

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

Programa de Posgrado en Alimentos del Centro de la República (PROPAC)

Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

**EFFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE SALES DE CALCIO EN LA  
GELATINIZACIÓN DEL ALMIDÓN DURANTE EL PROCESO DE  
NIXTAMALIZACIÓN ECOLÓGICO Y TRADICIONAL**

**TESIS**

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

**Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos**

**Presenta:**

**DAVID SANTIAGO RAMOS**

Santiago de Querétaro, Querétaro, Septiembre de 2014



**Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Química  
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos**

EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE SALES DE CALCIO EN LA  
GELATINIZACIÓN DEL ALMIDÓN DURANTE EL PROCESO DE  
NIXTAMALIZACIÓN ECOLÓGICO Y TRADICIONAL

**Tesis**

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de  
Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos

**Presenta:**

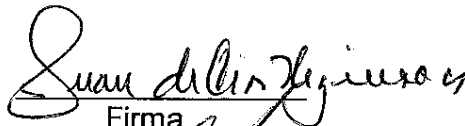
David Santiago Ramos

Dirigido por:

Dr. Juan de Dios Figueroa Cárdenas

SINODALES

Dr. Juan de Dios Figueroa Cárdenas  
Presidente

  
Firma

Dra. Rosalía Reynoso Camacho  
Secretario

  
Firma

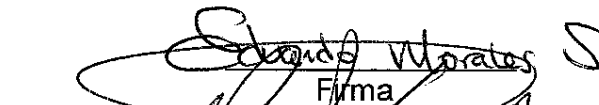
Dra. Minerva Ramos Gómez  
Vocal

  
Firma


Dra. Marcela Gaytán Martínez  
Suplente

  
Firma

Dr. Eduardo Morales Sánchez  
Suplente

  
Firma

  
M.S.P. Sergio Pacheco Hernández  
Director de la Facultad

  
Dr. Irineo Torres Pacheco  
Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario  
Querétaro, Qro.  
Septiembre, 2014  
México

## RESUMEN

El proceso ecológico de nixtamalización consiste en el uso de sales de calcio diferentes del hidróxido de calcio, que se utiliza en el proceso tradicional, para la obtención de harinas, masa fresca y tortillas de maíz integrales. El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la concentración de cal  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  y sales de calcio ( $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{CaSO}_4$ ) en las propiedades térmicas y reológicas del almidón para entender los fenómenos que se llevan a cabo en el proceso ecológico de nixtamalización y cómo influyen en la calidad de las harinas y las tortillas elaboradas mediante esos procesos. Las propiedades térmicas y reológicas del almidón de maíz cambiaron durante el proceso de nixtamalización por tres causas: el proceso de templado, el tipo de sal y la concentración. En todos los tratamientos, las propiedades térmicas del almidón del nixtamal aumentaron debido al proceso de templado; mientras que el tipo de compuesto aumentaron las propiedades térmicas y disminuyeron las propiedades reológicas en el orden:  $\text{CaCl}_2 > \text{CaSO}_4 > \text{Ca}(\text{OH})_2 > \text{CaCO}_3$ . Este comportamiento se debió a la disociación de cada sal o la cal en el agua. El contenido de almidón resistente (AR) aumentó a través del proceso de producción de la tortilla. Se encontró que el incremento del AR se debió principalmente a la formación de RS5 (complejo V-amilosa-lípido). En general, las tortillas del proceso de nixtamalización ecológica dieron valores más altos de proteína, lípidos, fibra dietética total, fibra insoluble, fibra soluble y almidón resistente en comparación con las tortillas del proceso de nixtamalización tradicional y de harina comercial. La digestibilidad del almidón de las tortillas medido en función del índice glucémico (IG) permitió identificar a las tortillas de harina comercial como de alto IG, las tortillas de 0.4 % de  $\text{CaCO}_3$  y 0.6 %  $\text{CaSO}_4$  de IG medio (IG 50-70) y las tortillas de 0.6 %  $\text{CaCl}_2$  de IG bajo. El proceso de nixtamalización ecológico causó diferencias significativas en las propiedades del almidón y la calidad y las propiedades nutricionales de las tortillas.

**(Palabras clave:** almidón, nixtamalización, proceso ecológico, sales de calcio, tortillas)

## SUMMARY

Ecological nixtamalization process is a process that involves the use of calcium salts, different of calcium hydroxide which is used in the traditional process, for producing whole flour, dough and fresh tortillas. The aim of this study was to determine the effect of the concentration of lime  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  and calcium salts ( $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{CaCO}_3$ , and  $\text{CaSO}_4$ ) in thermal and rheological properties of starch to understand the phenomena that take place in the ecological nixtamalization salts and traditional nixtamalization with lime and how they influence the quality of flour and tortillas made by these processes. Thermal and rheological properties of maize starch changed during the nixtamalization process for three reasons: annealing, salt type and concentration. In all treatments, the thermal properties ( $T_0$ ,  $T_P$ ,  $T_f$ ) of nixtamal starch increased due to the annealing process; while the type of compound increased thermal properties and decreased rheological properties in the order:  $\text{CaCl}_2 > \text{CaSO}_4 > \text{Ca}(\text{OH})_2 > \text{CaCO}_3$ . This behavior was due to the dissociation of each salt and lime in the water. The content of resistant starch (RS) increased through the tortilla production process. It was found that the increase was mainly due to formation of RS5 (V-amylose-lipid complex). In general, tortillas from ecological nixtamalization process gave higher values of protein, fat, total dietary fiber, insoluble fiber, soluble fiber and resistant starch compared to tortillas from traditional nixtamalization process and commercial flour. Starch digestibility of tortillas measured by the glycemic index (GI) identified a commercial flour tortillas as high GI tortillas and tortillas from 0.4 %  $\text{CaCO}_3$  and 0.6 %  $\text{CaSO}_4$  as medium GI (GI 50-70), and tortillas from 0.6 %  $\text{CaCl}_2$  as low GI. The ecological nixtamalización process caused significant differences in starch properties and the quality and nutritional properties of tortillas.

**(Key words:** calcium salts, ecological process, nixtamalization, starch, tortillas)

Con respeto y cariño dedico este logro a las dos personas que más quiero en esta vida

**A mi Madre (Athali Santiago Ramos)**

No estaré triste porque te fuiste, me alegraré al recordar que me dejaste la mejor herencia:  
mi educación

Gracias por la vida y la confianza que depositaste en mí

**A Hugo S. Martínez Vázquez**

Gracias por tu amistad y apoyo incondicional  
Porque si la vida me otorgara un deseo, desearía volver a conocerte

## **AGRADECIMIENTOS**

A DIOS porque siempre escuchas mis plegarias y has iluminado mi camino cuando más oscuro se ha puesto.

Al Dr. Juan de Dios Figueroa Cárdenas, por la acertada dirección de esta tesis, por su confianza, comprensión, apoyo y sugerencias para llevar a buen fin toda la investigación.

Al Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV)-Unidad Querétaro por todas las facilidades otorgadas para la realización de este trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo financiero para la realización de mis estudios de Maestría.

A la Dra. Rosalía Reynoso Camacho, Dra. Minerva Ramos Gómez, Dra. Marcela Gaytán Martínez y Dr. Eduardo Morales Sánchez por la revisión y observaciones al presente documento, y por formar parte del jurado examinador.

Al personal del laboratorio de materiales orgánicos y propiedades fisicoquímicas del CINVESTAV-Unidad Querétaro: M. T. José Juan Veles Medina y M. C. Verónica Flores Casamayor, por su apoyo técnico durante la fase experimental de esta tesis.

