo XV, tras el descubrimiento del continente americano por Cristóbal Colón, el grano fue introducido en Europa vía España. Difundiéndose por los lugares de clima más cálido del Mediterráneo y posteriormente a Europa septentrional (FAO, 1993).

#### 1.2. Estructura del grano de maíz

Los granos de maíz se desarrollan mediante la acumulación de los productos de la fotosíntesis, la absorción a través de las raíces, y el metabolismo de la planta de maíz en la inflorescencia femenina denominada espiga. Esta estructura, puede contener de 300 a 1,000 granos, según el número de hileras y el diámetro y longitud de la mazorca. El peso de 100 granos puede variar de 19 a 30 g. El grano de maíz se denomina en botánica cariósida o cariopsis; y contiene el revestimiento de la semilla, o cubierta seminal, y algunas otras estructuras, tal como se observa en la Figura 3.1 (se aprecia un corte longitudinal aumentado 30 veces, aproximadamente).



Fuente: FAO, 1993

Figura 3.1. Estructura anatómica del grano de maíz

La distribución ponderal de las distintas partes del grano se indica en la Tabla 3.1.

Tabla 3.1. Distribución ponderal de las principales partes del grano

Estructura	Distribución ponderal (%)
Pericarpio	5 – 6
Aleurona	2 – 3
Endospermo	80 – 85
Germen	10 – 12

Fuente: FAO, 2001

### 1.3. Composición química del grano de maíz

Los principales componentes químicos del maíz son: carbohidratos (almidón), proteínas, lípidos, fibra cruda, azúcares, minerales y vitaminas. En la Tabla 3.2 se presenta la composición química y estructural del grano de maíz (las fracciones fueron separadas manualmente).

Tabla 3.2. Composición química promedio del grano de maíz integral

	Grano	Almidón	Proteína	Lípidos	Azúcares	Cenizas
Grano integral	-	71.5	10.3	4.8	2	1.4
Endospermo	82.3	86.4	9.4	0.8	0.6	0.3
Germen	11.5	8.2	18.8	34.5	10.8	10.1
Pericarpio	5.3	7.3	3.7	1	0.3	0.8
Pedicelo	0.8	5.3	9.1	3.8	1.6	1.6

Fuente: Inglett, 1970

Expresada en % en base seca.

### 1.4. Producción de maíz por variedad

El cultivo de maíz en México se caracteriza por la producción de una amplia gama de variedades, siendo la más importante el maíz blanco o cristalino, como se muestra en la Tabla 3.3. Esto hace posible que se generen una gran variedad de productos finales.

Tabla 3.3. Variedades y usos del maíz

Tipo de maíz	Usos
Cereoso o ceroso	Se utiliza en la elaboración de adhesivos y gomas
Cristalino	Como alimento
Dulce	Como alimento para enlatados
Dentado	Como alimento en la industria
Palomero	Como botana
Semidentado	Como alimento y para el mejoramiento genético
Tunicado	Para el mejoramiento genético del maíz en general

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

#### 1.4.1. Producción de maíz en México

El maíz es por mucho el cultivo agrícola más importante de México, en comparación con los demás cereales que se cultivan como lo es el trigo, sorgo, cebada, arroz y avena. Además de ser la única semilla que se cultiva dos veces por año.

Para el año 2010, la producción nacional de maíz fue de 25 millones de toneladas; sin embargo, esta cantidad no fue suficiente, por lo cual se tuvo que importar maíz (SAGARPA, 2011).

#### 1.4.2. Consumo de maíz

El grano de maíz es utilizado en diferentes formas para obtener una gran variedad de productos para la alimentación humana como lo son las tortillas, el aceite, los atoles, los cereales, la panificación, las botanas, los alimentos infantiles, los alimentos fortificados, las bebidas fermentadas, entre otros. También se utiliza para la alimentación animal y la elaboración de productos industriales como el papel, los adhesivos, los fármacos, materiales de construcción, producción de alcohol, explosivos, entre otros (Rooney y Serna-Saldívar, 1987). Se estiman más de 800 productos, que utiliza la humanidad, en los cuales interviene el maíz (Reyes, 1990).

## 2. La tortilla de maíz

Se estima que la tortilla es consumida por el 94% de la población mexicana (Rosado et al., 2005). Generalmente en México, las tortillas se consumen acompañadas de otros alimentos, tales como el frijol, que es consumido en cantidades de hasta 11 kg por persona por año (Reynoso-Camacho et al., 2007)

La tortilla es un elemento básico en la dieta mexicana, pues el consumo *per cápita* es de 120 kg por año (Plasencia, 2004), las cuales proveen el 38.8% de proteínas, 45.25% de las calorías y el 49.15% del calcio que se consume diariamente (Figueroa-Cárdenas et al., 2001).

## 2.1. Proceso de elaboración de tortilla por el método tradicional

### 2.1.1. Elaboración de nixtamal

El término nixtamalización, se define como la cocción alcalina del grano de maíz, y es un método ancestral, la palabra proviene de los vocablos náhuatl “*nextli*”, o cenizas de cal, y “*tamall*”, que significa masa de maíz cocido.

El proceso de nixtamalización tradicional (PNT) consiste en la cocción del grano en agua abundante (2-3 L del agua/kg del maíz procesado), con 1-3%  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  a temperaturas cercanas a la ebullición, durante 35-70 minutos con un período de reposo de 8-16 h. Después del reposo, el nejayote es decantado, y el grano es lavado para dejarlo listo para la molienda y de esta manera obtener la masa fresca para hacer las tortillas (Niño-Medina et al., 2009). El PNT, aún es usado sin modificaciones, mientras que este proceso no representa serios problemas a pequeña escala, ha sido la causa de problemas ecológicos debido a la generación de cantidades de nejayote, debido a que estos efluentes presentan un alto contenido de materia orgánica y un alto pH, lo cual hacen muy difícil su degradación.

En México, la cantidad de nejayote producido es de alrededor de 14.4 millones de  $\text{m}^3/\text{año}$  (Pedroza-Islas y Duran de Bazúa. 1990). La tortilla en su mayoría es elaborada por pequeños productores, que al procesar 50 kg de maíz utilizan más de 75 L de agua por día, dichas aguas residuales son desechadas al drenaje (Niño-Medina et al., 2009); mientras que las fabricas (maseca, minsa, soriana, entre otras), casi siempre tratan al nejayote aerobica/anaerobicamente para reducir la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) y la demanda química de oxígeno (DQO). El nejayote es una de las aguas de desecho más difíciles de tratar debido a que tiene un alto pH (10 a 14), contiene materia orgánicas solubles e insolubles (aproximadamente 5%), restos de cal (80% de la cal utilizada originalmente durante el proceso de nixtamalización), y un DBO y DQO cercana a 2.7 a 8.1  $\text{g O}_2/\text{L}$  y 10 a 30  $\text{g/L}$ , respectivamente (Jackson et al., 1988; Pedroza-Islas y Duran de Bazúa. 1990; Velazco-Martínez et al., 1997; Salmerón-Alcocer et al., 2003).

### 2.1.2. Molienda del nixtamal

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

### 2.1.3. Elaboración de tortillas

La tortilla tiene una forma de disco aplanado, la cual puede formarse manualmente palmeándola o con prensas manuales o tortilladoras automáticas, las cuales, además de formar la tortilla, la cuecen en proceso continuo. Para una tortilla común se necesitan aproximadamente de 28 a 30 g de masa, con esta cantidad de masa se pueden troquelar tortillas con espesores de 1.5 a 2 mm, diámetros de 12 a 25 cm (Rodríguez-García et al., 2008). La tortilla es cocida sobre una superficie metálica plana; una buena cocción hará que sellen ambas caras, permitiendo que la tortilla infle una vez que el agua contenida en la masa llegue a su punto de evaporación. Una vez que están cocidas, las tortillas tradicionalmente se envuelven con una pequeña manta ó servilleta, para conservar su calor y suavidad.

## 2.2. Cambios importantes durante la elaboración de la tortilla

### 2.2.1. Transformación grano-masa

Durante el proceso de nixtamalización se presentan diferentes cambios fisicoquímicos y estructurales en los diversos componentes del grano de maíz, los cuales han sido reportados por diferentes investigadores. El cocimiento alcalino y el reposo provocan una disolución parcial de la cutícula y otras capas del pericarpio (Paredes-López y Saharópulus-Paredes, 1982), el hinchamiento y debilitamiento de las paredes celulares y componentes de la fibra facilitan la eliminación del pericarpio (Gómez et al., 1989), las células de aleurona permanecen intactas y quedan unidas en la periferia del endospermo (Paredes-López y Saharópulus-Paredes, 1982; Gómez et al., 1989), la

lámina media y las paredes celulares son parcialmente degradadas y solubilizadas (Gómez et al., 1989), gran parte del tejido del germen se retiene durante la gelatinización traduciéndose en efectos positivos en la calidad proteica de los productos de masa (Paredes-López y Saharópulus-Paredes, 1982).

### 2.2.2. Transformación masa-tortilla (cocción)

Al moler los granos nixtamalizados, los componentes son liberados y al mezclarlos dan lugar a la masa, la cual está formada de fragmentos de germen, residuos de pericarpio y endospermo atrapados todos ellos por una mezcla aglutinante de gránulos de almidón fundidos, una malla de matriz proteica y lípidos emulsificados (Rooney y Serna-Saldivar, 1987; Serna-Saldivar et al., 1990). La textura de la masa es crítica para la etapa de moldeado de las tortillas; una textura adecuada es cuando la masa es adhesiva a tal grado que se pega a los rodillos formadores, pero se logra despegar adecuadamente. En general, una masa recocida es una masa muy pegajosa y por el contrario, una masa poco cocida produce una masa poco cohesiva, inadecuada para formar tortillas (Ramírez-Wong et al., 1993).

Después de que la masa es preparada, se troquela y la tortilla obtenida se somete a cocimiento. La combinación de alta temperatura (260-302° C) y la alta humedad de la tortilla (51-55%) complementan la gelatinización del almidón que queda en contacto con la superficie; sin embargo, ésta es incompleta debido al corto tiempo de cocimiento (20-90 segundos) (Serna-Saldivar et al., 1990). En general, los cambios que se presentan al cocer una masa para elaborar tortillas son: complemento de la gelatinización, disminución del índice de solubilidad de almidón, y disminución de la viscosidad (Gómez et al., 1992).

### 2.3. Procesos alternos de nixtamalización

Las primeras investigaciones científicas sobre los aspectos fisicoquímicos y nutricionales acerca de la tortilla de maíz se iniciaron en los años 50's, cuando también se efectuaron varios esfuerzos por mejorar el proceso tradicional de nixtamalización. Sin embargo, estos cubrieron aspectos básicos del proceso ya comercial, los cuales incluían disminuir las relaciones de agua-maíz, la concentración de cal, la temperatura y el tiempo de

cocimiento y reposo, pero aun sin considerar cambios significativos al método tradicional de nixtamalización (Vaqueiro y Reyes, 1986). A la fecha, se han hecho investigaciones sobre procesos alternos para la elaboración de las tortillas (sin ponerlo en práctica a mayor escala), dentro de los cuales se pueden mencionar:

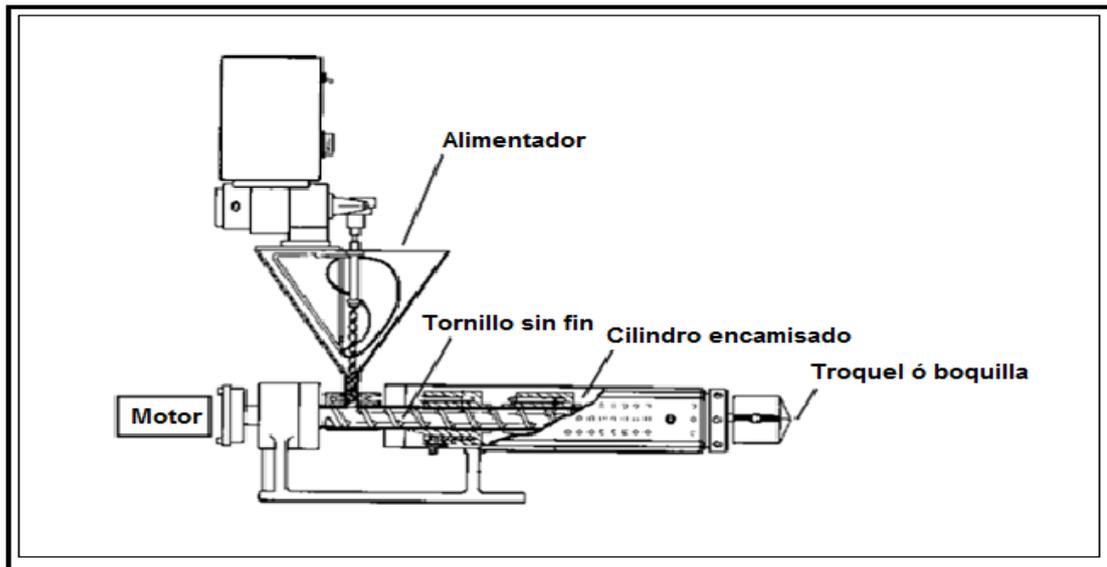
### 2.3.1 Proceso de nixtamalización ecológico

En la búsqueda incesante de nuevas técnicas de nixtamalización que eliminen la producción de nejayote, reduzcan los costos de producción y los tiempos de cocción y de reposo, así como la mejora del producto terminado, entre otros, se desarrolló en el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV) un proceso alterno de nixtamalización denominado ecológico (PNE).

En dicho proceso se utiliza el grano integral; el cual es molido y tamizado con una malla 5 mm, posteriormente se mezcla con 0.8 L del agua con 3 g de cal en ebullición y se deja reposar por 2 h a temperatura ambiente ( $22 \pm 1^\circ \text{C}$ ). El nixtamal así preparado se muele para la obtención de la masa y la elaboración de las tortillas (Méndez-Albores et al., 2004a).

### 2.3.2. Proceso de nixtamalización por extrusión

Otra de las tecnologías para la elaboración de masa fresca es la extrusión. En general, la técnica se basa en el uso de un tornillo sin fin cubierto por un tubo en cuyo exterior puede regularse la temperatura según las necesidades. El tornillo transporta el material (granular o fluido), y pasa entre la cuerda del tornillo y el tubo envolvente. El material ya deformado, sale por el extremo opuesto a través de una boquilla que le da el formato requerido. En la Figura 3.2, se muestra el esquema de un extrusor de tornillo simple.



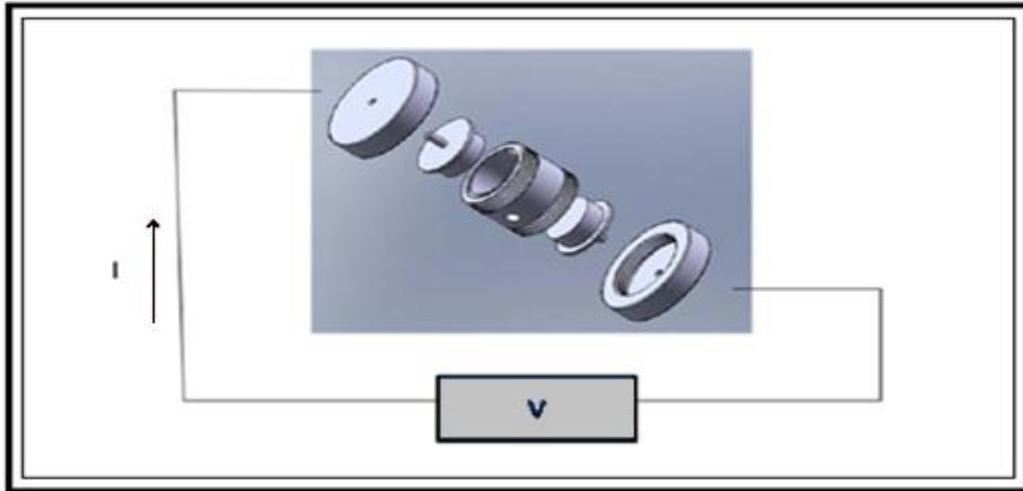
Fuente: Contreras-Jiménez, 2009

Figura 3.2. Esquema de un extrusor de tornillo simple

Con esta tecnología, se ha logrado producir masa fresca, alimentando una mezcla de maíz molido integral, acondicionada con agua y cal. Las condiciones reportadas para este proceso fueron: velocidad de tornillo de 25 rpm, temperatura del extrusor 80° C y con un tiempo de residencia de 1.3 minutos (Arámbula-Villa et al., 2000). Las masas procesadas con el método antes descrito, presentaron una estructura densa y una buena retención de agua y baja velocidad de deshidratación; características que hicieron que el producto fuese aceptable.

### 2.3.3. Proceso de nixtamalización por calentamiento óhmico

El calentamiento óhmico es originado por el efecto Joule, donde si en un conductor circula corriente eléctrica, parte de la energía cinética de los electrones se transforma en calor debido a los choques que sufren los electrones con los átomos del material conductor, ocasionando una elevación de la temperatura. Basándose en este principio Contreras-Jiménez (2009) desarrolló un proceso para nixtamalizar harinas de maíz. El modelo de la celda de calentamiento óhmico utilizado es como se muestra en la Figura 3.3. El alimento se coloca en el interior de la celda en contacto directo con los electrodos, a manera de dieléctrico.



Fuente: Contreras-Jiménez, 2009

Figura 3.3. Diagrama de celda para cocimiento de harina por calentamiento óhmico

El calentamiento óhmico es una tecnología relativamente nueva y prometedora. La principal ventaja del método que se ha observado es que es un procedimiento rápido, el cual permite que el alimento conserve su calidad original; sin embargo, la cantidad de material procesado con este mecanismo es muy limitada.

#### 2.3.4. Proceso dieléctrico de nixtamalización

Otro método que ha sido investigado para la elaboración de masa, es el dieléctrico. Este sistema está integrado por un generador de función, un amplificador, un convertidor de corriente alterna (CA) a corriente directa (CD), un termopar (medidor de temperatura) y una interface compatible con una computadora. Inicialmente 100 g de maíz integral son macerados durante 20 minutos en una suspensión de agua y cal (0.1%); y posteriormente se aplica el tratamiento dieléctrico, el cual consiste en hacer pasar un voltaje de 100 V empleando dos electrodos de cobre-níquel, por un tiempo de 10 a 15 minutos. Posteriormente el maíz es molido y deshidratado a 50° C en estufa de circulación de aire caliente para obtener la harina nixtamalizada (Gaytán-Martínez et al., 2000). El proceso desarrollado ofrece potencial para producir frituras de maíz con menor uso de agua, reducción de tiempos de proceso y mayores rendimientos debido al uso integral del grano de maíz; sin embargo, al igual que el proceso de nixtamalización por calentamiento óhmico, tiene la limitante respecto a la cantidad de muestra procesada.

### 2.3.5. Proceso de Nixtamalización con Microondas (PNM)

Recientemente, en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (FESC-UNAM) se desarrolló un proceso de nixtamalización empleando cocción con microondas. En este proceso se elabora una mezcla de maíz integral (malla 5 mm), agua y  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  (en proporción 1:1:0.005, respectivamente), la cual se cuece en un horno de microondas a una potencia del 100% por espacio de 5.5 minutos. Posteriormente, el nixtamal así producido se le deja en reposo por espacio de 3 horas, para luego someterlo a molienda para la elaboración de masa y posteriormente tortillas (Pérez-Flores et al., 2011). Este proceso está diseñado para obtener diferentes productos a partir de la harina integral de maíz, tales como masa fresca, tortilla, e incluso harina instantánea, con solo modificar las variables de proceso involucradas. Al igual que con los métodos antes señalados, este proceso tiene la ventaja de no producir efluentes contaminantes, además de reducir los tiempos y costos de operación; todo esto aunado a la ventaja que ofrece este tipo de cocción con microondas respecto a la calidad nutricional y sensorial de los productos obtenidos.

En general, el calentamiento con microondas de los alimentos es causado por la fricción molecular de los dipolos eléctricos, bajo la oscilación de campos eléctricos de frecuencia específica. La alta absorción de energía por las moléculas de agua (las cuales son los componentes dipolares más abundantes de los alimentos), resultan en un calentamiento más uniforme (Mudgett, 1986).

### 2.4. Parámetros de calidad de la tortilla de maíz

Calidad es el grado de bondad o combinación de atributos, sean medibles o no, que los consumidores identifican sensorialmente en un producto, y que determina el grado de aceptación y condiciona su valor comercial (Reyes et al., 1992).

Los siguientes atributos son algunos de los considerados determinantes en la calidad de la tortilla de maíz. 1) Rolabilidad o flexibilidad, que es la característica que evalúa la facilidad para la formación del taco o “forma de cuchara”, 2) color blanco-amarillento, el de preferencia general, aún cuando existan consumidores que las prefieran de colores (azul, rojas, blancas, entre otras), y 3) Otras características generales como son: sabor y

aroma característicos, ausencia de defectos, y sobre todo libre de contaminantes como lo son las micotoxinas.

### **3. Contaminación de la materia prima por microorganismos**

La mayoría de los productos agrícolas se ven invadidos por diversos microorganismos durante su desarrollo en el campo, siendo los hongos los más abundantes y la principal causa de enfermedades, provocando severas pérdidas económicas al reducir el potencial de producción de los cultivos que atacan, y la principal causa de enfermedades al ser consumidos.

Algunos hongos ponen en peligro la salud de los animales domésticos y la del hombre, ya que ciertas especies suelen producir sustancias tóxicas, que por su origen se les ha denominado micotoxinas y, micotoxicosis a las intoxicaciones que causan cuando se ingieren. Las micotoxinas más estudiadas son las producidas por *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* y *Aspergillus nomius* y son conocidas como aflatoxinas (Sargent et al., 1961).

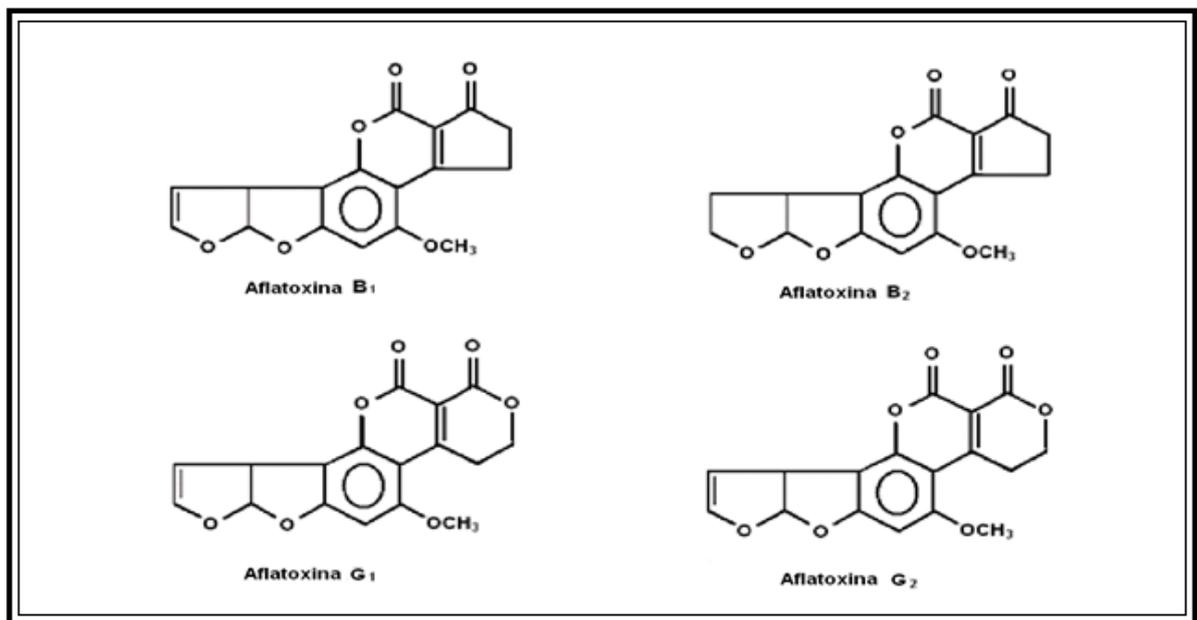
#### **3.1. Micotoxinas**

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por ciertos hongos, y en pequeñas cantidades pueden ser tóxicos a los animales que las ingieren (Smith et al., 1994). Evidencias actuales sobre la importancia de los diferentes hongos tóxicos que invaden a granos, indican que los géneros más importantes son *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* (Brook y White, 1966).

El análisis de las micotoxinas comprende una serie de pasos que inician con el muestreo, la extracción, purificación, separación y cuantificación de la toxina. La principal dificultad en el muestreo de granos o productos sospechosos de contaminación por micotoxinas, es que éstas no se encuentran distribuidas de manera homogénea. Seguramente las micotoxinas siempre han estado presentes en los alimentos; sin embargo, hasta hace algunos años se les dio la importancia debido a que se les reconoció como un problema de salud pública.

### 3.2. Aflatoxinas

Las aflatoxinas son producidas principalmente por *Aspergillus flavus* Link, *Aspergillus parasiticus* Speare y *Aspergillus nomius* (Feibelman et al., 1998; Weidenbörner, 2007). Las principales aflatoxinas son cuatro: AFB1, AFB2, AFG1 y AFG2. Generalmente AFB1 es encontrada en mayores concentraciones que las otras y es la más potente, siendo cancerígena, teratógena y mutágena, y el órgano que más afecta es el hígado, por lo que es considerada una hepatoxina. En la Figura 3.4 se muestran las estructuras moleculares de algunas aflatoxinas.



Fuente: Ellis et al., 1991

Figura 3.4. Estructura de aflatoxinas B y G

Químicamente las aflatoxinas son difuranocumarinas (Buchi y Rae, 1969), estos compuestos están formados por anillos heterocíclicos, los furanos relacionados a la toxicidad y un anillo de lactona responsable de la fluorescencia y el cual también hace que estos metabolitos sean susceptibles a la hidrólisis alcalina (Lillehoj, 1983). Las letras B y G se refieren a los colores azul y verde de fluorescencia observados bajo luz ultravioleta de onda larga; esta propiedad de fluorescencia de las aflatoxinas ha llegado a ser la base para la cuantificación por métodos fisicoquímicos (Asao et al., 1963); y los números se refieren a los patrones de separación de estos compuestos al utilizar cromatografía de capa fina (Bullerman, 1987).

Desde hace más de 30 años se descubrió que las aflatoxinas son sustancias muy potentes productoras de cáncer en animales de laboratorio (Wogan y Newberne, 1967). Desde entonces numerosas investigaciones se han hecho acerca del efecto de las aflatoxinas en la salud de los animales domésticos, en los cuales se ha detectado baja ganancia de peso, desarrollo lento, problemas en la reproducción, diarrea, desórdenes respiratorios, hemorragias, reducción en la producción de leche y huevos; así como la alteración del sistema inmunológico, con el consecuente incremento en el desarrollo de infecciones por bacterias, virus, y otros agentes causantes de enfermedades, lo cual incluso ocasiona la muerte de los animales (Keyl y Booth, 1971; Tung et al., 1975; Guthrie, 1979; Bodine y Mertens, 1983).

Existen evidencias respecto a la ingestión de alimentos contaminados con aflatoxinas y el desarrollo de cáncer en humanos, particularmente en regiones cálidas y húmedas, como la India, en África y en algunos países asiáticos. La Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer (IARC), en 1987 consideró que las aflatoxinas eran sustancias con alto poder cancerígeno en humanos, clasificándolas en el grupo 1 (Castegnaro et al., 1981). En estudios hechos en Kenya, así como en Tailandia, se ha encontrado una correlación positiva entre la ingestión de aflatoxinas y el desarrollo de cáncer en el hígado.

La producción de aflatoxinas depende de varios factores: la cepa del hongo; el substrato; el contenido de humedad; la temperatura y la microflora asociada. Las aflatoxinas son producidas sólo por algunas cepas denominadas toxígenas, cuyos requerimientos son especiales para su desarrollo, por ejemplo: una actividad de agua mínima de 0.85, equivalente a 16.5% de humedad en cereales como el maíz, en cuanto al límite de humedad máximo, prácticamente no existe producción de dicha toxina; puesto que en los laboratorios se pueden producir aflatoxinas aún en medio líquido, siempre y cuando sean cultivos puros. En cuanto a la temperatura mínima para la producción de aflatoxinas es de 12° C, la óptima de 27-30° C y la máxima de 40-42° C. *A. flavus* crece lentamente a temperaturas menores de 12° C, y rápidamente a temperaturas hasta de 55° C; pero no produce aflatoxinas debajo de 12° C, ni arriba de 40-42° C (Diener y Davis, 1966).

### 3.2.1. Efecto de las aflatoxinas

*A. flavus* está adaptado a emplear un amplio espectro de fuentes orgánicas, además de ser saprofito, es un organismo patógeno oportunista en plantas, insectos y vertebrados incluyendo al hombre y animales domésticos (Bhatnagar et al., 1993); sus efectos pueden ser agudos o crónicos dependiendo del organismo afectado, la dosis y frecuencia de exposición.

La sensibilidad varía con las especies, edad y sexo en los animales, así como la composición de la dieta y la ruta de ingestión (Krishna y Sinha, 1991); algunas bacterias se inhiben en su presencia, algunas plantas desarrollan albinismo, las semillas pierden capacidad de germinación y el grado de toxicidad varía de acuerdo a las especies de animales (Peña y Durán, 1990).