## ÍNDICE

<b>RESUMEN</b> .....	<b>ii</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>iii</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>v</b>
<b>ÍNDICE</b> .....	<b>vi</b>
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b> .....	<b>ix</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>x</b>
<b>I.- INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>II.- REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	<b>3</b>
2.1 Maíz.....	3
2.1.1 Estructura y composición química del grano de maíz .....	3
2.1.2 Producción y consumo .....	4
2.2 Nixtamalización .....	5
2.2.1 Proceso clásico de nixtamalización.....	6
2.2.2 Proceso tradicional de nixtamalización .....	7
2.2.3 Procesos alternativos de nixtamalización.....	7
2.2.4 Proceso ecológico de nixtamalización.....	8
2.2.5 Efecto de la nixtamalización tradicional en el grano de maíz y sus productos .....	9
2.2.5.1 Cambios en el almidón.....	9
2.2.5.2 Cambios en las proteínas.....	12
2.2.5.3 Cambios en los lípidos .....	13
2.2.5.4 Cambios en las vitaminas .....	13
2.2.5.5 Cambios en los minerales .....	14
2.2.6 Efecto de la nixtamalización ecológica en el grano de maíz y sus productos .....	15
2.3 Almidón .....	17
2.3.1 Estructura y composición química del almidón .....	19
2.3.2 Propiedades del almidón.....	22
2.3.2.1 Gelatinización.....	23

2.3.2.2 Retrogradación.....	24
2.3.3 Efecto de las sales de calcio en las propiedades del almidón .....	24
2.3.4 Digestibilidad del almidón.....	27
<b>IV. OBJETIVOS .....</b>	<b>30</b>
4.1 Objetivo general .....	30
4.2 Objetivos específicos .....	30
<b>V. METODOLOGÍA.....</b>	<b>31</b>
5.1 Materiales.....	31
5.2 Estrategia experimental.....	31
5.3 Preparación de muestras .....	31
5.3.1 Proceso de nixtamalización.....	32
5.3.1.1 Proceso tradicional de nixtamalization .....	32
5.3.1.2 Proceso ecológico de nixtamalización.....	32
5.3.2 Preparación de harinas nixtamalizadas.....	32
5.3.3 Elaboración de las tortillas .....	33
5.4 Evaluación de parámetros del proceso de nixtamalización y análisis del nixtamal.....	33
5.4.1 pH del nejayote y de la solución de cocción.....	33
5.4.2 Pérdida de materia seca .....	33
5.4.3 Humedad de nixtamal .....	34
5.4.4 Propiedades reológicas (Perfil de viscosidad).....	34
5.4.5 Propiedades térmicas.....	34
5.5 Evaluación de harinas nixtamalizadas .....	35
5.5.1 Propiedades térmicas.....	35
5.5.2 Perfil de viscosidad .....	35
5.6 Evaluación de tortillas .....	35
5.6.1 Propiedades térmicas.....	35
5.6.2 Perfil de viscosidad .....	35
5.7 Estudio de la formación de almidón resistente y la digestibilidad de las tortillas.....	36
5.7.1 Almidón total, almidón resistente y almidón disponible .....	36



5.7.2 Composición química de las tortillas .....	36
5.7.3 Análisis de difracción de rayos X .....	36
5.7.4 Índice glucémico <i>In vivo</i> .....	37
5.8 Diseño experimental y análisis estadístico .....	38
<b>VI. RESULTADOS Y DISCUSIONES .....</b>	<b>39</b>
6.1 Parámetros del proceso de nixtamalización .....	39
6.1.1 pH del nejayote y solución de cocimiento .....	39
6.1.2 Pérdida de materia seca .....	40
6.1.3 Humedad del nixtamal.....	43
6.2 Propiedades reológicas y térmicas del nixtamal .....	45
6.2.1 Propiedades reológicas del nixtamal.....	45
6.2.2 Propiedades térmicas del nixtamal .....	51
6.3 Cambios en el almidón y digestibilidad de las tortillas .....	57
6.3.1 Formación de almidón resistente .....	57
6.3.2 Difracción de Rayos X.....	64
6.3.3 Composición química de las tortillas .....	65
6.3.4 Contenido de almidón y digestibilidad de las tortillas .....	68
<b>VII. CONCLUSIONES .....</b>	<b>73</b>
<b>VIII. REFERENCIAS .....</b>	<b>74</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Composición química promedio del grano entero de maíz y sus partes. ....	4
2. Composición química del maíz entero y tortillas elaboradas con diferentes procesos.....	16
3. Características físicas y químicas de los almidones. ....	18
4. Propiedades reológicas del nixtamal obtenido por el proceso tradicional de nixtamalización con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ .....	46
5. Propiedades reológicas del nixtamal obtenido por el proceso ecológico de nixtamalización con $\text{CaCO}_3$ .....	47
6. Propiedades reológicas del nixtamal obtenido por el proceso ecológico de nixtamalización con $\text{CaSO}_4$ .....	47
7. Propiedades reológicas del nixtamal obtenido por el proceso ecológico de nixtamalización con $\text{CaCl}_2$ .....	48
8. Temperaturas de transición, entalpía de retrogradación y grado de gelatinización de tortillas del proceso tradicional y ecológico de nixtamalización	63
9. Composición química de tortillas de tratamientos seleccionados .....	65
10. Almidón total, almidón disponible, almidón resistente, e índice glucémico de tratamientos seleccionados.....	68

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
1. Estructura del grano de maíz .....	3
2. Asociación entre el almidón y el agua.....	11
3. Interacción de iones de Ca con moléculas del almidón que pueden dar origen a entrecruzamientos.....	11
4. Micrografías de la sección transversal del grano de maíz.....	15
5. Microscopía electrónica de barrido de los almidones de maíz, cebada, mango y plátano .....	18
6. Estructura química de la amilosa. ....	19
7. Estructura química de la amilopectina. ....	20
8. Los niveles de organización del almidón.....	21
9. Gelatinización del almidón. ....	23
10. Temperatura de gelatinización del almidón de maíz a diferentes concentraciones de LiCl, NaCl, KCl, RbCl y CaCl <sub>2</sub> .....	26
11. Estrategia experimental.....	31
12. pH del nejayote y solución de cocimiento del proceso de nixtamalización. ....	39
13. Pérdida de materia seca por el proceso de nixtamalización. ....	41
14. Contenido de humedad en nixtamal.....	44
15. Termogramas de maíz nativo y nixtamal a diferentes concentraciones de sales de calcio .....	52
16. Temperatura de inicio, temperatura pico, y entalpía de gelatinización del almidón de nixtamal a diferentes concentraciones de sales de calcio .....	54
17. Contenido de almidón resistente y grado de gelatinización en productos del proceso de nixtamalización ecológica con 0.6% de CaCl <sub>2</sub> .....	57
18. Patrón de difracción de rayos X de almidón de maíz nativo, nixtamal, harina nixtamalizada y tortillas. ....	58
19. Termogramas de almidón de maíz nativo, nixtamal, harina nixtamalizada y tortilla a diferentes concentraciones de sales de calcio y de cal .....	59
20. Perfil viscoamilográfico de tortillas .....	66

21. Respuesta glucémica en sangre de ocho voluntarios sanos después del consumo de tortillas ..... 70

## I.- INTRODUCCIÓN

El proceso de nixtamalización para la elaboración de masa para tortillas es uno de los grandes logros de las culturas mesoamericanas, ya que este proceso favorece la biodisposición de todos los nutrientes del maíz especialmente del calcio, aminoácidos y la niacina. Este proceso o tratamiento térmico alcalino al cual se somete el maíz da como producto central la masa, la cual, luego se transforma en diversos productos entre los cuales la tortilla es el producto principal. La tortilla es el segundo producto más importante en la canasta básica de consumo en México, y se usa en la preparación de una gran cantidad de alimentos tradicionales mexicanos. El consumo diario por persona de tortilla en las zonas rurales es de 217.9 gramos (~ 7 tortillas) mientras que en las zonas urbanas es de 155.4 gramos (~ 5 tortillas), lo que equivale a 6.9 millones de toneladas. Lo anterior refleja la importancia que tiene este producto en la alimentación de la población del país y particularmente en la de menores ingresos.

A pesar de lo innegables beneficios que trae consigo el proceso de nixtamalización, existen algunos problemas, que por el contexto social, económico y medioambiental actual, es necesario resolver, entre ellos: eliminación de contaminación de efluentes por desecho del nejayote, reducción de tiempos de procesamiento, mejoramiento de la calidad nutricional y sensorial de la tortilla, reducción en el consumo de agua, reducción de gastos de energía de procesamiento y aumento de rendimiento de los productos, para lo cual se han desarrollado varios procesos alternativos, menos contaminantes y más eficientes.