La absorción de aflatoxina B1 (AFB1) después de una administración oral resulta relativamente eficiente y es totalmente dependiente de la especie animal, siendo en general completa. Por otro lado, está demostrado que la absorción de AFB1 a nivel del intestino delgado es mediante difusión pasiva y dependiente de la composición lipídica del epitelio intestinal, sin olvidar que en el tracto gastrointestinal puede llevarse a cabo una biotransformación, generando AFB1-epóxido, dihidrodiol-AFB1 o AFB2 capaces de interactuar con proteínas intestinales (Hsieh y Wong, 1993).

Las aflatoxinas son consideradas como genotoxinas ya que pueden unirse al ADN de su hospedero y que pueden activar elementos genéticos móviles: provirus y retrovirus del genoma, generando una desestabilización del mismo que conduce a distintas anormalidades (Lillehoj, 1991). De todas la aflatoxinas la AFB1 se considera la más tóxica y en orden decreciente le siguen: G1, B2, G2, M1 y Q1 (Betina, 1989).

En contraste con la mayoría de las micotoxinas, la AFB1 no es un carcinógeno *per se*, pero requiere de una biotransformación para ejercer su acción. La parte activa de la molécula de AFB1 se atribuye al dihidrofurano, ya que la pérdida de la doble ligadura en C2-C3 del furano terminal resulta en una fuerte disminución de la actividad tóxica.

Las primeras lesiones observables de aflatoxicosis son la necrosis hepática y cambios degenerativos en grasas. La inducción de cáncer hepático es común en ratas, truchas y

cerdos. En aves se producen diversas reacciones que van desde una mala absorción de nutrimentos, coagulopatía, desarrollo ineficiente, vulnerabilidad a las infecciones, incapacidad para reaccionar a las vacunas, problemas reproductivos, etc. En mamíferos producen necrosis y disfunción hepática, y extensas lesiones hemorrágicas que resultan letales (Peña y Durán, 1990). En el hombre las intoxicaciones están asociadas con cáncer digestivo, hepatomegalias, hígado graso, cirrosis y además producen diarreas, vómitos, abortos y son causantes de inmunodepresión y hemorragias internas (Organización Panamericana de la Salud, 1983).

Las aflatoxinas producen una gran variedad de desórdenes fisiológicos y bioquímicos en plantas superiores, helechos, algas y microorganismos. En plantas superiores con dosis altas, suelen inhibir la germinación, reducen la síntesis de clorofila, ADN, ARN y proteínas. Como consecuencia de todo esto, las plantas en general, reducen su valor nutritivo para consumo existiendo deficiencias en azúcares, proteínas y valor calórico.

### 3.2.2. Control de las aflatoxinas

La información disponible sobre la importancia y el impacto económico de las aflatoxinas es escasa en México; sin embargo, varios de los estados productores de grano poseen características climáticas que favorecen la presencia y el desarrollo de los hongos potenciales productores de micotoxinas, es por esta razón que debe proponerse un estricto control en el manejo del maíz.

Muchos países regulan el nivel máximo permisible de aflatoxinas en alimentos, por ejemplo: Estados Unidos estableció 20  $\eta\text{g/g}$ , Canadá 15  $\eta\text{g/g}$ , Francia 10  $\eta\text{g/g}$ , Reino Unido 10  $\eta\text{g/g}$ , Japón 10  $\eta\text{g/g}$ , Australia 5  $\eta\text{g/g}$ , México 20  $\eta\text{g/g}$ , mientras que en España de acuerdo al Real Decreto (RD) 475/1998 se establecieron 10  $\eta\text{g/g}$  para la suma de las 4 aflatoxinas (M1, G1, B2 y G2) y 5  $\eta\text{g/g}$  para la aflatoxina B1 por ser considerada la más tóxica de las cuatro. La legislación de residuos tóxicos en alimentos solo considera la presencia de las cuatro principales aflatoxinas producidas por *Aspergillus*, ignorando la presencia de los metabolitos en tejidos animales, que también pueden ser tóxicos aunque con menor potencialidad (Fernández et al., 1994).

La Administración de Alimentos y Drogas (FDA) estableció niveles permitidos de aflatoxinas en varios alimentos y dietas para animales; sin embargo, no se establecieron límites para carne u otros tejidos animales destinados para consumo humano (Wood, 1993).

El contenido máximo de aflatoxinas en productos nixtamalizados (tortillas, tostada, etc.) no debe ser mayor de 12  $\mu\text{g/g}$  según la Norma Oficial Mexicana (NOM-187-SSA1/SCFI, 2002).

### 3.2.3. Métodos analíticos para la determinación de aflatoxinas

La determinación de las aflatoxinas en los alimentos se basa principalmente en una extracción empleando acetona o metanol, limpieza del extracto, en ocasiones empleando columnas cromatográficas, y la posterior cuantificación ya sea por cromatografía de capa fina (TLC), cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), y/o métodos inmunoquímicos como el uso de anticuerpos monoclonales (Aflatest) ó ELISA. Algunos de estos métodos presentan limitaciones por la baja precisión en la detección o por una inadecuada separación de las aflatoxinas debido a la interferencia que pudiesen tener otros compuestos presentes en la muestra (Gregory y Manley, 1981).

En la presente investigación el método empleado para la cuantificación de aflatoxinas fue del tipo inmunoquímico, que se detallará más adelante.

### 3.2.4. Prevención de la contaminación con aflatoxinas

La manera más conveniente de prevenir los problemas ocasionados por las aflatoxinas es “evitar” que el hongo se desarrolle en los productos alimenticios. La manera más efectiva es, en el caso de productos almacenados, bajar el contenido de humedad de los granos y la humedad relativa del almacén a niveles inferiores a los requeridos por el hongo; sin embargo esto no es tan fácil particularmente en los países subdesarrollados y con climas tropicales y subtropicales, por la falta de tecnologías apropiadas a las condiciones sociales y económicas de su población.

Además de lo anteriormente señalado, hay evidencias que señalan que altas concentraciones de bióxido de carbono, o bajas concentraciones de oxígeno, inhiben la síntesis de aflatoxinas (Wilson y Jay, 1975; Diener y Davis, 1977) lo cual se debe a que seguramente el hongo no se desarrolló bajo esas condiciones de almacenamiento (Moreno et al., 1988).

El principal medio de prevenir la contaminación con aflatoxinas en almacén, es cosechar con el menor contenido de humedad del grano y/o su secado posterior a niveles inferiores al 15% de humedad, así como temperaturas inferiores a 7° C (Sauer y Tuite, 1987). El control de la atmósfera de almacenamiento mediante la adición de gases (CO<sub>2</sub> ó N<sub>2</sub>) humedeciendo los granos en silos cerrados ha dado buen resultado cuando se mantiene a 40% de CO<sub>2</sub>, 99% de humedad y temperatura menor de 15° C (Lacey, 1989).

### 3.2.5. Destoxificación de aflatoxinas por tratamiento térmico-alcálico

Cierto tipo de alimentos como algunos granos requieren operaciones de procesado alcalino, de estos procesos el más conocido es la nixtamalización del grano de maíz para la elaboración de las tortillas. Este proceso puede reducir los niveles de aflatoxinas en un 50-90% en la masa y un poco más en las tortillas (Ulloa y Herrera, 1970; de Arriola et al., 1988, Méndez-Albores et al., 2004a, 2004b).

La AFG1 y AFG2 son más susceptibles a la degradación que las aflatoxinas B1 y B2 (Ulloa-Sosa y Schroeder, 1969; de Arriola et al., 1988), aunque los reportes publicados presentan variaciones considerables en los resultados (Ulloa-Sosa y Schroeder, 1969; Ulloa y Herrera, 1970; Martínez-Herrera y Lechance, 1979; Price y Jorgensen, 1985; Abbas et al, 1988; de Arriola et al., 1988).

El uso de maíz naturalmente contaminado, por lo general ofrece reducciones bajas en los niveles de aflatoxinas (20-46%) en comparación con el procesado de maíz inoculado. Price y Jorgensen (1985) en el proceso de la nixtamalización tradicional utilizando maíz inoculado, reportaron valores de degradación entre 40 y 70%, mientras que Guzmán de Peña et al. (1995) publicaron un estudio, empleando maíz naturalmente contaminado

con concentraciones de 37 y 251  $\eta$ /g de aflatoxinas, procesado mediante el método de nixtamalización tradicional, el cual redujo los niveles en 100 y 92% respectivamente.

La presencia del anillo de lactona en la molécula de aflatoxina las hace susceptibles al tratamiento alcalino (Parker y Melnick, 1966); sin embargo, si éste tratamiento no es tan severo, la acidificación puede revertir la reacción (Camou-Arriola y Price, 1989).

Así, se conoce que las aflatoxinas se reactivan al acidificarse, lo cual fue reportado por Price y Jorgensen (1985) cuando acidificaron muestras nixtamalizadas para simular el efecto de los ácidos en el estómago de los monogástricos.

Respecto a la destoxificación de alimentos destinados para consumo humano y/o animal, se ha realizado investigación con resultados promisorios, pero sin llegar aún a un desarrollo tecnológico aplicable bajo nuestras condiciones, ya que el método más deseable y efectivo para controlar la producción de aflatoxinas es la prevención del desarrollo del hongo potencial productor de este metabolito (Moreno et al., 2000).

Por lo anteriormente expuesto, resulta de interés evaluar la degradación de las aflatoxinas al procesar diferentes lotes de maíz contaminado por el método PNM desarrollado en la UNIGRAS y compararlo con el método tradicional. Si dicha degradación es importante, esto permitirá, además de generar información básica, incorporar este proceso a mediano o largo plazo como un método alternativo para la degradación de aflatoxinas en maíces contaminados destinados a la industria de la masa y las tortillas.

## CAPITULO II

### CUADRO METODOLOGICO

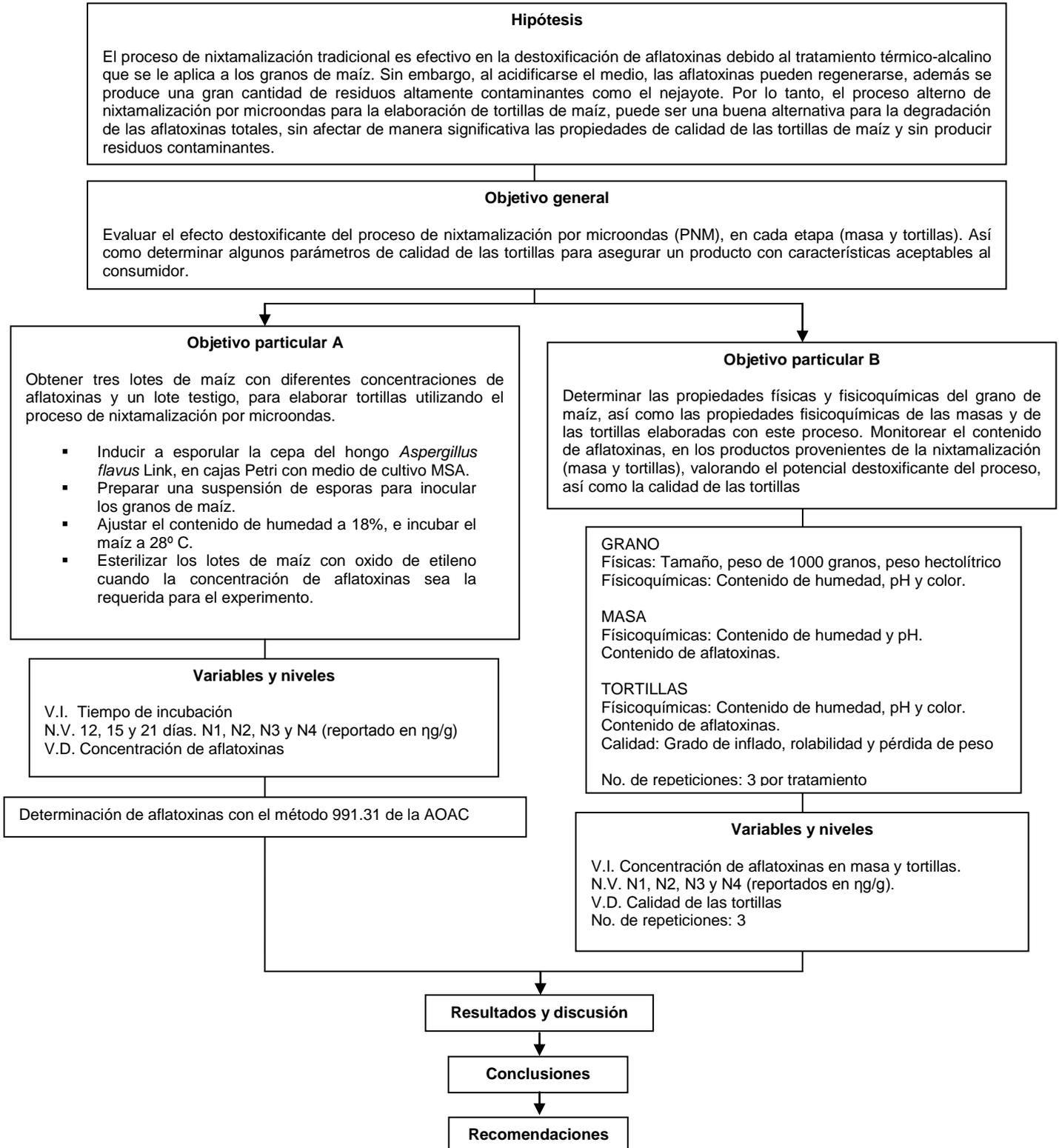


Figura 3.5. Cuadro metodológico.

# OBJETIVOS

---

## Hipótesis

El proceso de nixtamalización tradicional es efectivo en la destoxificación de aflatoxinas debido al tratamiento térmico-alcalino que se le aplica a los granos de maíz. Sin embargo, al acidificarse el medio, las aflatoxinas pueden regenerarse, además se produce una gran cantidad de residuos altamente contaminantes como el nejayote. Por lo tanto, el proceso alternativo de nixtamalización por microondas para la elaboración de tortillas de maíz, puede ser una buena alternativa para la degradación de las aflatoxinas totales, sin afectar de manera significativa las propiedades de calidad de las tortillas de maíz y sin producir residuos contaminantes.

## Objetivo general

Evaluar el efecto destoxificante del proceso de nixtamalización por microondas (PNM), en cada etapa (masa y tortillas). Así como determinar algunos parámetros de calidad de las tortillas para asegurar un producto con características aceptables al consumidor.