Uno de los procesos más promisorios y que no requiere un cambio significativo en las condiciones de procesamiento y equipo utilizados en la industria de la masa y la tortilla, es el proceso de nixtamalización ecológico que consiste en el uso de sales como sulfato de calcio u otras sales o ácidos débiles diferentes de la cal para la obtención de harinas integrales, masa fresca integral y tortillas integrales de maíz.

Con este proceso se evita la contaminación del líquido de cocción o nejayote con residuos de pericarpio, debido a que las sales de calcio no hidrolizan

el pericarpio del maíz como lo hace la cal, además de que se obtienen productos con alto rendimiento, y con mejores características reológicas y nutricionales.

Durante el cocimiento del grano se llevan a cabo reacciones bioquímicas, entrecruzamientos e interacciones moleculares que modifican tanto las características fisicoquímicas, estructurales y reológicas de la masa, como las propiedades estructurales y de textura de la tortilla producida. Estos cambios, se deben principalmente a modificaciones que ocurren en la estructura del almidón.

Los efectos del hidróxido de calcio (cal), en el proceso de nixtamalización tradicional, sobre el grano de maíz y sus componentes principalmente el almidón ya son conocidos. Sin embargo en el proceso ecológico de nixtamalización las condiciones del medio cambian totalmente ya que el uso de sales de calcio neutras (cloruro de calcio, sulfato de calcio, carbonato de calcio, acetato de calcio) no hidroliza el pericarpio del grano de maíz, el pH de la solución de cocimiento varía entre 5.5 y 6.5, por lo que bajo estas condiciones el comportamiento de las propiedades reológicas y fisicoquímicas del almidón y la de los productos elaborados es diferente.

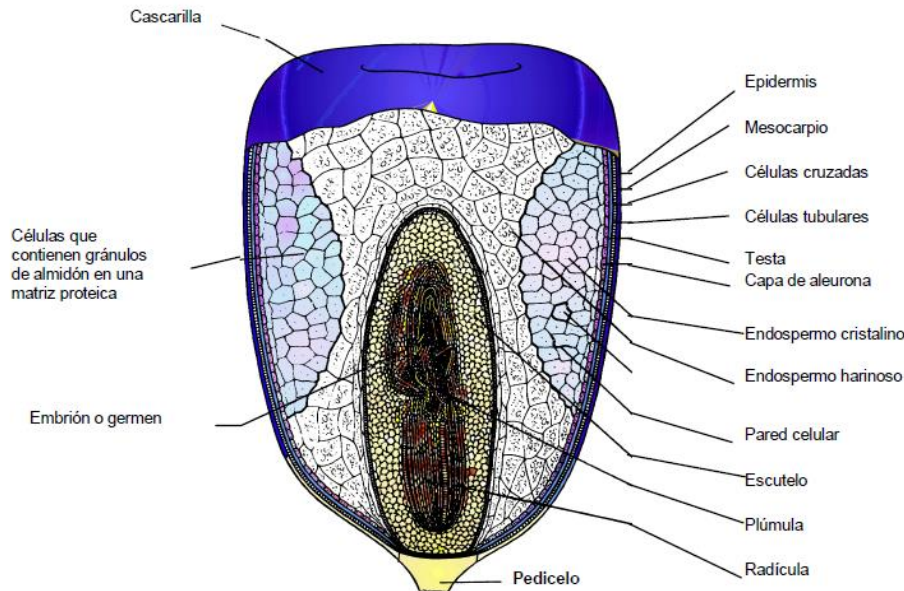
Con el presente trabajo se pretende conocer el efecto de la concentración de sales de calcio en las propiedades térmicas y reológicas del almidón para entender los fenómenos que se llevan a cabo en el proceso ecológico de nixtamalización y cómo influyen en la calidad de las harinas y las tortillas elaboradas mediante ese proceso. También se pretende comparar estos resultados con los obtenidos mediante el proceso tradicional de nixtamalización.

## II.- REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Maíz

#### 2.1.1 Estructura y composición química del grano de maíz

El grano de maíz se divide en cuatro tres partes, principalmente: pedicelo, pericarpio, endospermo y germen (Figura 1).



**Figura 1. Estructura del grano de maíz (Véles, 2004).**

El pedicelo es la estructura celular mediante la cual el grano se encuentra unido al olote. El pericarpio es la parte más exterior del grano y funciona como una piel que protege al grano del medio. El endospermo, es la mayor parte del grano y posee células llenas de gránulos de almidón envueltas en una matriz de proteína. El germen posee el eje embrionario y la raíz primaria (Watson, 2003).

Los principales componentes del grano entero son proteínas, almidón, lípidos y en menor proporción, fibra, azúcares, minerales y vitaminas. Más del 70 % del grano de maíz son carbohidratos, los cuales están presentes como almidón, azúcar y fibra. El almidón se concentra básicamente en las células del endospermo en un 86 % y en menor cantidad en el germen, pericarpio y pedicelo. El contenido de fibra dietética varía de 8 a 14 %, siendo en su gran mayoría fibra insoluble (95 %) y el resto fibra soluble (Cuadro 1).

**Cuadro 1. Composición química promedio del grano entero de maíz y sus partes.**

Estructura	% del grano	Composición de las partes del grano (%)					
		Almidón	Lípidos	Proteína	Cenizas	Azúcares	Fibra
Endospermo	82.9	87.6	0.8	8.0	0.3	0.6	2.7
Germen	11.1	8.3	33.2	18.4	10.5	10.8	18.8
Pericarpio	5.3	7.3	1.0	3.7	0.8	0.3	86.9
Pedicelo	0.8	5.3	3.8	9.1	1.6	1.6	78.6
Grano entero	100.0	73.4	4.4	9.1	1.4	1.9	9.8

Fuente: Watson (2003)

Los azúcares se encuentran principalmente en el germen y en cantidades muy bajas (hasta 2 %) y son principalmente monosacáridos D-glucosa y D-fructosa. Las proteínas representan aproximadamente el 9-10 % del grano entero, encontrándose principalmente en el endospermo y el germen. La distribución de las proteínas en el maíz es de: 8 % albúminas (proteínas solubles en agua), 9 % de globulinas (solubles en soluciones salinas), 40 % de glutelinas (solubles en hidróxido de sodio) y 39 % de prolaminas (zeína). Los lípidos constituyen aproximadamente el 4.4 % del peso total del grano. Se encuentran en mayor proporción en el germen, conteniendo el 84 % de los lípidos del grano y el 16 % restante se encuentra en el endospermo. Las vitaminas están localizadas en el germen y en la capa de aleurona, el resto del endospermo es más pobre en vitaminas que otras porciones del grano (Watson, 2003). Los minerales están principalmente en el germen (78 %), el más abundante es el fósforo, seguido del potasio, magnesio y azufre.

### 2.1.2 Producción y consumo

México está entre los principales países productores de maíz a nivel mundial, tan solo en 2012 se produjeron 21.5 millones de toneladas. El maíz blanco ocupa el 75 % del total de la producción, mientras que el maíz amarillo representa sólo 6 % y los otros tipos de maíz (azul, nativos, palomeros) el 19 %. El consumo de maíz en México es de alrededor de 28 a 30 millones de toneladas



por lo que se tienen que importar cerca de 7.9 millones de toneladas anuales promedio para cubrir las demandas del mercado (USDA, 2010).

El maíz se ha usado y consumido desde la época precolombina de diversas maneras, pero sin duda, el proceso de nixtamalización para la elaboración de masa para tortillas y otros productos nixtamalizados fue uno de los grandes logros de las culturas mesoamericanas (Iltis, 2000). Siendo el cultivo básico de la dieta mesoamericana la diversidad de platillos es muy amplia, en todo el país se reconocen alrededor de 605 recetas a base de maíz, las cuales fueron agrupadas en tres grandes temas: tamales, tortillas y atoles (Alarcón et al., 2001).

Según la Secretaría de Economía (2012) la tortilla es el segundo producto más importante en la canasta básica de consumo, solo después de la carne de res. Las tortillas son usadas en la preparación de una gran variedad de alimentos tradicionales mexicanos. En 2010 el consumo diario de tortilla por persona en las zonas rurales fue de 217.9 g, mientras que en las zonas urbanas fue de 155.4 g. Con estos datos, se estima que el consumo de tortilla en el país asciende a 6.9 millones de toneladas de tortilla con un valor de 72,481 millones de pesos, lo que refleja la importancia que tiene este producto en la alimentación de la población del país y el efecto que tiene su precio sobre la demanda y sobre el poder de compra de la población mexicana en general y particularmente de la de menores ingresos.