## Objetivos particulares

- A. Obtener tres lotes de maíz con diferentes concentraciones de aflatoxinas y un lote testigo, para elaborar tortillas utilizando el proceso de nixtamalización por microondas.
- B. Determinar las propiedades físicas y fisicoquímicas del grano de maíz, así como las propiedades fisicoquímicas de las masas y de las tortillas elaboradas con este proceso. Monitorear el contenido de aflatoxinas, en los productos provenientes de la nixtamalización (masa y tortillas), valorando el potencial destoxificante del proceso, así como la calidad de las tortillas

## V. MATERIALES Y MÉTODOS

---

### 1. Materia prima

Como materia prima se utilizó grano de maíz blanco (AS-900) con una distribución de tamaño uniforme, el cual fue proporcionado por Semillas Aspros de México S.A. de C.V. El maíz se almacenó a temperatura ambiente, hasta su utilización en bolsas de polietileno oscuras, dentro de tambores de plástico de 200 L de capacidad, con sello metálico, con la finalidad de evitar la proliferación de plagas.

Se empleó una cepa del hongo *Aspergillus flavus* Link, aislada originalmente de maíz proveniente del estado de Tamaulipas.

### 2. Propiedades físicas del grano de maíz

#### 2.1. Tamaño del grano

Para determinar el tamaño del grano se midió el largo, ancho y espesor del centro del grano. Se midieron 100 granos tomados al azar. Se utilizó un calibrador o vernier Digimatic, marca Mitutoyo Corp., con rango de medida de 0.01-150 mm. Los datos fueron reportados como el valor promedio y la desviación estándar de las mediciones (Moreno-Martínez, 1984).

#### 2.2. Peso de 1000 granos

Se tomaron 1000 granos al azar y se pesaron en una balanza analítica Ohaus, con una capacidad de 0-210 g, y una precisión de  $\pm 0.0001$  g. Se hicieron cinco repeticiones de cada medición, se obtuvo la media y el error estándar de los datos.

### 2.3. Peso hectolítrico

Para la obtención de esta medida se siguió la técnica 55-10 de la AACCC (2000). Se llenó de granos un recipiente de aluminio de volumen conocido, pesándose en una balanza analítica Ohaus. El peso hectolítrico se obtuvo al dividir el peso de los granos entre el volumen del recipiente y relacionándolo a un volumen de 100 litros. Las mediciones se hicieron con cinco repeticiones, se reportó la media y el error estándar.

## 3. Propiedades fisicoquímicas del grano de maíz

### 3.1. Contenido de humedad

Se procedió de acuerdo al método 44-19 de la AACCC (2000). Cuatro gramos de muestra de maíz (grano entero) se colocaron en charolas de aluminio en una estufa con circulación de aire forzado a 103° C durante 72 h. Para el caso del nixtamal, masa y tortilla se procedió de la misma forma, utilizando 4 g de muestra a 103° C durante 24 h. Las pruebas se hicieron por triplicado.

### 3.2. pH

Para la determinación del pH se siguió el método 02-52 de la AACCC (2000). Se preparó una suspensión con 10 g (b. s.) de harina de granos de maíz, masa y tortilla en 100 mL de agua destilada, recientemente hervida y fría a temperatura de 25° C. Las suspensiones se agitaron por espacio de 30 min., con un agitador magnético y posteriormente se dejaron en reposo por espacio de 10 min. El pH fue determinado directamente en el supernadante utilizando un potenciómetro marca conductronic PC-45. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

### 3.3. Color

Para medir objetivamente el color en los alimentos que son del tipo translúcido existen una diversidad de métodos, uno de ellos es el método triestímulo Hunter Lab. Este método se basa en la determinación, por reflexión de la luz, de tres parámetros. El

parámetro “L”, que mide el grado de luminosidad y varía desde 100 para el blanco perfecto a 0 para el negro; los parámetros “a” y “b”, son indicativos de la cromaticidad, los valores positivos de “a”, están relacionados con el color rojo y los negativos con el color verde; mientras que los valores positivos del parámetro “b”, están asociados con el color amarillo y los negativos con el azul (Méndez-Albores, 2002).

Para la medición del color se utilizó un colorímetro MiniScan XE modelo 45/0-L (Hunter Associates Laboratory, Reston, VA, USA). El colorímetro se calibró con una placa blanca de porcelana (L= 97.02, a= 0.13 y b=1.77). Las determinaciones se realizaron de la forma siguiente: se colocaron aproximadamente 100 gramos de muestra en un recipiente de vidrio ancho y de baja profundidad (2 cm) para los granos de maíz, y en caso de las tortillas, las mediciones se realizaron directamente en ésta. Las lecturas se realizaron por triplicado con respecto a cuatro posiciones localizadas 90° una respecto a la otra. Se midieron los valores de L, a, y b, y con estos valores se obtuvo la diferencia total de color ( $\Delta E$ ), utilizando la fórmula:

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

donde:

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

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

## **4. Preparación de las unidades experimentales**

### **4.1. Medidas de seguridad**

Los procedimientos utilizados para la manipulación de materiales contaminados con aflatoxinas, se adoptaron en las recomendaciones publicadas por la Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer (Castegnaro et al., 1981).

## 4.2. Cepa del hongo

*Aspergillus flavus* Link se indujo a esporular en cajas de Petri con medio de cultivo MSA (% extracto de malta, 2; cloruro de sodio, 6; y agar, 2) durante 7 días a 25° C. Esta cepa (UNIGRAS- 1231) es capaz de producir únicamente AFB1 y AFB2.

## 4.3. Inoculación del maíz.

Para la inoculación de los granos de maíz, las esporas del hongo fueron removidas de las cajas de Petri con una espátula, y se preparó una suspensión de esporas con agua estéril (1.5 L) con aproximadamente 100,000 conidios/mL, y esta suspensión fue utilizada para aumentar el contenido de humedad del grano. Esta cantidad de inóculo (aproximadamente 10,000 esporas/g de maíz) fue utilizada para evitar la competencia con otros hongos de almacenamiento, los cuales pudiesen crecer potencialmente bajo las condiciones de incubación.

La cantidad total de maíz a ser inoculado fue de 20 kg. El contenido de humedad del grano fue ajustado a 18%, y se almacenó en contenedores plásticos (5 kg de maíz por tratamiento). Los contenedores fueron cubiertos con una película de polietileno para minimizar las pérdidas de humedad del grano. Sin embargo, se realizaron 10 perforaciones con un alfiler, para evitar la acumulación de bióxido de carbono generado por la respiración de los granos y de los hongos. Los contenedores fueron incubados a 27° C durante 12, 15 y 21 días, homogeneizándose cada 12 h a baja velocidad (60 rpm) durante 15 minutos en un mezclador de rodillos (modelo C-100, Hobart Corp. Troy Ohio, U.S.A.) para las unidades experimentales inoculadas con el hongo, y 21 días para el lote control (no inoculado con las esporas del hongo). Estos periodos de incubación fueron seleccionados para obtener 3 diferentes niveles de aflatoxinas en el grano de maíz.

Después de los periodos de incubación, el grano fue sometido a una atmósfera con gas de óxido de etileno a una concentración de 1,000 mg/L durante 5 h, para de esta manera detener el desarrollo del hongo toxígeno y evitar la dispersión de esporas viables (Méndez-Albores et al., 2004a). Finalmente, el grano fue secado a 11% del contenido de humedad, transferido a bolsas de plástico y almacenado a 4° C.

#### 4.4. Determinación de aflatoxinas totales

Para la determinación de aflatoxinas totales, se procedió de acuerdo al método 991.31 de la AOAC (2000) utilizando columnas de anticuerpos monoclonales para aflatoxinas (VICAM, Milford, Mass., USA). Las muestras (50 g) fueron extraídas mediante 100 mL de metanol-agua (80:20 v/v) y sal (5 g) empleando una licuadora de laboratorio (Mod. 51BL30; Waring, New Hartford, Conn., U.S.A.). La mezcla se filtró con papel Whatman No. 1 y una porción de 10 mL fueron diluidos con 40 mL de agua destilada. Esta dilución fue filtrada nuevamente utilizando un filtro de microfibra, de los cuales 10 mL fueron aplicados a la columna de inmunoafinidad (Aflatest-P; VICAM Science Technology, Watertown, Mass., U.S.A.). Subsecuentemente, la columna se lavó 2 veces con agua destilada y se llevó a sequedad. Las aflatoxinas fueron eluidas con un mililitro de metanol grado HPLC y se cuantificaron en un fluorómetro VICAM Serie 4 (VICAM Source Scientific. Irvine, Calif., U.S.A.), después de reaccionar la muestra con 1 mL de solución de Bromo al 0.002%. El límite de detección para la medición de aflatoxinas por medio de las columnas de inmunoafinidad es aproximadamente de 0.5 ng/g (Hansen, 1990). Cuando la concentración de aflatoxinas fue mayor que 25 ng/g, se realizaron diluciones de los extractos antes de pasarlos por la columna de inmunoafinidad.

#### 4.5. Procedimiento de acidificación del extracto

Los extractos de masa y tortilla de los análisis de aflatoxinas fueron ajustados a un pH de 3 utilizando una mezcla comercial de ácido hidroclicórico-ftalato ácido de potasio (J. T. Baker, Mallinckrodt Baker, México) para simular la acidez estomacal. El pH fue determinado de acuerdo al método 02-52 de la AACC (AACC, 2000). Las aflatoxinas fueron cuantificadas como se describió anteriormente.

### **5. Proceso de nixtamalización con microondas**

Muestras de maíz contaminado (1 kg) de cada nivel de aflatoxinas, así como el control (N1, N2, N3 y N4) fueron molidas en un molino de martillos (Glen Mills Inc. Clifton, N.J., U.S.A. con malla 5mm.). Se utilizó una relación agua-maíz de 1:1 (v/p). El contenido de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  en la suspensión fue de 5 g por kg de maíz. El maíz fue sometido a cocción en un contenedor de plástico resistente a las microondas, y la cocción de llevó a cabo en un

horno de microondas comercial (LG Electronics Inc, modelo MS047GR, Korea), con una potencia de cocción del 100% durante 5.5 minutos. Posteriormente el nixtamal se dejó reposar por un tiempo de 3 horas a temperatura ambiente (22° C). El nixtamal se molió en un molino de piedras (FUMASA, Modelo MN-400, México) hasta obtener una masa de fineza adecuada para producir tortillas con un contenido de humedad 54% de contenido de humedad como se muestra en la Figura 5.1 y 5.2.

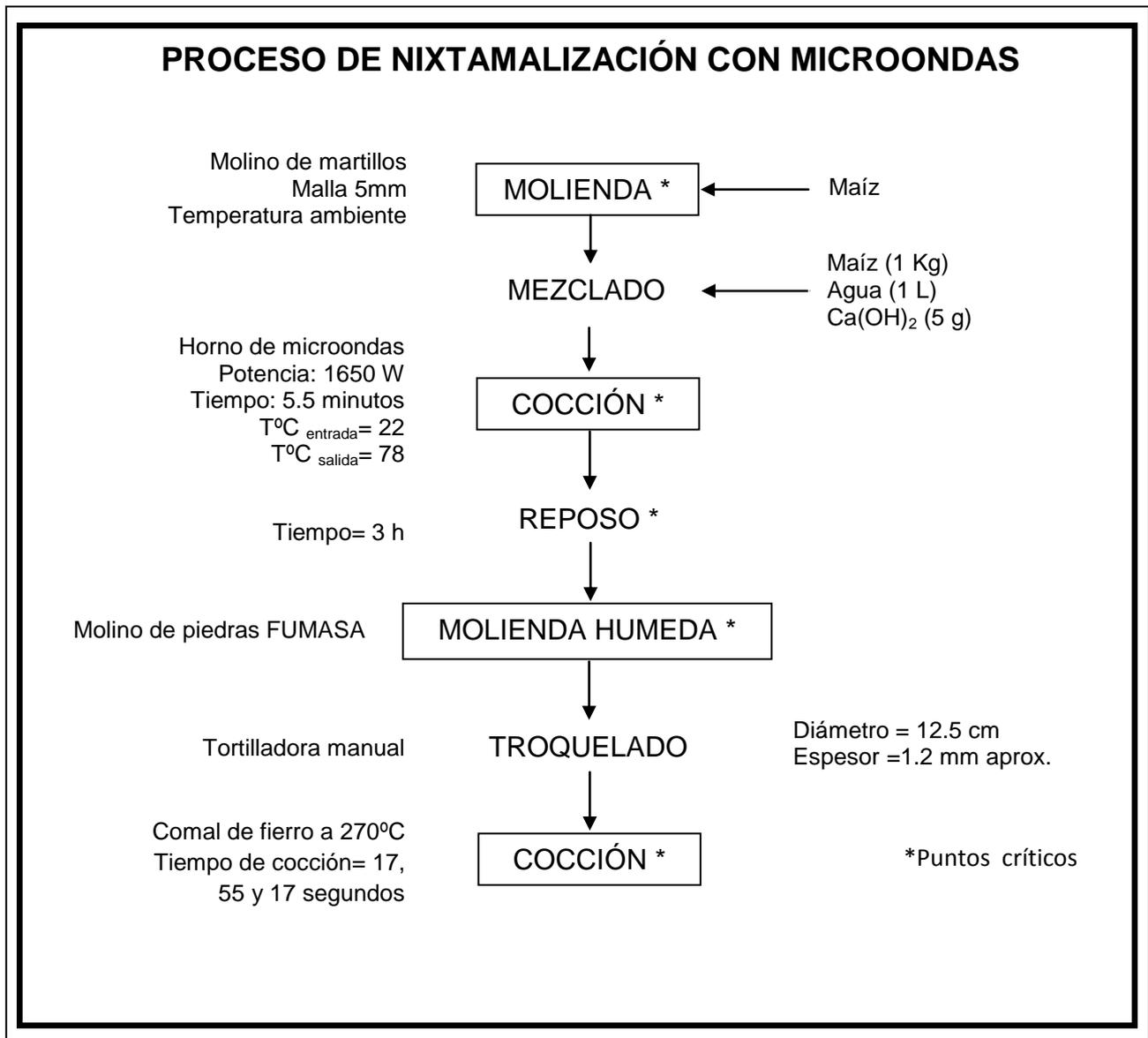


Figura 5.1. Diagrama de bloques para el proceso de nixtamalización por microondas



Figura 5.2. Esquema ilustrativo de la elaboración del nixtamal y masa.  
a) Maíz-agua-cal; b) Nixtamalización en microondas; c) Molienda húmeda de nixtamal

### 5.1. Troquelado de la masa

Se hicieron testales de masa de 28 g, se formaron discos de 12.5 cm de diámetro y 1.2 mm de espesor aproximadamente, utilizando una tortilladora manual (Modelo TM-G, Casa González. Monterrey, N.L. México) como se observa en la Figura 5.3.



Figura 5.3. Troquelado de la masa. a) Testales de 28g; b) Formación de discos

### 5.2. Cocimiento de las tortillas

Las tortillas elaboradas se sometieron a cocimiento, utilizando un comal de fierro calentado a fuego directo a una temperatura promedio de 270° C, la cual se determino con un termopar de contacto (marca FLUKE modelo 179, U.S.A.). Los tiempos de cocción fueron los siguientes: 17 segundos para la formación de la capa delgada de la

tortilla, 55 segundos para la formación de la capa gruesa, y nuevamente se volteó y se expuso por 17 segundos para permitir el inflado, como en la Figura 5.4.