La tortilla puede ser producida a partir de masa fresca de nixtamal o de masa obtenida a partir de harina de maíz instantánea (HMI), en ambos casos para obtener la masa es necesario llevar a cabo el proceso de nixtamalización.

## **2.2 Nixtamalización**

La palabra nixtamalización proviene del náhuatl *nixtli*: cenizas, y *tamalli*: masa (Robelo, 1904), es un proceso creado por los olmecas, fue transmitido a los aztecas y mayas, y heredado de generación en generación en Mesoamérica hasta el día de hoy en que todavía se realiza como en tiempos prehispánicos (Figuroa, 2012).

El proceso de nixtamalización es un tratamiento térmico alcalino al cual se somete el maíz y que da como producto central la masa, la cual, luego se transforma en diversos productos entre los cuales la tortilla es el producto principal. Desde el punto de vista técnico, Illescas (1943) fue uno de los primeros que describió el proceso tal y como se realiza en México y que se conoce como proceso tradicional.

### **2.2.1 Proceso clásico de nixtamalización**

Se puede considerar como *proceso clásico de nixtamalización* al desarrollado por los Olmecas hace 3500 años, esta civilización se desarrolló en el sureste de Veracruz y en Tabasco, y sus registros más antiguos datan de 1500 a. C. Fue esta cultura la que heredó la técnica de procesar el maíz y la elaboración de la tortilla a los aztecas y mayas (Figuroa, 2012).

En sus inicios, el proceso clásico de nixtamalización no involucraba el uso de cal si no de cenizas de madera, paja, vainas quemadas o ceniza volcánica (Katz et al., 1974; Ellwood et al., 2013).

Algunos autores (Misra et al., 1993; Ohno y Erich, 1994; Pappa et al., 2010) han evaluado la composición química de la ceniza de diferentes especies de árboles, el principal elemento presente es el calcio (21.17 a 45.47 %), y más del 45 % se encuentra en forma de sales de carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ), también se encontraron otras sales comunes como fairchildita [ $\text{K}_2\text{Ca}(\text{CO}_3)_2$ ], hidróxido de calcio [ $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ], óxido de calcio ( $\text{CaO}$ ) y singenita [ $\text{K}_2\text{Ca}_2(\text{SO}_4)_3$ ].

No se sabe con certeza en que momento se dio la transición del uso de cenizas a cal para el proceso de nixtamalización, sin embargo está claro que el principal elemento que se mantuvo fue el calcio. Pappa et al. (2010) evaluaron la composición química y calidad de masa y tortillas de maíz elaboradas con cal y cenizas de plantas, aunque no mencionan de que planta exactamente obtuvieron las cenizas, es innegable que se obtuvieron algunos beneficios tecnológicos con el uso de cenizas, entre ellos bajo contenido de sólidos en el nejayote y mayor rendimiento de masa, sin embargo la calidad nutricional de las tortillas fue similar o menor que las obtenidas con cal.

### **2.2.2 Proceso tradicional de nixtamalización**

El proceso tradicional es el que heredamos de los aztecas y que actualmente se practica en todo el país, y con pocas modificaciones en el medio rural. Consiste en la cocción del maíz con una solución de cal, aproximadamente al 1 %, durante 50 a 90 minutos, luego se deja remojando en el agua de cocción (nejayote) de 14 a 18 horas. Posterior al remojo, el agua de cocción (nejayote), se retira y el maíz se lava dos o tres veces con agua, se obtiene así el llamado maíz nixtamalizado o nixtamal, que llega a tener hasta 45 % de humedad. El nixtamal se muele en un metate para producir la masa que se utiliza para formar a mano las tortillas que luego son cocidas en un comal de barro. Es importante indicar que el proceso de molienda requiere la adición de agua y que la masa llega a tener de 48 a 55 % de humedad. Finalmente el disco de masa, de aproximadamente 20 centímetros de diámetro, se cuece permitiendo que un lado de la tortilla esté en contacto con el calor de 30 a 45 segundos, se voltea para cocer el otro lado durante un minuto y otra vez el lado inicial por otros 30 segundos para completar la cocción. El producto resultante era llamado en náhuatl tlaxcalli y fue nombrado tortilla por los españoles (Paredes et al., 2009).

A pesar de lo innegables beneficios que trae consigo el proceso de nixtamalización, existen algunos problemas, que por el contexto social, económico y medioambiental actual, es necesario resolver, entre ellos: la contaminación de efluentes por desecho del nejayote, reducción de tiempos de procesamiento, mejoramiento de la calidad nutricional y sensorial de la tortilla, reducción en el consumo de agua, reducción de gastos de energía de procesamiento y aumento de rendimiento de los productos (Figuroa et al., 1994), para lo cual se han desarrollado varios procesos alternativos, menos contaminantes y más eficientes.

### **2.2.3 Procesos alternativos de nixtamalización**

Los procesos alternativos o modernos de nixtamalización comenzaron a desarrollarse en la década de los 70's, los principales objetivos que se han buscado son contar con una tecnología más sencilla, menos contaminante y más

eficiente, pero que al mismo tiempo que se mantenga la calidad nutricional y sensorial de la tortilla (Figuroa et al., 1994).

Entre los métodos existentes se pueden mencionar los de cocción bajo presión, cocción por vapor, cocción y secado con secadores de tambor, cocción con infrarrojo, cocción-extrusión, calentamiento óhmico y microondas (Véles, 2004; Bressani, 2008).

Estos procesos alternativos dan algunos productos de calidad aceptable, sin embargo las características del producto final (tortillas y otros productos), son diferentes a las obtenidas por el proceso de nixtamalización tradicional, por lo que no han tenido éxito; por otra parte el uso de estos procesos implica un costo superior al proceso tradicional, y no resuelven completamente los problemas de espacio y desalojo de las aguas residuales que se generan durante los mismos (Campechano et al., 2012).

#### **2.2.4 Proceso ecológico de nixtamalización**

Uno de los procesos más promisorios y que no requiere un cambio significativo en las condiciones de procesamiento y equipo utilizados en la industria de la masa y la tortilla, es el proceso de nixtamalización ecológica patentado por Figuroa et al. (2011) que consiste en el uso de sales como sulfato de calcio u otras sales o ácidos débiles diferentes de la cal para la obtención de harinas integrales, masa fresca integral y tortillas integrales de maíz.

En dicho proceso el grano de maíz entero es cocido en presencia de agua y sales de calcio (sulfato de calcio, cloruro de calcio, bicarbonato de calcio, carbonato de calcio, propionato de calcio u otras sales o ácidos débiles como el ácido acético o propiónico) a una temperatura de 80 a 90 °C durante 30 a 40 minutos. El grano de maíz cocido o nixtamal es reposado de 1 a 18 horas para permitir la hidratación de los gránulos de almidón, al término del tiempo de reposo el maíz retiene el pericarpio. El agua sin residuos de pericarpio es retirada del grano y posteriormente se enjuaga el nixtamal. El nixtamal es entonces molido en un molino apropiado de preferencia con una abertura entre piedras o discos de 2 mm para remoler perfectamente el pericarpio presente en el grano. La masa

integral fresca puede ser deshidratada para la elaboración de harinas integrales instantáneas o para la elaboración de tortillas integrales u otros productos integrales de maíz.

Con este proceso se evita la contaminación del líquido de cocción o nejayote con residuos de pericarpio, debido a que las sales de calcio no lo hidrolizan, además de que se obtienen productos con alto rendimiento, y con mejores características reológicas y nutricionales (Maya-Cortés et al., 2010; Campechano et al., 2012).

### **2.2.5 Efecto de la nixtamalización tradicional en el grano de maíz y sus productos**

La cocción alcalina y el remojo provocan el hinchamiento y rompimiento de las capas del pericarpio, esto hace que esta parte del grano se vuelva frágil, facilitando su remoción durante el lavado. La nixtamalización también provoca que la estructura que une las células del endospermo, llamada lámina media, y las paredes celulares se degraden y solubilicen parcialmente. La mayor parte del germen permanece en el grano durante la nixtamalización, lo que permite que la calidad de la proteína del grano de maíz se vea poco afectada. Otro aspecto sobresaliente es que la membrana semipermeable que está alrededor del grano, denominada aleurona, permanece sobre el mismo durante este tratamiento, lo que minimiza la pérdida de nutrimentos hacia el nejayote por el fenómeno de lixiviación (Paredes-López y Saharópulos, 1982).

Cuando el nixtamal se muele la masa obtenida es una mezcla constituida por los polímeros del almidón (amilosa y amilopectina) mezclados con gránulos de almidón parcialmente gelatinizados, gránulos intactos, partes de endospermo y lípidos. Todos estos componentes forman una malla compleja heterogénea dentro de una fase acuosa continua (Paredes et al., 2009).

#### **2.2.5.1 Cambios en el almidón**

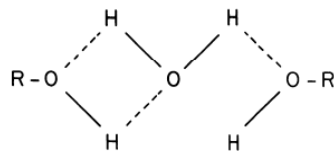
Durante el cocimiento del grano se llevan a cabo reacciones bioquímicas, entrecruzamientos e interacciones moleculares que modifican tanto las

características fisicoquímicas, estructurales y reológicas del nixtamal y la masa, como las propiedades estructurales y de textura de la tortilla producida. Estos cambios, se deben principalmente a modificaciones que ocurren en la estructura del almidón (Castillo et al., 2009; Quintanar-Guzmán et al., 2009).

En los patrones de difracción de rayos X se puede apreciar la gelatinización parcial de las capas externas del gránulo de almidón, debido a que presenta una pérdida de cristalinidad de 15-20 % en comparación con los gránulos sin tratamiento. Esta pérdida se recupera durante el reposo debido a la recristalización de los gránulos de almidón parcialmente gelatinizados (Agama, 2006). Sin embargo, durante la cocción de la tortilla se pierde la mayoría de la cristalinidad (Mondragón et al., 2004; Méndez-Montealvo et al., 2006). Mondragón et al. (2004) reportaron que la cristalinidad relativa cambia con la concentración de cal y el tiempo de reposo, además sus difractogramas de rayos X mostraron picos correspondientes a las estructuras cristalinas de tipo V, que indican la formación de complejos amilosa-lípido (almidón resistente tipo 5) durante la cocción y el reposo. Flores-Morales et al. (2012) reportan que un aumento de la cristalinidad del almidón se relaciona con un mayor contenido de almidón resistente. Sus análisis con diversas técnicas (IR, CP-MAS/NMR y Raman) del almidón retrogradado (almidón resistente tipo 3) en tortillas mostraron que no solo los lípidos pueden estar acomplejados con la amilosa sino también grupos proteicos.

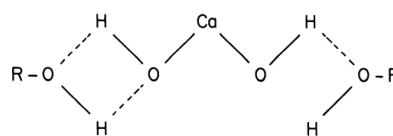
Además de la pérdida de la fracción de amilosa de los gránulos, hinchamiento, retrogradación y la alteración de los gránulos y pérdida de birrefringencia, los iones  $\text{Ca}^{2+}$  compiten con las moléculas de agua, y afectan la estructura molecular y las propiedades poliméricas del almidón de maíz tales como la temperatura de transición vítrea y la temperatura de fusión. Las propiedades reológicas como la viscosidad aparente o módulo de elasticidad también son influenciados porque el calcio actúa como un ligando del almidón y la matriz proteica (Alvarado-Gil et al., 1997). El calcio se incorpora en el endospermo y se ha sugerido que esa incorporación se lleva a cabo mediante el fenómeno de transferencia de masa por el mecanismo de difusión (Valderrama-Bravo et al., 2010). El hidróxido de calcio actúa por disociación iónica en iones calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) y

en iones hidroxilo ( $\text{OH}^-$ ). Luego de la disociación iónica en el agua, los iones  $\text{OH}^-$  se inactivan rápidamente al unirse a átomos de hidrógeno (H) del agua, que a pesar de estar saturados mantienen una ligera carga positiva, pudiendo formar enlaces dipolo-dipolo con los iones  $\text{OH}^-$  que mantienen carga negativa. La disponibilidad de grupos hidroxilos en las moléculas poliméricas del almidón es la principal razón para su asociación a través de los enlaces de hidrógeno (Rodríguez et al., 1996). En un estado normal, los grupos vecinos OH de las moléculas de almidón, están ligadas a través de una o más moléculas de agua formando una cadena con las principales ramificaciones laterales (Figura 2).



**Figura 2. Asociación entre el almidón y el agua (Rodríguez et al., 1996).**

La interacción calcio-almidón podría ocurrir al debilitarse los puentes de hidrógeno de las moléculas de agua, que están enlazadas naturalmente a las moléculas de almidón, debido a la presencia del catión calcio (Rodríguez et al., 1996). Se podrían formar también “puentes de entrecruzamiento” por los cationes calcio como se indica en el esquema de la Figura 3:



**Figura 3. Interacción de iones de Ca con moléculas del almidón que pueden dar origen a entrecruzamientos (Rodríguez et al., 1996).**

El proceso de gelatinización del almidón durante el cocimiento alcalino se puede explicar considerando las reacciones anteriores. La concentración de cal afecta el grado de entrecruzamiento, a bajas concentraciones de hidróxido de calcio (< 0.2 %) el Ca penetra en el gránulo y provoca la destrucción de zonas cristalinas. Al incrementarse la concentración, las interacciones se dan principalmente en la superficie de los gránulos incrementando su rigidez lo cual

lleva a una disminución en la capacidad de absorción de agua y del grado de gelatinización (Pineda-Gómez et al., 2011).

A valores de pH de 11 y superior, las moléculas de amilosa llevan carga negativa, lo que permite la interacción con los iones de calcio (Trejo-González et al., 1982), además la gelatinización del almidón durante la cocción alcalina y reposo del nixtamal se inhibe por la interacción de amilosa-calcio (Robles et al., 1988).

La comprensión de la reacción de gelatinización térmica-alcalina es muy importante para el desarrollo de tecnologías alternativas y más limpias. Muchos investigadores han estudiado el papel de la cal (hidróxido de calcio) en el proceso de nixtamalización tradicional y en algunos procesos nuevos, el común denominador en todos los procesos es el uso de hidróxido de calcio en concentraciones que van desde 0.1 hasta 2.0 % (Paredes-López y Saharópulos, 1982; Trejo-González et al., 1982; Robles et al., 1988; Gómez et al., 1992; Rodríguez et al., 1996; Alvarado-Gil et al., 1997; Milán-Carrillo et al., 2004; Sánchez-Tovar et al., 2004; Castillo et al., 2009; Pappa et al., 2010; Méndez-Albores et al., 2012). La mayoría de ellos han descrito la gelatinización del almidón de maíz de manera tradicional teniendo en cuenta la humedad y los cambios de temperatura como las variables que influyen en este fenómeno.

#### **2.2.5.2 Cambios en las proteínas**

La cocción alcalina altera la estructura y la solubilidad de las proteínas del maíz, la nixtamalización y la cocción de la tortilla reducen la solubilidad de las albúminas y de las globulinas, y lo mismo ocurre con la solubilidad de las prolaminas; asimismo, se observa la aparición de glutelinas de alto peso molecular. Estos cambios se deben al enlazamiento de proteínas y a la ruptura de su estructura, que es estabilizada por diversas fuerzas de atracción (Paredes et al., 2009). El contenido de proteína no se ve afectado sensiblemente después que el maíz ha sido nixtamalizado y se produce la tortilla. La digestibilidad de la proteína disminuye ligeramente tanto en el nixtamal como en la tortilla, lo cual está relacionado con el tiempo de cocción y la concentración de cal, ya que la cocción



altera las prolaminas provocando que sean menos susceptibles a la digestión (Bressani, 2008).

El maíz es deficiente en lisina y triptófano, y obviamente el nixtamal y la tortilla también lo son. Sin embargo, la nixtamalización incrementa la disponibilidad de la mayoría de los aminoácidos esenciales. El contenido de lisina y triptófano no se ve muy afectado después de que el maíz ha sido sometido tanto a la nixtamalización como a la producción de tortilla, aunque sí se presentan ligeras pérdidas (Ortega et al., 1986). Los aminoácidos liberados pueden producir un compuesto llamado lisinoalanina, que no es biodisponible, y además pueden reaccionar con azúcares reductores formando compuestos de color oscuro (Bressani, 2008).