Figura 5.4. Cocción de las tortillas. a) Tortillas en comal de hierro; b) Inflado de tortilla

Finalmente, porciones de masa (500 g), y tortillas de cada tratamiento (n= 30) fueron deshidratadas en una estufa de circulación de aire forzado a 40° C durante 48 h, molidas y almacenadas a 4° C en bolsas de polietileno para el análisis de aflatoxinas.

### 5.3. Propiedades de calidad de la tortilla

#### 5.3.1. Capacidad de enrollamiento (rolabilidad)

Para determinar la rolabilidad de la tortilla, se utilizó el método descrito por Bedolla (1983), con algunas modificaciones. Se tomaron al azar cinco tortillas, de cada tratamiento, las cuales se enrollaron manualmente en una varilla de vidrio de 2 cm de diámetro, y se observó el grado de rompimiento.

Se le asignó una calificación de 1 a la tortilla que no presentó ruptura, de 2 cuando se rompió aproximadamente el 25% del ancho de la tortilla, de 3 si presentó una ruptura aproximada del 50%, de 4 con ruptura aproximada del 75%, y de 5 cuando la ruptura fue

completa. La prueba se llevó a cabo a temperatura ambiente, después de 30 minutos de haber sido elaboradas las tortillas.

### 5.3.2. Grado de inflado

Para evaluar el grado de inflado se hicieron cinco tortillas en las condiciones descritas anteriormente, y se observó el tamaño de la ampolla que presentó cada tortilla al momento de ser elaboradas, asignándole una calificación de 1 a la tortilla con un inflado entre 75 -100%, de 2 con un inflado entre 25-75%, y de 3 con un inflado entre 0-25% (Méndez-Albores, 2002).

### 5.3.3. Pérdida de peso en la cocción

La pérdida de peso se determinó calculando el % en peso de material perdido durante el cocimiento, pesando la tortilla antes de someterla a la cocción y después de cocida (40° C aprox.). Se utilizó la siguiente fórmula:

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

donde:

p.t. cruda = peso de la tortilla cruda (g).

p.t. cocida = peso de la tortilla cocida (g).

## 6. Diseño experimental

El experimento se analizó con base a un diseño completamente al azar. Las cuatro condiciones experimentales fueron corridas con tres repeticiones. Los datos fueron evaluados mediante un análisis de varianza (ANDEVA) y las comparaciones de medias se llevaron a cabo mediante la prueba de Dunnet, utilizando el Sistema de Análisis Estadístico (SAS, 1998). Un valor de significancia de  $\alpha = 0.05$  fue usado para distinguir diferencias significativas entre los tratamientos.

## CAPITULO III

---

### VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 1. Caracterización del grano de maíz AS-900

##### 1.1. Propiedades físicas

Las propiedades físicas del grano de maíz utilizado en esta investigación se muestran en la Tabla 6.1. El maíz empleado (AS-900) presentó un tamaño de grano (4.6 x 3.23 x 1.78 mm) promedio, propio en este tipo de maíces. Las dimensiones del maíz son similares a las reportadas para la misma variedad por Méndez-Albores (2002). A su vez, el maíz presentó un peso de 1000 granos de 308.09 g, atribuible de forma directa a su tamaño. Esta medida junto con las dimensiones, son utilizadas como medida de calidad en el comercio de los granos y las semillas (ISTA, 1996).

Tabla 6.1. Propiedades físicas del maíz

Parámetro	Maíz AS-900
Tamaño (mm)*	
Largo	4.6 ± 0.04
Ancho	3.23 ± 0.03
Espesor	1.78 ± 0.03
Peso de 1000 granos (g)**	308.09 ± 2.20
Peso hectolítrico (kg/hL)**	78.92 ± 1.43

\* Media de 100 muestras ± error estándar.

\*\* Media de 3 muestras ± error estándar.

Otra forma de calificar la calidad de un grano es midiendo su peso hectolítrico. De acuerdo a la NMX-FF-034/1-SCFI-2002, para el caso de maíz blanco empleado para la elaboración de tortillas y productos de maíz nixtamalizados de calidad comercial, se

considera que el grano tenga un peso hectolítrico mínimo de 74 kg/hL (NMX-FF-034/1-SCFI, 2002). El valor que presentó el maíz fue de 78.92 kg/hL, que se encuentra dentro de lo establecido para la industria del nixtamal.

## 1.2. Propiedades fisicoquímicas

### 1.2.1. Contenido de humedad

En este estudio y de acuerdo a las necesidades para el desarrollo del hongo y la producción de toxinas, el material se ajustó a un contenido de humedad de 18%. Sin embargo, una vez que los niveles de aflatoxinas eran los requeridos, se realizó un secado del grano de maíz a un contenido de humedad de 10.8%. Este valor fue similar para las 4 condiciones experimentales, como se observa en la Tabla 6.2.

Tabla 6.2. Propiedades fisicoquímicas del maíz inoculado

Nivel de contaminación	Contenido de humedad (%)	pH	Color ( $\Delta E$ )
N1 (Control)	10.80 $\pm$ 0.03 a	6.21 $\pm$ 0.003 a	32.07 $\pm$ 2.105 a
N2	10.78 $\pm$ 0.15 a	6.21 $\pm$ 0.002 a	33.72 $\pm$ 2.967 a
N3	10.84 $\pm$ 0.23 a	6.19 $\pm$ 0.005 a	34.05 $\pm$ 1.491 a
N4	10.81 $\pm$ 0.47 a	6.22 $\pm$ 0.002 a	34.95 $\pm$ 1.071 a

Valor promedio de al menos tres repeticiones  $\pm$  error estándar.

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

N= Nivel de contaminación; N1 (grano libre de aflatoxinas); N2 (22.46  $\eta$ g/g); N3 (69.62  $\eta$ g/g); N4 (141.48  $\eta$ g/g).

### 1.2.2. pH

En la Tabla 6.2, se presenta el valor promedio de pH de los maíces incubados con y sin esporas del hongo potencial productor de toxinas (control). En general el pH promedio del maíz fue de 6.21 y no se observó diferencia estadística significativa entre los niveles de contaminación con aflatoxinas. Los valores de pH son similares a los reportados por Méndez-Albores et al. (2004a), quienes registraron valores de pH de 6.42 para un maíz del tipo AS-900.

### 1.2.3. Color

En general el color en los granos de maíz después de ser inoculados e incubados a diferentes tiempos, no presentaron diferencia estadística significativa entre los niveles de contaminación con aflatoxinas, atribuible al periodo de incubación que este material recibió (27° C y humedad de 18%), mismo que se prolongó a periodos de 12, 15 y 21 días para cada nivel de contaminación, respectivamente (Tabla 6.2). El valor promedio en la diferencia de color ( $\Delta E$ ) fue de 33.696, lo cual es indicativo que las condiciones de incubación (27° C y 18% de contenido de humedad) no tuvieron un efecto significativo en este parámetro, muy probablemente debido a los cortos tiempos de incubación.

### 1.3. Aflatoxinas totales en maíz antes de su procesamiento

La concentración total de aflatoxinas cuantificada en el maíz se muestra en la Tabla 6.3. El nivel 1 (N1) corresponde al control; experimentalmente el grano recibió el mismo tratamiento durante la incubación (27° C y 18 % contenido de humedad) en ausencia de esporas del hongo potencial productor de aflatoxinas; por lo consiguiente, en ningún momento se detectaron aflatoxinas en los granos del control. Para el caso de los niveles 2, 3 y 4 (N2, N3 y N4), las concentraciones de aflatoxinas fueron de 22.46, 69.62 y 141.48  $\eta\text{g/g}$ , respectivamente (Tabla 6.3).

Tabla 6.3. Aflatoxinas totales en los maíces inoculados

Nivel de contaminación	Tiempo de inoculación (días)	Aflatoxinas totales ( $\eta\text{g/g}$ )
N1 (Control)	21	ND
N2	12	22.46 $\pm$ 1.1 a
N3	15	69.62 $\pm$ 2.3 b
N4	21	141.48 $\pm$ 9.4 c

Valor promedio de al menos tres repeticiones  $\pm$  error estándar.

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

La concentración de aflatoxinas totales está dada en base seca.

N=Nivel de contaminación; N1 (grano libre de aflatoxinas).

ND= No detectada (por debajo del límite de detección, 0.5  $\eta\text{g/g}$ ).

La técnica utilizada para inocular los granos de maíz (contenido de humedad, temperatura de incubación, tiempo y carga de espora de *A. flavus*) trabajó bastante bien, como para obtener los tres niveles de contaminación con aflatoxinas diferentes. Estos valores de aflatoxinas totales (22.46, 69.62 y 141.48  $\eta\text{g/g}$ ), representan las concentraciones que pueden ser encontradas en el maíz comercial con el que comúnmente se utiliza para la elaboración de las tortillas en varias regiones de México (Torres et al., 2001).

## **2. Caracterización de la masa**

### 2.1. Propiedades fisicoquímicas de la masa

#### 2.1.1. Contenido de humedad

Como se muestra en la Tabla 6.4, la humedad de las masas no presentó diferencia estadística significativa, referente a los niveles de contaminación. El valor promedio de humedad para las masas, estuvo en 54.325%. Estos valores de humedad, son los adecuados en las masas de maíz, y le confieren ciertas características de textura deseables para un buen troquelado de las tortillas.

Estos contenidos de humedad son similares a los repostados por otros investigadores que usaron el proceso de nixtamalización tradicional (Flores-Farías et al., 2000; Martínez-Bustos et al., 2001).

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

Tabla 6.4. Propiedades fisicoquímicas de las masas producidas con el PNM

Nivel de contaminación	Contenido de humedad (%)	pH
N1 (Control)	54.56 ± 0.07 a	8.16 ± 0.02 a
N2	54.18 ± 0.34 a	8.15 ± 0.01 a
N3	54.13 ± 0.13 a	8.15 ± 0.01 a
N4	54.43 ± 0.32 a	8.17 ± 0.01 a

Valor promedio de al menos tres repeticiones ± error estándar.

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

N=Nivel de contaminación; N1 (grano libre de aflatoxinas); N2 (22.46  $\eta$ g/g); N3 (69.62  $\eta$ g/g); N4 (141.48  $\eta$ g/g).

### 2.1.2. pH

En la Tabla 6.4, también se presentan los valores de pH de las masas obtenidas. En general el pH promedio de ellas fue de 8.16, sin observarse diferencia estadística significativa entre los niveles de contaminación. Esto en gran manera es debido a la cantidad de cal adicionada durante el proceso de nixtamalización.

Bedolla y Rooney (1984) reportaron valores de pH promedios de 7.1 y 7.4 al analizar masas obtenidas de harinas instantáneas provenientes de EUA y de México, respectivamente. Aunque los valores son menores a los aquí encontrados para el PNM, no se debe confundir ya que las harinas de maíz se preparan con menor cantidad de cal que cuando se hace de la forma tradicional.

Por otra parte, Robles et al. (1988) al investigar diferentes masas obtenidas de harinas instantáneas reportaron valores promedio de pH de 5.2 a 10.5, siendo los más comunes de 7 a 9, por lo que los valores aquí encontrados se encuentran en ese rango.

## 2.2. Aflatoxinas totales en la masa

Es bien conocido que la distribución de las aflatoxinas en los granos del maíz es muy heterogénea, y que puede haber granos de maíz libres de aflatoxinas y granos muy

contaminados. Este comportamiento no aplica para la masa, ya que esta tiene un mayor grado de homogeneidad, debido al manejo mecánico (molienda) y manual (amasado) que se le da durante el proceso.

En la Tabla 6.5, se muestra la concentración de aflatoxinas totales para la masa del PNM. Al analizar los datos, es evidente que la masa presentó una concentración de aflatoxinas totales menor en comparación con la del maíz. Los porcentajes de reducción de aflatoxinas en la masa preparada con el maíz inicialmente contaminado con 22.46 y 69.62  $\eta\text{g/g}$  fueron 36 y 58%, respectivamente. En el caso del nivel de contaminación 4 (N4=141.48  $\eta\text{g/g}$ ), el porcentaje de degradación fue de 82 (Tabla 6.5). En todos los casos, los contenidos de aflatoxinas (14.41, 29.44, y 24.95  $\eta\text{g/g}$ ) estuvieron arriba del límite máximo permitido en México (12  $\eta\text{g/g}$ ) para la contaminación por aflatoxinas en masa, tortilla y tostada (NOM-187- SSA1/SCFI, 2002).

Tabla 6.5. Aflatoxinas totales en masas producidas con el PNM

Nivel de contaminación	Aflatoxinas totales en masa ( $\eta\text{g/g}$ )	Reducción (%)
N1 (Control)	ND	-
N2	14.41 $\pm$ 0.35 a	36
N3	29.44 $\pm$ 1.71 b	58
N4	24.95 $\pm$ 2.99 b	82

Valor promedio de al menos tres repeticiones  $\pm$  error estándar.

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

La concentración de aflatoxinas totales está dada en base seca.

N=Nivel de contaminación; N1 (grano libre de aflatoxinas); N2 (22.46  $\eta\text{g/g}$ ); N3 (69.62  $\eta\text{g/g}$ ); N4 (141.48  $\eta\text{g/g}$ ).

ND= No detectada (por debajo del límite de detección, 0.5  $\eta\text{g/g}$ ).

Los tratamientos térmicos-alcalinos de elaboración de tortillas, reducen en cierto grado el contenido de aflatoxinas en la masa, tal y como sucede al utilizar el PNM. Al respecto, Castellanos (2000) evaluó el contenido de AFB1 en diferentes productos de la nixtamalización de 49 tortillerías de la ciudad de Querétaro (masa y tortillas).

Los valores reportados estuvieron en el rango de 5.04-28.5  $\eta\text{g/g}$  de AFB1 para nixtamal y masa, respectivamente. Estos valores concuerdan con lo reportado en esta investigación, aunque los procesos de obtención de las tortillas hayan sido diferentes.

En la Tabla 6.6, se muestran los contenidos de aflatoxinas totales en los extractos de las masas que fueron acidificadas simulando el pH estomacal, ya que se ha reportado que el proceso de acidificación de productos alcalinizados como la masa, puede revertir la estructura modificada de las aflatoxinas a formas fluorescentes originales.

La acidificación de los extractos a un pH similar al del estomago humano (pH=3) indicó que la reducción en el contenido de aflatoxinas fue casi permanente; consecuentemente, no se observaron diferencias estadísticas. De acuerdo con estos resultados, se observó hasta un 7% de recuperación de fluorescencia como resultado de acidificar los extractos alcalinos de la masa proveniente del nivel de contaminación 4 (N4).