### **2.2.5.3 Cambios en los lípidos**

Los lípidos del grano de maíz disminuyen en forma importante, hasta 3.4 % en tortilla de maíz amarillo y 2.5 % en la de maíz blanco. Estas pérdidas no se han explicado totalmente, sin embargo, pueden deberse a la pérdida del germen o probablemente a la dificultad de solubilizar el aceite con los solventes utilizados (Bressani, 2008).

Martínez-Flores et al. (2006) encontraron que a medida que aumenta la concentración de hidróxido de calcio durante la nixtamalización aumenta también la saponificación de los lípidos y disminuye la cantidad de lípidos que puede ser extraída lo que significa que los lípidos podrían reaccionar con los iones calcio para formar materiales insaponificables que no pueden ser extraídos eficientemente con los solventes comúnmente utilizados.

### **2.2.5.4 Cambios en las vitaminas**

Las pérdidas que la cocción alcalina y la producción de la tortilla provocan en las vitaminas son variables. Se sabe que cuando el maíz amarillo se somete a la nixtamalización pierde de 15 a 28 % de su contenido de caroteno. La tiamina (vitamina B<sub>1</sub>), que en promedio está presente en el maíz en 0.7 miligramos por 100 gramos de materia seca, se reduce hasta en 60 %, mientras que la riboflavina

(vitamina B<sub>2</sub>) y la niacina (vitamina B<sub>3</sub>) se pierden hasta en 70 y 40 % respectivamente (Gómez et al., 1996; Figueroa et al., 2003). Cabe mencionar que la niacina presente en el grano de maíz no está disponible, pero el proceso de cocción provoca que esta vitamina se libere como ácido nicotínico para su aprovechamiento, con lo cual se evita la enfermedad llamada pelagra. Aparentemente esta enfermedad se debe al desbalance de los aminoácidos esenciales del maíz, en particular su bajo nivel de triptófano, lo que incrementa los requerimientos de niacina por parte del organismo (Paredes et al., 2009). La cocción del maíz en agua tiene el mismo efecto, es decir, incrementa la disponibilidad de niacina.

Se ha reportado que los productos del maíz nixtamalizado proporcionan entre 39 y 56 % de niacina, de 32 a 62 % de tiamina y 19 a 36 % de riboflavina del mínimo requerido diariamente por el ser humano (Figueroa et al., 2001; Figueroa et al., 2003; Paredes et al., 2009).

#### **2.2.5.5 Cambios en los minerales**

En relación con el calcio, se ha observado que el contenido de este elemento se ve afectado por la cantidad de cal añadida, las temperaturas de cocción, el tiempo de remojo y el nivel de cal eliminado durante el lavado del nixtamal (Bressani et al., 2004). El calcio de la tortilla es altamente biodisponible, ya que cuando se alimentan ratas con tortilla absorben y retienen más calcio que aquellas que se alimentan con granos crudos de maíz, además las ratas presentan huesos más grandes y resistentes a fracturas, lo que confirma la absorción y retención de este importante elemento (Serna-Saldívar et al., 1992).

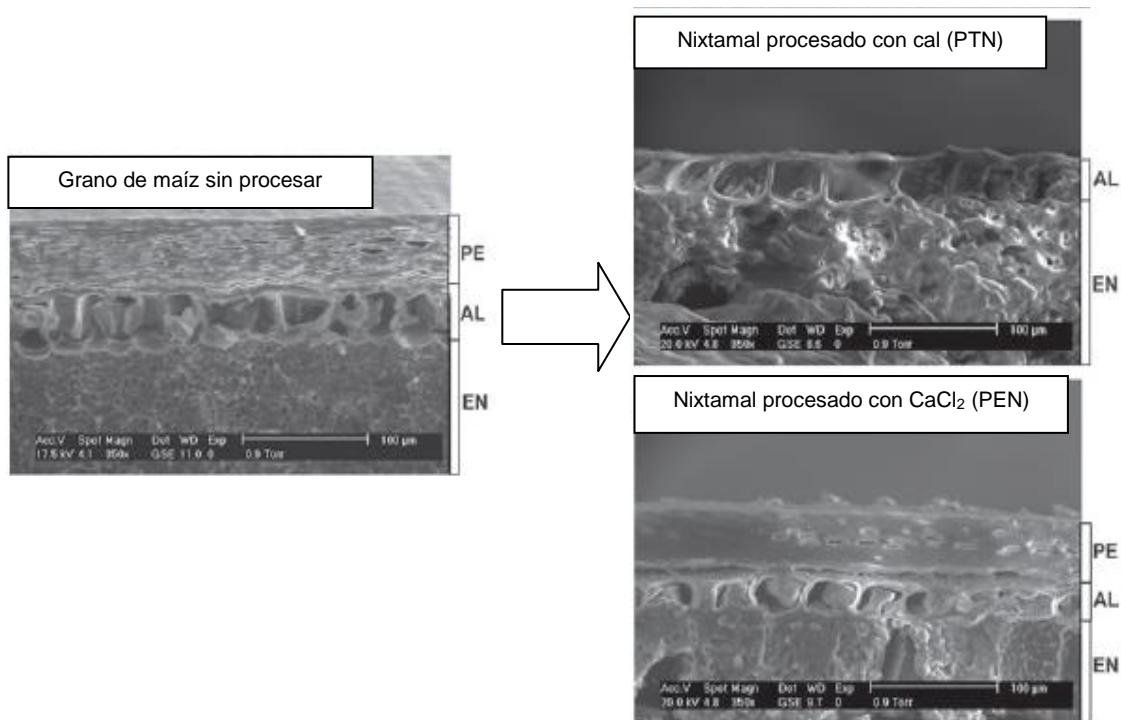
El calcio desempeña un papel importante durante la nixtamalización del grano de maíz. El tratamiento con cal facilita la remoción del pericarpio durante la cocción y el reposo, controla la actividad microbiana, mejora el sabor, aroma, color, vida de anaquel y el valor nutricional de las tortillas. La cantidad de calcio incorporado al grano durante el proceso de nixtamalización es muy importante porque la interacción entre el hidróxido de calcio y los diferentes componentes del

grano determinan las características fisicoquímicas y sensoriales de los productos elaborados a partir de masa de maíz (Rooney y Suhendro, 1999).

La nixtamalización indudablemente reduce los problemas asociados a la deficiencia de este elemento. Finalmente, se ha calculado que la tortilla puede proporcionar de 32 a 62 % de los requerimientos mínimos de hierro.

## 2.2.6 Efecto de la nixtamalización ecológica en el grano de maíz y sus productos

En el proceso ecológico de nixtamalización las sales de calcio (e. g. cloruro de calcio, sulfato de calcio, carbonato de calcio, acetato de calcio) no hidrolizan el pericarpio ni la capa de aleurona del grano de maíz (Figura 4).



**Figura 4. Micrografías de la sección transversal del grano de maíz. PE: pericarpio, AL: aleurona, EN: endospermo. PTN: Proceso tradicional de nixtamalización, PEN: proceso ecológico de nixtamalización. Fuente: Campechano et al. (2012)**

En la Figura 4 se observa como de las dos capas que rodean el endospermo del grano de maíz, durante el proceso tradicional de nixtamalización con hidróxido de calcio y el posterior lavado del nixtamal se elimina la capa de

pericarpio quedando únicamente la capa de aleurona, mientras que en los granos de nixtamal procesados con el proceso ecológico de nixtamalización, específicamente con  $\text{CaCl}_2$ , tanto la capa de pericarpio como la de aleurona permanecen intactas con lo cual se reduce, en gran medida, la pérdida y lixiviación de nutrientes del grano (Campechano et al., 2012; Rodríguez et al., 2013).

En la evaluación de la composición química de harinas nixtamalizadas y tortillas elaboradas con el proceso ecológico, las tortillas del proceso ecológico presentan, en general, mayores contenidos de lípidos, proteína, fibra dietaria total, fibra dietaria insoluble y fibra dietaria soluble, comparadas con las tortillas del proceso tradicional y las elaboradas con harina nixtamalizada comercial (Cuadro 2).

**Cuadro 2. Composición química del maíz entero y tortillas elaboradas con diferentes procesos\*.**

Componente	Maíz entero	PEN	PTN	HC
Cenizas (%)	1.1-1.3	1.3-1.6	1.3-1.7	1.3-1.4
Lípidos (%)	4.7-5.3	3.0-5.0	2.6-5.0	2.3-3.5
Proteína (%)	8.8-8.9	7.5-8.9	7.2-8.6	7.0-7.7
Carbohidratos (%)	84.5-85.4	85.5-88.2	84.7-88.9	87.4-89.4
Fibra dietaria total (%)	11.5-15.6	11.4-21.3	5.2-13.6	4.6-13.4
Fibra dietaria insoluble (%)	10.9-12.9	9.4-18.9	3.8-11.2	3.9-13.0
Fibra dietaria soluble (%)	1.8-2.9	1.7-3.3	0.9-3.1	0.3-1.6
Almidón total (%)	----	62.8-63.5	62.8-65.2	66.2-66.9
Almidón resistente (%)	----	2.0-2.3	2.7-3.1	2.4-2.7
Almidón disponible (%)	----	60.6-61.4	59.8-62.4	63.6-64.3

\*PEN: Proceso Ecológico de Nixtamalización, PTN: Proceso Tradicional de Nixtamalización, HC: Harina comercial.

Fuente: Maya-Cortés et al. (2010), Campechano et al. (2012) y Bello-Pérez et al. (2014a).

Rodríguez et al. (2013) encontraron que las harinas y tortillas elaboradas con el proceso ecológico de nixtamalización presentaron una mayor cantidad de compuestos fenólicos y antocianinas, así como una mayor actividad antioxidante que en las elaboradas con el proceso tradicional de nixtamalización.

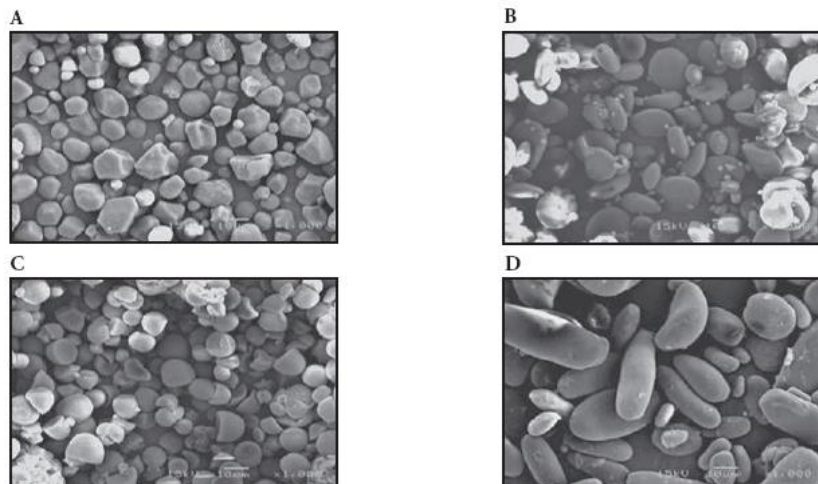
Por su parte Bello-Pérez et al. (2014a) evaluaron el efecto del proceso ecológico de nixtamalización con carbonato de calcio en el contenido de carbohidratos no digeribles y la digestibilidad del almidón de las tortillas. El contenido de almidón resistente en tortillas frescas y almacenadas (96 h) elaboradas con el proceso ecológico y el proceso tradicional no mostró diferencias significativas. Las tortillas de ambos procesos tuvieron un menor índice glucémico que las tortillas comerciales, y durante el almacenamiento, ambas presentaron valores inferiores de índice glucémico que las tortillas frescas.

### **2.3 Almidón**

El almidón es un biopolímero formado por residuos de D-glucosa unidos mediante enlaces glucosídicos y constituye el producto final de la fijación fotosintética del CO<sub>2</sub> atmosférico. Se encuentra en forma de gránulos insolubles en las semillas o granos, tubérculos, raíces y tallos de las plantas, de las cuales constituye su principal forma de reserva energética que es utilizada durante los periodos de dormancia, germinación y crecimiento de las plantas (Badui, 2001).

Durante la formación del gránulo, el almidón se deposita en capas concéntricas sucesivas y superpuestas alrededor de un núcleo central “hilium”, formando así un gránulo compacto. El tamaño, forma y composición de los gránulos dependen de la fuente botánica, de la bioquímica de los cloroplastos o amiloplastos, y de la fisiología de la planta, lo que resulta de gran utilidad para su identificación al microscopio (Jayakody y Hoover, 2008).

En el amiloplasto se pueden sintetizar pequeños gránulos de almidón, como en el caso del arroz; o sólo un gránulo como ocurre en la papa, el maíz y el trigo (Vandeputte y Delcour, 2004). Los gránulos de almidón pueden ser de forma redonda, ovalada, poligonal, lenticular e irregular (Figura 5) (Tester et al., 2004).



**Figura 5. Microscopía electrónica de barrido de los almidones de: A) maíz, B) cebada, C) mango, D) plátano (Casarrubias-Castillo et al., 2012).**

El tamaño de los gránulos de almidón varía de 1 a 100  $\mu\text{m}$  (Cuadro 3), siendo mayores los gránulos del almidón de papa (<110  $\mu\text{m}$ ), seguido por los gránulos del almidón de trigo (<30  $\mu\text{m}$ ) y por los gránulos del almidón de maíz (<25  $\mu\text{m}$ ) (Singh et al., 2003).

**Cuadro 3. Características físicas y químicas de los almidones.**

Fuente botánica	Tamaño ( $\mu\text{m}$ )	Amilosa (%)	Solubilidad a 95 °C (%)	Temperatura de gelatinización (°C)	Forma
Maíz normal	5-25	26	25	62-80	Redondo
Maíz ceroso	5-15	1	23	63-74	Redondo
Amilomaíz	2-30	> 80	12	85-87	Redondo
Trigo	2-35	25	41	53-72	Redondo
Arroz	3-8	17	18	61-80	Poligonal
Cebada	2-35	22	-	56-62	Redondo
Papa	5-100	22	82	56-69	Almeja

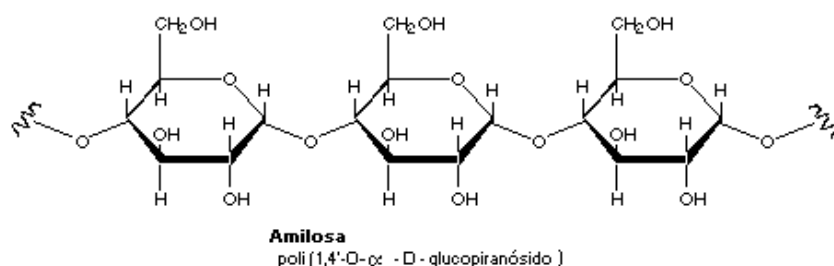
Fuente: Singh et al. (2003).

De acuerdo a su tamaño, los gránulos de almidón se clasifican como gránulos grandes (>25  $\mu\text{m}$ ), gránulos medianos ( $\geq 10 \leq 25 \mu\text{m}$ ), gránulos pequeños ( $\geq 5 \leq 10 \mu\text{m}$ ) y gránulos muy pequeños (<5  $\mu\text{m}$ ) (Lindeboom et al., 2004). Se han encontrado dos tipos de gránulos de almidón en cereales lo cual se conoce como

distribución bimodal, ya que presentan gránulos tipo A y B. Además de las diferencias en tamaño, estos dos tipos de gránulos difieren en sus propiedades fisicoquímicas y en las etapas en que son sintetizados durante el crecimiento de las plantas (Lindeboom et al., 2004).