Tabla 6.6. Efecto del pH en la recuperación de aflatoxinas en masas obtenidas con el PNM

Nivel de Contaminación	Aflatoxinas totales en masa (ng/g)	Recuperación (%)
N1	ND	-
N2	14.78 ± 0.27 a	3
N3	31.14 ± 1.22 b	6
N4	26.81 ± 0.89 c	7

Valor promedio de al menos tres repeticiones ± error estándar.

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

La concentración de aflatoxinas totales está dada en base seca.

Cuantificación de aflatoxinas a pH de 3.

N=Nivel de contaminación; N1 (grano libre de aflatoxinas); N2 (22.46 ng/g); N3 (69.62 ng/g); N4 (141.48 ng/g).

ND= No detectada (por debajo del límite de detección, 0.5 ng/g).

### 3. Caracterización de las tortillas

#### 3.1. Propiedades fisicoquímicas de las tortillas

##### 3.1.1. Contenido de humedad

En la Tabla 6.7, se muestra el contenido de humedad para las tortillas obtenidas con el PNM. En general, no se observó diferencia estadística significativa en este parámetro,

en los 4 niveles de contaminación. La humedad estuvo en el rango de 42.72- 42.90%, valores muy similares a los reportados por Serna-Saldívar et al. (1988) para tortillas de maíz y sorgo, respectivamente. En esta investigación, la masa siempre presentó un mayor contenido de humedad en comparación con el de las tortillas, debido a que la masa pierde humedad durante el proceso de cocción de la tortilla.

Tabla 6.7. Propiedades fisicoquímicas de las tortillas obtenidas con el PNM

Nivel de contaminación	Contenido de humedad (%)	pH	Color ( $\Delta E$ )
N1 (Control)	42.78 $\pm$ 0.09 a	8.23 $\pm$ 0.008 a	35.38 $\pm$ 0.54 a
N2	42.90 $\pm$ 0.17 a	8.20 $\pm$ 0.010 a	36.14 $\pm$ 0.36 a
N3	42.72 $\pm$ 0.16 a	8.22 $\pm$ 0.012 a	36.28 $\pm$ 0.46 a
N4	42.82 $\pm$ 0.19 a	8.20 $\pm$ 0.007 a	36.61 $\pm$ 0.27 a

Valor promedio de al menos tres repeticiones  $\pm$  error estándar.

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

N=Nivel de contaminación; N1 (grano libre de aflatoxinas); N2 (22.46  $\eta$ g/g); N3 (69.62  $\eta$ g/g); N4 (141.48  $\eta$ g/g).

### 3.1.2. pH

En la Tabla 6.7, se presentan los valores de pH de las tortillas obtenidas a partir del PNM, y no se observó diferencia estadística significativa entre los procesos.

En general el pH promedio de las tortillas fue de 8.213, esto debido a la baja cantidad de cal que es utilizada en este proceso (0.5%). En contraste, Méndez Albores et al. (2004b) reportaron un valor de un pH de 8.33 para el caso de tortillas obtenidas con PNT. Estos valores de pH son muy similares al de las tortillas comerciales, considerando que en estos procesos toda la cal adicionada, permanece en las tortillas, en otras palabras no hay pérdidas como en el caso del PNT, en el cual gran parte de la cal adicionada es eliminada en el nejayote.

La concentración de cal representa un factor importante en el color, olor, tiempo de vida de anaquel y algunas características texturales de las tortillas. Cuando el contenido de cal no es suficiente para darle el sabor alcalino característico de la tortilla, esta es

rechazada por los consumidores, pero si este compuesto está en exceso, la tortilla se vuelve muy astringente siendo también rechazada para su consumo.

### 3.1.3. Color

Los resultados de la diferencia en el color de las tortillas ( $\Delta E$ ) se presentan en la Tabla 6.7. El color de las tortillas no fue afectado por efecto de la contaminación; todas las tortillas estuvieron en el rango de 35.38-36.61. La concentración de cal utilizada en el proceso es determinante en el desarrollo del color de las tortillas, una mayor concentración de cal incrementa el valor de  $\Delta E$ , alejándose del color blanco, por lo tanto, las tortillas adquirieron un color amarillento.

Todos los tratamientos tuvieron la misma concentración de cal (0.5% p/p), y consecuentemente las tortillas presentaron un color amarillento, mostrado por los valores de  $\Delta E$  entre 35-40. Estos valores concuerdan con lo reportado por Méndez Albores et al. (2003) para tortillas de maíz elaboradas con el PNT. Los cambios en el color de las tortillas, son directamente atribuidos a la cantidad de cal retenida durante el proceso de nixtamalización. La cantidad de cal, afecta el color de la tortilla aunque estas sean producidas a partir de granos de maíz blanco, ya que la intensidad de color está directamente relacionada a los carotenoides, flavonoides, y sobre todo el pH. Sin embargo, el desarrollo del color durante los procesos térmicos alcalinos es más complejo, considerando que el  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  reacciona con los diferentes pigmentos de los granos de maíz e interfiere con algunas reacciones tales como la caramelización y las reacciones de Maillard (Gómez, 1988).

## 3.2. Propiedades de calidad de la tortilla

### 3.2.1. Grado de inflado

En la Tabla 6.8, se muestran las propiedades de calidad de las tortillas producidas con el PNM. Como puede observarse, el grado de inflado no presentó diferencia estadística entre los tratamientos evaluados. En general, las tortillas presentaron un valor de 1, lo cual significa que éstas presentaron un inflado completo (75-100%). Un buen inflado se obtiene al crearse 2 capas (perfectas) en la tortilla; estas capas, formadas durante el

proceso de cocción en el comal, son impermeables, las cuales retienen el vapor que ocasiona que la tortilla se infle durante el calentamiento.

En trabajos anteriores, se ha reportado que la concentración de cal puede afectar el grado de inflado de las tortillas; al respecto Figueroa et al. (1993) concluyeron que una concentración de 0.25% de cal en el proceso de elaboración de harinas instantáneas para la producción de masa y elaboración de tortillas de maíz, empleando un método alternativo de nixtamalización por extrusión, era suficiente como para obtener un buen inflado en las tortillas producidas. Aunque este valor en la concentración de cal (0.25%), fue más bajo que el usado en esta investigación (0.5%), también resultó efectivo en este parámetro de calidad, puesto que todas las tortillas presentaron un inflado completo, a pesar de que existen variaciones en los procesos de nixtamalización empleados.

Tabla 6.8. Propiedades de calidad de las tortillas obtenidas con el PNM

Nivel de Contaminación	Grado de inflado	Rolabilidad	Pérdida de peso (%)
N1 (Control)	1 a	1 a	19.50 ± 0.47 a
N2	1 a	1 a	19.48 ± 0.45 a
N3	1 a	1 a	18.99 ± 0.55 a
N4	1 a	1 a	19.42 ± 0.60 a

Valor promedio de al menos tres repeticiones ± error estándar.

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Dunnet>0.05).

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

Rolabilidad: 1= no presenta ruptura; 2= ruptura aprox. del 25%; 3= ruptura aprox. 50%; 4= ruptura aprox. 75% y 5= ruptura completa.

N= Nivel de contaminación; N1 (libre de aflatoxinas); N2 (22.46  $\eta$ g/g); N3 (69.62  $\eta$ g/g); N4 (141.48  $\eta$ g/g).

### 3.2.2. Rolabilidad

Otra de las características subjetivas que se evaluaron en las tortillas elaboradas con el proceso PNM, fue la rolabilidad. Los valores se muestran en la Tabla 6.8. Como puede observarse, este parámetro tampoco fue afectado significativamente en los niveles de contaminación evaluados, es decir, todas las tortillas presentaron un valor de 1, definido como tortillas sin ruptura, por lo tanto, todas las tortillas, se consideraron dentro de los

márgenes de calidad aceptables, en otras palabras, éstas presentaron una textura suave, lo cual permitió que fuesen enrolladas sin presentar ruptura.

### 3.2.3. Pérdida de peso

Otro de los parámetros de gran importancia en la industria de la masa y la tortilla, es la pérdida de peso que éstas sufren durante la cocción. Los valores se pueden observar en la Tabla 6.8. El rango en la pérdida de peso estuvo entre 18.99-19.50%. Al respecto Méndez-Albores et al. (2002) reportó valores de pérdida de peso cercanos al 30%, para el caso de tortillas producidas con PNE, y valores cercanos al 28% para tortillas producidas con PNT. Estas diferencias en los valores pueden deberse en gran manera a los tipos de proceso empleados, las condiciones utilizadas, y sobre todo a los tiempos y las temperaturas de cocción de las tortillas.

### 3.3. Aflatoxinas totales en tortillas

En la Tabla 6.9 se muestran los valores de contenido de aflatoxinas en las tortillas obtenidas con el PNM. Las tortillas producidas con la masa proveniente del nivel de contaminación 2, 3 y 4 (N2, N3 y N4), presentaron valores de 7.22, 13.58 y 23.18  $\eta$ /g de aflatoxinas totales, lo cual corresponde a una reducción acumulable de 68%, 80%, y 84%, respectivamente. Es bien conocido que altos contenidos de humedad favorecen la modificación de la estructura química de las aflatoxinas durante la cocción u otro proceso que involucre el uso de calor; por lo tanto, el contenido de humedad favorecerá la hidrólisis del anillo de lactona de la molécula de aflatoxina (Mann et al., 1967; Samarajewa et al., 1990).

Tabla 6.9. Aflatoxinas totales en tortilla producidas con el PNM

Nivel de Contaminación	Aflatoxinas totales en tortilla (ng/g)	Degradación (%)
N1 (Control)	ND	-
N2	7.22 ± 0.85 a	68
N3	13.58 ± 0.69 b	80
N4	23.18 ± 2.48 c	84

Valor promedio de al menos tres repeticiones ± error estándar.  
 Medias con la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes (Dunnett>0.05).  
 La concentración de aflatoxinas totales está dada en base seca.  
 N=Nivel de contaminación; N1 (libre de aflatoxinas); N2 (22.46 ng/g); N3 (69.62 ng/g); N4 (141.48 ng/g).  
 ND= No detectada (por debajo del límite de detección, 0.5 ng/g).

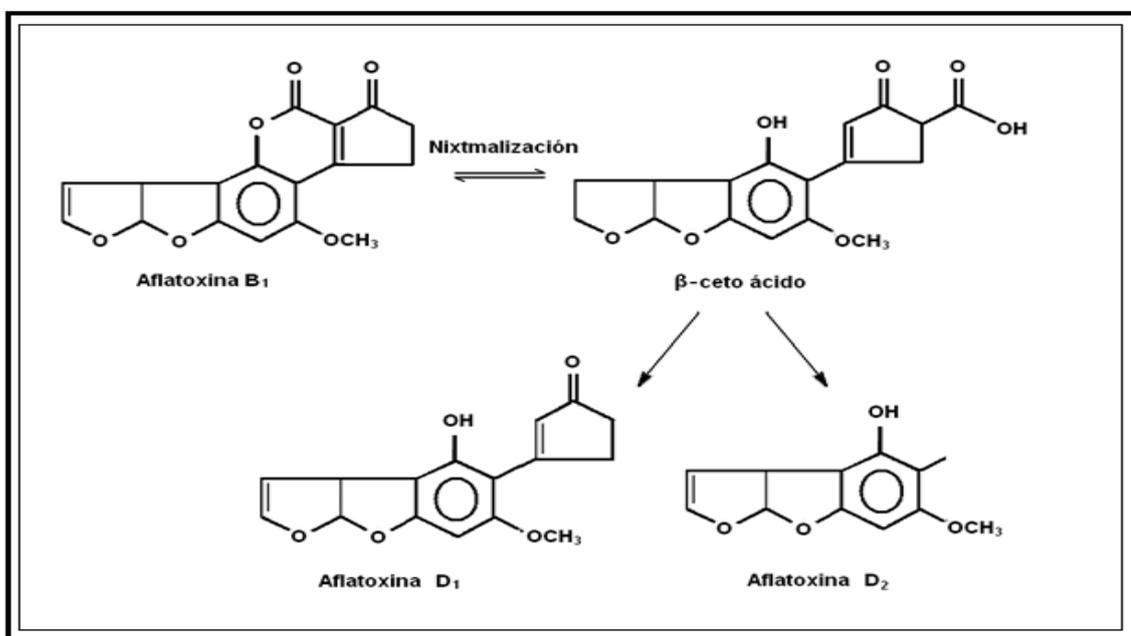
Las condiciones térmicas-alcálinas usadas en este proceso modificado (PNM) no fueron las suficientes como para degradar a las aflatoxinas en niveles "seguros", específicamente en el nivel de contaminación 3 y 4 (N3 y N4), por lo tanto un contenido residual de aflatoxinas siempre estuvo presente en estas tortillas. Las condiciones normalmente empleadas en el procesamiento de las tortillas con el uso del PNT, no son también adecuadas para destoxificar completamente el maíz contaminado para la elaboración de tortillas. Por lo consiguiente, varios autores han reportado que la nixtamalización tradicional degrada entre el 50-92% del contenido inicial de aflatoxinas en el maíz durante la producción de las tortillas (Torres et al., 2001; Elías-Orozco et al., 2002, Méndez-Albores et al., 2004a, 2004b).

En relación con las reducciones de aflatoxinas anteriormente citadas, se puede decir que la degradación de maíz contaminado con aflatoxinas varía considerablemente en función de los parámetros de nixtamalización, tales como: temperatura/tiempo de cocción, concentración de cal, tiempo reposo, así como la concentración inicial de aflatoxinas en el maíz. Es importante señalar que el contenido de humedad en la masa y la temperatura/tiempo de cocción de las tortillas, son también factores que contribuyen en mayor grado a la obtención de valores en la degradación más altos.

En el caso del PNT, algunos sólidos se desechan en el nejayote (contiene más del 60% de los polisacáridos no amiláceos), los cuales se van a al drenaje (Niño-Medina et al., 2009). Estos sólidos contienen principalmente porciones de pedicelo, pericarpio y

germen; en consecuencia, las aflatoxinas presentes en estas partes anatómicas del grano son eliminadas y se extraídas en el agua de lavado. Por lo tanto, la eliminación física de las aflatoxinas es un paso crucial para su reducción. En la presente investigación, no hubieron sólidos que se hayan perdido durante el PNM (debido a que este proceso no genera nejayote); sin embargo, la reducción en los valores de aflatoxinas fueron bastantes similares.

El primer paso en la degradación durante la nixtamalización, es la inducción de la apertura del anillo de lactona de la molécula de aflatoxina, produciendo una sal soluble en agua, incluyendo una descarboxilación (Coomes et al., 1966). Se ha observado que la fluorescencia de las aflatoxinas, atribuible al anillo de lactona, desaparece en los tratamientos térmicos-alcalinos. Sin embargo, si el tratamiento térmico-alcalino no es lo suficientemente severo, es probable que las aflatoxinas no sean modificadas de manera permanente y bajo condiciones ácidas (tal y como sucede en el estomago de los monogástricos), el anillo de lactona puede cerrarse y así convertirse a su forma original fluorescente, tal y como se observa en la Figura 6.1. Consecuentemente, la reducción en la fluorescencia no necesariamente puede implicar reducción en la toxicidad.



Fuente: Méndez-Albores et al., 2008

Figura 6.1. Mecanismo de hidrólisis alcalina propuesto para AFB1

La Tabla 6.10, muestra el contenido de aflatoxinas totales recuperadas, utilizando una extracción a pH ácido (simulando el pH estomacal) en las tortillas obtenidas con el PNM. En este trabajo, el aumento en la concentración de aflatoxinas seguido de la acidificación en los extractos de las tortillas varió del 1-3%. Estos valores de recuperación de fluorescencia son menores que los reportados por otros autores (Price y Jorgensen, 1985; Torres et al., 2001; Méndez-Albores et al., 2004b).

Tabla 6.10. Efecto del pH en la recuperación de aflatoxinas en tortillas obtenidas con el PNM

Nivel de contaminación	Aflatoxinas totales en tortilla (ng/g)	Recuperación (%)
N1 (Control)	ND	-
N2	7.38 ± 0.61 a	2
N3	13.69 ± 0.37 b	1
N4	23.92 ± 1.01 c	3

Valor promedio de al menos tres repeticiones ± error estándar.

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

La concentración de aflatoxinas totales está dada en base seca.

Extracto de aflatoxinas a pH de 3 (acidificación).

N= Nivel de contaminación; N1 (libre de aflatoxinas); N2 (22.46 ng/g); N3 (69.62 ng/g); N4 (141.48 ng/g).

ND= No detectada (por debajo del límite de detección, 0.5 ng/g).

Según estos resultados, hasta 3% de la recuperación de fluorescencia en tortillas ocurrió como consecuencia del acidificar con metanol acuoso tratado por álcali para las tortillas, respectivamente. El aumento en la concentración de las aflatoxinas después de la acidificación, muestra valores de recuperación de fluorescencia en las aflatoxinas inferiores que aquellos hechos un informe por otros investigadores (Price y Jorgensen, 1985; Torres et al., 2001; Méndez-Albores et al., 2004b). Como puede observarse en la Tabla 6.10, los valores de recuperación de aflatoxinas fueron menores a los encontrados en el caso de la masa, en los cuales se encontraron valores de hasta 7%. Estas diferencias observadas en el porcentaje de recuperación de fluorescencia de las aflatoxinas entre la masa y las tortillas, fue probablemente debido al proceso de cocción de la masa empleada para hacer tortillas, ya que el calor contribuye en gran manera a la degradación de las aflatoxinas. En general, la acidificación de los extractos de masa y tortillas, no resultó en un incremento significativo en la fluorescencia, lo que significa que

la mayoría de las moléculas de aflatoxina fueron modificadas de forma permanente, durante el proceso de nixtamalización con microondas (Tabla 6.10).

Finalmente, los resultados sugieren que al usar este nuevo proceso para elaborar tortillas, sólo un pequeño porcentaje de las aflatoxinas modificadas por el tratamiento térmico-alcálico, pueden revertir a la forma original fluorescente debido a la acidificación, obteniendo así un producto “más seguro” para el consumo humano.

## VII. CONCLUSIONES

---

El proceso de nixtamalización con microondas (PNM) con bajos niveles de contaminación con aflatoxinas en el maíz (22.46  $\eta\text{g/g}$ ), es efectivo en reducir la concentración de estos compuestos tóxicos a niveles seguros (7.22  $\eta\text{g/g}$ ) en las tortillas; considerando que la Norma Oficial Mexicana (NOM-187-SSA1/SCFI, 2002) establece un límite máximo permisible de 12  $\eta\text{g/g}$  para aflatoxinas en tortillas.

Por otra parte, al procesar maíces con niveles de contaminación tan altos como 69.62 y 141.48  $\eta\text{g/g}$  de aflatoxinas totales en el maíz, el PNM no fue efectivo para degradar a las aflatoxinas a niveles seguros en las tortillas.

Aunque en PNM, se encontró efectivo en degradar a las aflatoxinas en maíces contaminados con bajos niveles, la importancia de este proceso desarrollado en la FESC, radica en que los productos del proceso tales como la masa y las tortillas, no incrementaron la concentración de aflatoxinas por efecto de acidificar los extractos alcalinos; de esta manera, el proceso puede ofrecer un producto seguro para el consumo humano en comparación con el proceso de nixtamalización tradicional (PNT), en el cual se han reportado incrementos en la concentración de aflatoxinas de 57.2% en masa y hasta 33.9% en las tortillas, debido a la acidificación.

Las tortillas obtenidas utilizando el PNM desarrollado en UNIGRAS presentaron características funcionales, tecnológicas y de calidad similares a las de las tortillas elaboradas con el uso del PNT.

Finalmente, se recomienda el uso de este proceso alternativo de nixtamalización para la elaboración de las tortillas de maíz, siempre y cuando se lleve a cabo un control estricto en lo que se refiere a la calidad sanitaria del grano de maíz; debido a que el PNM ofrece muchas ventajas sobre el PNT, como un menor uso de agua, la no producción de efluentes contaminantes, el ahorro de tiempo, entre otras.

## VIII. RECOMENDACIONES

---

Es de suma importancia realizar otras investigaciones con el objetivo de evaluar el posible efecto que éste proceso alterno tiene sobre la toxicidad, mutagenicidad y carcinogenicidad de los subproductos provenientes de la degradación térmica-alcalina de las aflatoxinas.

Otras condiciones experimentales tales como la relación maíz-agua, contenido de  $\text{Ca(OH)}_2$ , así como el tiempo y la potencia de cocción, deberían ser evaluadas para determinar su efecto sobre los niveles de aflatoxinas, evidentemente sin comprometer la calidad de las tortillas.

## IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

---

(AACC) American Association of Cereal Chemists 2000. Approved methods. 9a ed. St. Paul, MN.: AACC.

Abbas HK, Mirocha CJ, Rosiles R, Carvajal M. 1988. Effect of tortilla preparation process on aflatoxinas B1 and B2 in corn. *Mycotoxins Research* 4(1):33-36.

(AOAC) Association of Official Analytical Chemist. 2000. Official methods of analysis of AOAC Intl. 16a ed. 5a Rev. Gaithersburg, Md.: AOAC Intl.

Arámbula-Villa G, Yáñez-Limón JM, Vorobiev-Vasilievich Y, González Hernández J. 2000. Coeficiente efectivo de difusión de agua en masas de maíz nixtamalizado por extrusión. *Agrociencia* 34(6):717-727.

Asao T, Buchi G, Abbel-Kader MM, Chang SB, Wick EL, Wogan GN. 1963. Aflatoxins B and G. *Journal of American Chemistry* 85(11):1706-1707.

Bedolla S, Rooney LW. 1984. Characterization of U.S. and Mexican instant maize flours for tortilla and snack preparation. *Cereal Foods World* 29(11):732-735.

Bedolla S. 1983. Development and characterization of instant tortilla flours from sorghum and corn by infra-red baking (micronizing) and extrusión baking. PhD dissertation. Texas A&M University: College Station, Texas.

Betina V. 1989. *Mycotoxins: Chemical, Biological and Environmental Aspects*. Elsevier. Checoslovaquia.

Bhatnagar D, Cleveland TE, Cotty PJ. 1993. Mycological aspects of aflatoxin formation. In: *The toxicology of aflatoxin: Human Health, Veterinary and Agricultural Significance*. Eaton DL and Groopman JD (eds.) Academic Press. New York, pp. 327-346. ISBN:0-12-228255-8

Bodine AB, Mertens DR. 1983. Toxicology, metabolism, and physiological effects of aflatoxin in the bovine. *Aflatoxin and *Aspergillus flavus* in corn*. Diener UL, Asquith RL, and Dickens JW (eds.) Alabama Agriculture Experimental Station, Auburn University. Alabama, pp. 46-50. ISSN: 0096-8498

Brook PJ, White EP. 1966. Fungus toxins affecting mammals. *Phytopathology* 4:171-192.

Buchi G y Rae ID. 1969. The structure and chemistry of the aflatoxins. In *Aflatoxins*. Goldblatt LA (ed.) Academic Press. New York, p. 55.

Bullerman LB. 1987. Methods of detecting micotoxins in foods and beverages. In: *Food and Beverage Micology*. 2<sup>nd</sup> ed. Beuchat LR (ed.) New York, p. 571. ISBN: 04-422-1084.

Camou-Arriola JP y Price LR. 1989. Destruction of aflatoxin and reduction of mutagenicity of naturally contaminated corn during production of a corn snack. *Journal of Food Protection* 52: 814-817.

Castegnaro M, Hunt DC, Sansone EB, Schuller PL, Siriwardana MG, Telling GM, Van-Egmond HP, Walter EA. 1981. Laboratory decontamination and destruction of aflatoxins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> in laboratory wastes. (IARC) International Agency for Research on Cancer. *Scientific publications* 37:1-59. ISBN: 92-8-321137-5

Castellanos NA. 2000. Evaluación de la presencia de aflatoxinas en insumos y productos de tortillerías de Querétaro y alternativas de descontaminación. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Querétaro. México.

(CIMMYT) Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. Consulta web, Marzo 2011: [http://w4.siap.gob.mx/sispro/IndModelos/SP\\_AG/Maiz/Descripci%C3%B3n.pdf](http://w4.siap.gob.mx/sispro/IndModelos/SP_AG/Maiz/Descripci%C3%B3n.pdf)

Contreras-Jiménez BL. 2009. Caracterización de harina obtenida por calentamiento óhmico. Tesis de Maestría. Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada del IPN.

Coomes TJ, Crowther PC, Fewell AJ, Francis BJ. 1966. Experimental detoxification of groundnut meals containing aflatoxin. *Nature* 209:406-407.

De Arriola MC, De Porres E, De Cabrera S, De Zepeda M, Rolz C. 1988. Aflatoxin fate during alkaline cooking of corn for tortilla preparation. *Journal Agricultural and Food Chemistry* 36:530-553.

Diener UL, Davis ND. 1966. Aflatoxin production by isolates of *Aspergillus flavus*. *Phytopathology* 56:1390-1393.

Diener UL, Davis ND. 1977. Aflatoxin formation in peanuts by *Aspergillus flavus*. Alabama Agricultural Experimental Station. Bulletin 493. Auburn, Alabama.

Elías-Orozco R, Castellanos-Nava A, Gaytán-Martínez M, Figueroa-Cárdenas JD, Loarca-Piña G. 2002. Comparison of nixtamalization and extrusion process for a reduction in aflatoxina content. *Food Additives and Contaminants* 19:878-885.

Ellis WO, Smith JP, Simpson BK. 1991. Aflatoxins in food: Occurrence, Biosynthesis, Effects on Organisms, Detection and Methods of Control. *Critical Reviews in food Science and Nutrition*, 30(3):403-439.

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

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

Feibelman TP, Cotty PJ, Doster MA, Michailides TJ. 1998. A morphologically distinct strain of *Aspergillus nomius*. *Mycologia* 90(4):618-623.

Fernández A, Verde MT, Gascón M, Ramos JJ, Gómez J. 1994. Aflatoxins and its metabolites in tissues from laying hens and broiler chickens fed a contaminated diet. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 65:407-414.

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

Figueroa-Cárdenas JD, Acero-Godínez MG, Vasco-Méndez NL, Lozano-Guzmán A, Flores-Acosta LM, González-Hernández J. 2001. Fortification and evaluation of the nixtamal tortillas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 51:293-302.

Flores-Farías R, Martínez-Bustos F, Salinas-Moreno Y, Kil-Chang Y, González-Hernández J, Ríos E. 2000. Physicochemical and rheological characteristics of commercial nixtamalized Mexican maize flours for tortillas. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80:657-664.

Gaytán-Martínez M, Morales SE, Figueroa-Cárdenas JDC, 2000. Aplicación de un proceso de cocimiento dieléctrico en la elaboración de harinas instantáneas de maíz amarilla para preparación de frituras de masa y tortilla. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 50:366-373.

Gómez MH. 1988. Physicochemical characteristics of fresh masa from alkaline process corn and sorghum and corn dry masa flour. PhD dissertation. Texas A&M University, College Station p. 105.

Gómez MH, McDonough CM, Rooney LW, Waniska RD. 1989. Changes in corn and sorghum during nixtamalization and tortilla baking. *Journal of Food Science* 53:330-336.

Gómez MH, Lee JK, McDonough CM, Waniska RD, Rooney LW. 1992. Corn starch changes during tortilla and tortilla chip processing. *Cereal Chemistry* 69:275-279.

Gregory FJ, Manley D. 1981. HPLC determination of aflatoxins in animal tissues and products. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 64(1):144-151.

Guthrie LD. 1979. Effects of aflatoxin in corn on production and reproduction in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 62:134-135.

Guzmán de Peña D, Trudel L, Wogan GN. 1995. Corn nixtamalización and the fate of radiolabelled aflatoxin B1 in the tortilla making process. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 55(6):858-864.

Hansen JT. 1990. Affinity column cleanup and direct fluorescence measurement of aflatoxin M1 in raw milk. *Journal of Food Protection* 53:75-77.

Hsieh DPH, Wong JJ. 1993. Pharmacokinetics and excretion of aflatoxins. In: *The toxicology of aflatoxins: Human Health, Veterinary and Agricultural Significance*. Eaton DL, Groopman JD (eds.) Academic Press. New York, pp. 73-99. ISBN: 0-12-228255-8

Inglett GE. 1970. *Corn: culture, processing, products*. AVI Publishing Company Inc. (ed.) London, England. ISBN: 0870550888

(ISTA) International Seed Testing Association. 1996. International rules for seed testing. *Seed Science and Technology* 24:1-335.

Jackson DS, Rooney LW, Kunze O, Whaniska RD. 1988. Alkaline processing properties of stress-cracked and broken corn (*Zea Mays L.*). *Cereal Chemistry* 65:113-117.

Keyl AC, Booth. 1971. Aflatoxin effects in livestock. *Journal of American Oil Chemistry Society* 48:599-604.

Krishna SB, Sinha KK. 1991. Aflatoxins: their biological effects and ecological significance. In: *Mycotoxins in Ecological Systems*. Bathnagar D, Lillehoj EB, Arora DK (eds.) Marcel Dekker. New York, pp. 59-85.

Lacey J. 1989. Prevention of mold growth and mycotoxin production through control of environmental factors. In: *Mycotoxins and Phycotoxins, Bioactive Molecules*. Natori S, Hashimoto K, Ueno Y (eds.) Elsevier Science Publishers BV. Amsterdam, Netherlands, pp. 161-169.

Lillehoj EB. 1983. Effect of environmental and cultural factors in aflatoxin contamination of developing corn kernels. In: *Aflatoxin and *Aspergillus flavus* in corn*. Southern Cooperative Series Bulletin 279 for Southern Regional Project S-132; Diener UL, Asquith RL, Dickens JW, (eds.) Auburn University. Opelika, Alabama. ISSN: 0096-8498

Lillehoj EB. 1991. Aflatoxin: genetic mobilization agent. In: *Mycotoxins in Ecological Systems*. Bathnagar D, Lillehoj EB, Arora DK (eds.) Marcel Dekker. New York, pp. 1-22.

Mann GE, Codifer LP, Dollear FG. 1967. Effect of heat on aflatoxins in oilseed meals. *Journal Agricultural and Food Chemistry* 15:1090-1092.

Martínez-Bustos F, Martínez-Flores HE, San Martín-Martínez E, Sánchez-Sinencio F, Chang YK, Barrera-Arellano D, Ríos E. 2001. Effect of the components of maize on the quality of masa and tortillas during the traditional nixtamalisation process. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81:1455-1462.

Martínez-Herrera ML, Lechance PA. 1979. Corn (*Zea mays L.*) kernel hardness as an index of the alkaline cooking time for tortilla preparation. *Journal of Food Science* 44:377-380.

Méndez-Albores A. 2002. Evaluación de la degradación de aflatoxinas en los procesos de nixtamalización. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Querétaro. Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos. Querétaro, México.

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

Méndez-Albores A, Villa GA, Del Río-García JC, Martínez EM. 2004b. Aflatoxin detoxification achieved with Mexican traditional nixtamalization process (MTNP) is reversible. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84:1611-1614.

Méndez-Albores JA, Arámbula VG, Vázquez BME, Mendoza EM, Preciado ORE, Moreno-Martínez E. 2003. Effect of high moisture maize storage on tortilla quality. *Journal of Food Science* 68:1878-1881.

Méndez-Albores A, Nicolás-Vázquez I, Miranda-Ruvalcaba M, Moreno-Martínez E. 2008. Mass Spectrometry/Mass Spectrometry study on the degradation of B-aflatoxins in maize with aqueous citric acid. *American Journal of Agricultural and Biological Science*, 3(2): 482-489.

Moreno-Martínez E. 1984. Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. 1ª ed. Instituto de Biología, UNAM, pp. 383.

Moreno ME, CB Benavides, J Ramírez. 1988. The influence of hermetic storage on the behavior of maize seed germination. *Seed Science and Technology* 16:427-434.

Moreno ME, MV Badillo, FF Parra. 2000. Use of propionic acid salts to inhibit aflatoxin production in stored grains of maize. *Agrociencia* 34:477-484.

Mudgett RE. 1986. Microwave properties and heating characteristics of foods. *Food Technology* 40:84-93.

Niño-Medina G, Carvajal-Millán E, Lizardi J, Rascon-Chu A, Marquez- Escalante JA, Gardea G, Martínez-López AL, Guerrero V. 2009. Maize processing waste water arabinoxylans: Gelling capability and cross-linking content. *Elsevier* 115: 1286-1290.

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

Norma Oficial Mexicana NOM-187-SSA1/SCFI. 2002. Productos y Servicios. Masa, tortillas, tostadas y harinas preparadas para su elaboración y establecimientos donde se procesan. Especificaciones sanitarias. Información comercial. Métodos de prueba. Diario Oficial de la Federación.

Organización Panamericana de la Salud. 1983. Criterios de salud ambiental. Micotoxinas. Publicación científica No. 453: 69-82.

Paredes-López O, Saharópulus-Paredes ME. 1982. Scanning electron microscopy studies of limed corn kernels for tortilla making. *International Journal of Food Science and Technology* 17(6):687-693.

Parker AW, Melnick D. 1966. Absence of aflatoxin refined vegetable oils. *Journal of the American oil Chemist's Society* 43:635-638.

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

Peña DS, Durán MC. 1990. Efecto tóxico de las aflatoxinas en la dieta. *Ciencia y Desarrollo* 16(94):61-72.

Pérez-Flores GC, Moreno-Martínez E, Méndez-Albores JA. 2011. Effect of microwave heating during alkaline-cooking of aflatoxin contaminated maize. *Journal of Food Science* 76:48-52.

Plasencia J. 2004. Aflatoxins in maize: a Mexican perspective. *Journal of Toxicology* 23:155-177.

Price RL, Jorgensen KV. 1985. Effects of processing on aflatoxin levels and on mutagenic potential of tortillas made from naturally contaminated corn. *Journal of Food Science* 50: 347-349, 357.

Ramírez-Wong B, Sweat VE, Torres PL, Rooney LW. 1993. Development of two instrumental methods for corn masa texture evaluation. *Cereal Chemistry* 70:286-290.

Reyes HS, Reyes CR, López FR. 1992. Estudio de texturógenos primarios en nixtamal, masa y tortilla como base para determinación de calidad tortillera del maíz. Reporte interno. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. México, D.F.

Reyes CP. 1990. El maíz y su cultivo. edit. AGT Editor S.A., 1a ed. México, D.F.

Reynoso-Camacho R, Ríos-Ugalde MC, Torres-Pacheco I, Acosta-Gallegos JA, Palomino-Salinas AC, Ramos-Gómez M, González-Jasso E y Guzmán-Maldonado SH. 2007. El consumo de frijol común (*Phaseolus vulgaris L.*) y su efecto sobre el cáncer de colon en ratas sprague-dawley. *Agricultura Técnica en México* 32(1): 43-52.

Robles RR, Murray ED, Paredes-López O. 1988. Physicochemical changes of maize starch during the lime-heat treatment for tortilla making. *International Journal of Food Science and Technology* 23:91-98.

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

Rooney LW, Serna-Saldívar SO. 1987. Foods uses of Whole Corn and Dry-Milled Fraction. In: *Corn: chemistry and technology*. Watson SA, Ramstad PE (eds.) American Association of Cereal Chemists. Saint Paul, Minnesota, pp. 399-429.

Rosado JL, Díaz M, Rosas A, Griffit I, García O. 2005. Calcium absorption from corn tortilla is relatively high and is dependent upon calcium content and liming in Mexican women. *The Journal of Nutrition* 135: 2578-2581.

Salmerón-Alcocer A, Rodríguez-Mendoza N, Pineda-Santiago V, Cristiani-Urbina E, Juárez-Ramírez C, Ruíz-Ordaz N, Galíndez-Mayer J. 2003. Aerobic treatment of maize-processing wastewater (nejayote) in single-stream multi-stage reactor. *Journal Environmental Engineering Science* 2:401-406

Samarajewa U, Sen AC, Cohen MD, Wei CI. 1990. Detoxification of aflatoxins in foods and feeds by physical and chemical methods. *Journal of Food Protection* 53:489–501.

Sargent K, Sheidan A, Kelly JO, Carnaghan RBA. 1961. Toxicity associated with certain samples of ground nuts. *Nature* 192:1096–1097.

SAS Institute. 1998. *Introductory guide for personal computers*. 6.12 ed. Cary, N.C.: SAS Institute.

Sauer DB, Tuite J. 1987. Conditions that affect growth of *Aspergillus flavus* and production of aflatoxin in stored maize. In: *Aflatoxin in maize. A proceedings of*

workshop. CIMMYT/ USAID/ UNDP. Zuber MS, Lillehoj EB, Renfro BL (eds.) México, D. F., pp. 41-50. ISBN: 968-6127-12

(SAGARPA) Secretaría de Agricultura Ganadería y Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Consulta web, Marzo 2011: <http://www.sagarpa.gob.mx/saladeprensa/boletines2/Paginas/2010B478.aspx>

Serna-Saldívar SO, Cannet R, Vargas J, Gonzalez M, Bedolla S, Medina C. 1988. Effect of soybean and sesame addition on the nutritional value of maize and decorticated sorghum tortillas produced by extrusion cooking. *Cereal Chemistry* 64:44-48.

Serna-Saldívar SO, Gómez MH, Rooney LW, 1990. Technology, chemistry and nutritional value of alkaline cooked corn products. In: *Advances in Cereal Science and Technology*. Pomeranz Y (ed.) vol. X. American Association of Cereal Chemists, Saint Paul, Minnesota, pp. 243-307.

Smith EE, Phillips TD, Ellis JA, Harvey RB, Kubena LF, Thompson J, Newton G. 1994. Dietary hydrated sodium calcium aluminosilicate reduction of aflatoxinas M1 residue in dairy goat milk and effects on milk production and components. *Journal of Animal Science* 72: 677-682

Torres PI, Guzmán-Ortiz M, Ramírez-Wong B. 2001. Revising the role of pH and thermal treatments in aflatoxin content reduction during the tortilla and deep frying process. *Journal Agricultural and Food Chemistry* 49:2825-2829.

Tung HT, Cook FW, Wyatt RD, Hamilton PB. 1975. The anemia caused by aflatoxin. *Poultry Science* 54:1962-1969.

Ulloa-Sosa M, Schroeder HW. 1969. Note on aflatoxin decomposition in the process of making tortillas from corn. *Cereal Chemistry* 46:397-400.

Ulloa M, Herrera T. 1970. Persistencia de las aflatoxinas durante la fermentación del pozol. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 12:19-25.

Vaqueiro MC, Reyes P. 1986. Process for producing nixtamalized corn flour. Patent No. 4594260. USA.

Velazco-Martínez M, Angulo O, Vázquez-Couturier DL, Arroyo-Lara A, Monroy-Rivera JA. 1997. Effect of dried solids of nejayote on boiler growth. *Poultry Science* 76:1531-4.

Weidenbörner M. 2007. Mycotoxins in Feedstuffs. Springer-Verlag, New York Inc.

Wilson DM, Jay E. 1975. Influence of modified atmosphere storage on aflatoxin production in high-moisture corn. *Applied Microbiology* 29:224-228.

Wogan GE, Newberne PM. 1967. Dose-response characteristics of aflatoxin B1 carcinogenesis in the rat. *Cancer Research* 27:543-548.

Wood EG. 1993. Micotoxinas. *Porcicultura Mexicana*, pp. 26-29.

## X. ANEXO

---

Se incluye la publicación en la revista Journal of Food Science, producto de una parte del trabajo experimental aquí realizado.

# Effect of Microwave Heating during Alkaline-Cooking of Aflatoxin Contaminated Maize

G.C. Pérez-Flores, E. Moreno-Martínez, and A. Méndez-Albores

**Abstract:** To evaluate the effectiveness of maize detoxification achieved with a modified tortilla-making process (MTMP), maize contaminated with aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) and aflatoxin B<sub>2</sub> (AFB<sub>2</sub>) at levels of 22.46, 69.62, and 141.48 ng/g (AFB<sub>1</sub> + AFB<sub>2</sub>) was processed into tortillas. Aflatoxin content was determined according to the 991.31 AOAC official method. Based on the results obtained with spiked samples (0.78 to 25 ng/g), the mean recovery was 92%, with a standard error of 1.2, and a coefficient variation value of 4.4%. The MTMP caused 68, 80, and an 84% decrease in aflatoxin content, respectively. Extract acidification (as occurs during digestion) prior to mycotoxin quantification caused some reformation of the aflatoxin structure in tortillas (up to 3%). According to these results, the MTMP seems to be safe for decontamination since a low percentage of the initial aflatoxin concentration can be reverted to the original fluorescent form upon acidification.

**Keywords:** aflatoxins, *Aspergillus flavus*, maize, modified nixtamalization

**Practical Application:** The potential presence of aflatoxins in maize destined for human consumption is a serious problem to the Mexican food supply, as these toxic compounds may persist during the traditional alkaline-process for tortilla elaboration. Consequently, new detoxification procedures are needed that eliminate or at least minimize the aflatoxin risk, through lowering aflatoxin concentration in maize-based products. Under these considerations, the use of MTMP is recommended, since it has definite advantages including non-production of wastewater and reduced energy/time consumption.

## Introduction

Grains such as maize are invaded by fungi during their development in the field, as well as during their transport and storage. Therefore, one of the factors affecting the quality of maize-based food is mycotoxin contamination caused by the grain invasion of certain species of fungi, among them *Aspergillus flavus* Link. *A. flavus* is responsible for the production of a series of highly toxic substances, from which they derived their name, aflatoxins (Sargent and others 1961).

In Mexico, maize is primarily consumed as tortillas, with a per capita consumption of about 120 kg/y (Plasencia 2004); which are traditionally made using the alkaline cooking process called nixtamalization. The traditional nixtamalization process (TNP) consists of the cooking of the grain in abundant water (2 to 3 L of water/kg of maize processed), with 1% to 3% Ca(OH)<sub>2</sub> at temperatures near boiling, for 35 to 70 min, with a steeping period of 8 to 16 h. After the steeping, the lime cooking solution (nejayote) is decanted, and the grain is thoroughly washed to leave the grain ready for milling to obtain the masa (maize dough) for making the tortillas. The TNP, though centuries old, is still used

without modification. While this process implemented on a small scale did not present serious problems, it has become the cause of ecological problems on a grand scale due to the generation of large quantities of washing water contaminated with the lime used in the process, a highly polluting effluent with a high content of organic matter and high pH, making degradation difficult.

In Mexico, the estimated amount of nejayote generated is about 14.4 million m<sup>3</sup>/y. The tortilla is mostly elaborated by small processors discarding the nejayote into the sewage, whereas dry masa factories almost always treat the nejayote aerobically/anaerobically to reduce the biochemical oxygen demand (BOD) and the chemical oxygen demand (COD). Thus, nejayote is one of the most difficult wastewater to treat because it has a high pH (10 to 14), contains organic soluble and insoluble solids (approximately 5%), leftover lime (80% of the lime originally used during the nixtamalization process), and a BOD and COD of about 2.7 to 8.1 g O<sub>2</sub>/L and 10 to 30 g/L, respectively (Jackson and others 1988; Pedroza-Islas and Durán de Bazúa 1990; Velasco-Martínez and others 1997; Salmerón-Alcoer and others 2003). The chemical, physical, and biological aspects of water quality are interrelated and must be considered together. For example, if effluent with high BOD levels is discharged into a stream or river, it will accelerate bacterial growth and consume the oxygen, also if the organics are not stabilized in the treatment process, they will deplete dissolved oxygen from the receiving water; this oxygen depletion can result in damage to the aquatic ecosystem. On the other hand, the pH of water affects the solubility of many nutritive chemicals; therefore,

MS 20100733 Submitted 6/29/2010, Accepted 11/4/2010. Authors are with UNAM-FESC, Campus 4, UNIGRAS, Unidad de Investigación Multidisciplinaria, Cuautlilán Izcalli, C. P. 54714, México. Direct inquiries to author Méndez-Albores (E-mail: albores@unam.mx).