### 2.3.1 Estructura y composición química del almidón

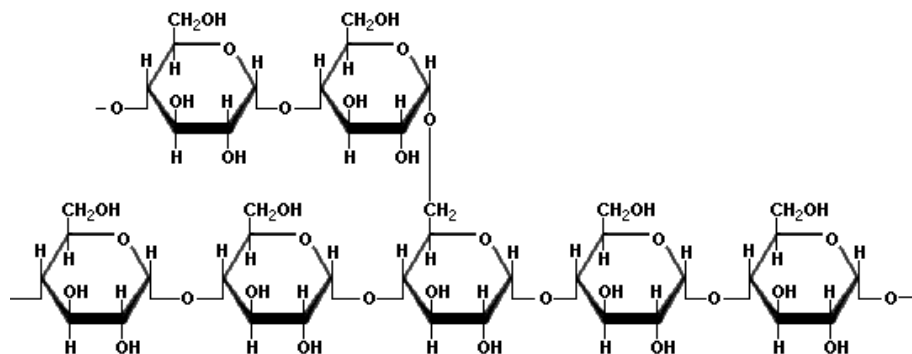
El almidón es una mezcla de dos polisacáridos: amilosa y amilopectina; ambos representan de 98-99 % del peso seco del almidón. La amilosa es un polisacárido constituido por largas cadenas de residuos de glucosa dispuestas en forma helicoidal, en las que el 99 % de las moléculas se unen por enlaces glucosídicos  $\alpha$  (1-4); mientras que el restante 1 % se une por enlaces glucosídicos  $\alpha$  (1-6) (Figura 6) (Whistler et al., 1984).



**Figura 6. Estructura química de la amilosa (Badui, 2001).**

El grado de polimerización (GP) de la amilosa depende de la fuente de obtención y del estado de madurez de la misma; varía de 324 a 4920 residuos de glucosa y presenta de 9 a 20 puntos de ramificación (Singh et al., 2003). La amilosa alcanza pesos moleculares que van de  $1 \times 10^6$  a  $1 \times 10^7$  millones de daltones (Da) (Badui, 2001). A temperatura ambiente y en solución, la molécula de amilosa adquiere una configuración helicoidal, en la cual cada seis residuos de glucosa constituyen una vuelta en torno al eje de simetría de la molécula. Esta configuración helicoidal es la responsable de la formación de complejos amilosa-yodo de un característico color azul intenso (Singh et al., 2003).

Por su parte, la amilopectina es un polisacárido formado por unidades de glucosa y presenta una estructura altamente ramificada (Figura 7) (Badui, 2001).



**Figura 7. Estructura química de la amilopeptina (Badui, 2001).**

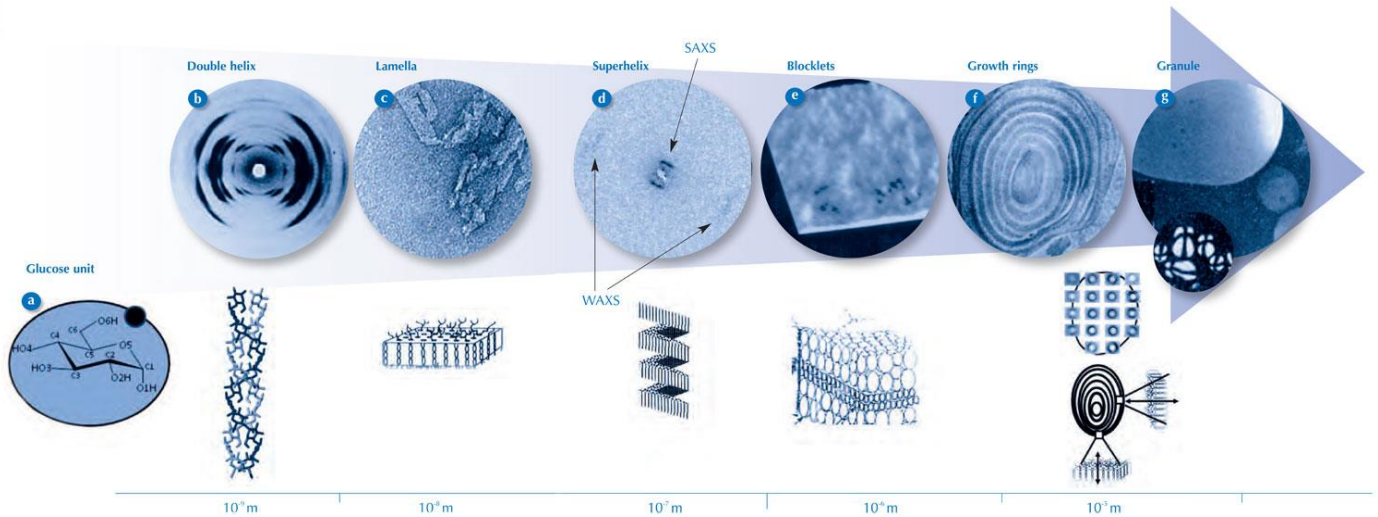
El grado de polimerización de estas ramificaciones varía de 10 a 60 residuos de glucosa unidos por enlaces glucosídicos  $\alpha$  (1-4). Las ramificaciones se localizan a una distancia de 10 a 15 residuos de glucosa en la cadena principal de la molécula, a la cual se unen mediante enlaces glucosídicos  $\alpha$  (1-6).

El GP de la amilopeptina varía de 9600 a 15900 residuos de glucosa, lo que arroja pesos moleculares del orden de  $1 \times 10^7$  a  $1 \times 10^9$  (Da) (Tester et al., 2004). La amilopeptina está asociada con las regiones cristalinas del gránulo de almidón, conocidas como regiones A, B, y C, que difieren en el empaquetamiento de la doble hélice de la estructura (Singh et al., 2003). El almidón céreo contiene menos de 15 % de amilosa, el almidón normal contiene de 20-35 % amilosa y el amilo almidón posee más del 40 % de amilosa (Tester et al., 2004). La relación amilosa/amilopeptina varía de acuerdo al origen botánico, el clima y tipo de suelo donde se desarrolla la fuente.

Las cantidades relativas de estos dos polímeros y su organización física dentro del gránulo le confieren propiedades particulares a cada almidón (Singh et al., 2003). Moléculas adyacentes de amilosa y amilopeptina interactúan a través de puentes de hidrógeno, formando paquetes cristalinos orientados radialmente llamados micelas. Estas micelas mantienen unido al gránulo, permitiendo su hinchamiento en agua caliente y la solubilización de moléculas individuales de almidón, sin rompimiento del gránulo (Tester y Karkalas, 2001).



En la Figura 8 se muestra un gránulo de almidón en el que se ve reflejada la luz del microscopio (parte clara), también se aprecia una parte donde podría estar presente la región cristalina, en donde se empaquetan las dobles hélices de amilopectina con conformación y longitud características.



**Figura 8. Los niveles de organización del almidón (Pérez et al., 2009).**

Dentro del gránulo de almidón se localizan zonas cristalinas de moléculas de amilopectina y amilosa ordenadas paralelamente a través de puentes de hidrógeno, así como zonas amorfas formadas principalmente por la amilosa, las cuales no tienen posibilidad de asociarse entre sí o con las moléculas de amilopectina (Singh et al., 2003). Estas áreas micelares altamente cristalinas y orientadas explican la capacidad de los gránulos para rotar el plano de la luz polarizada, produciendo una cruz característica de interferencia, llamada “cruz de malta”.

La composición química de los almidones comerciales depende de la fuente botánica, del proceso de obtención y purificación, así como de las condiciones de almacenamiento. El contenido de humedad en los gránulos de almidón va de un 10 al 12 % en cereales y de 14 a 19 % en almidones de tubérculos y raíces. Además, todos los almidones contienen pequeñas cantidades de proteínas, lípidos, fósforo y trazas de materiales inorgánicos. Los lípidos presentes en los gránulos de almidón se encuentran formando complejos de

inclusión con las moléculas de amilosa; dichos complejos son insolubles en agua fría pero se disocian al calentarse a temperaturas superiores a los 125 °C.

Las proteínas se encuentran asociadas con el gránulo, y en la periferia del mismo; las proteínas integrales son de mayor peso molecular que las superficiales (50-150 y 15-30 kDa respectivamente) e incluyen residuos de enzimas involucradas en la síntesis de almidón, especialmente sintetasas (Baldwin, 2001). Las proteínas confieren al almidón un aroma y sabor a harina, además de cierta capacidad espumante. Cerca del 10 % de las proteínas asociadas al almidón, se encuentran en la superficie del gránulo y pueden ser fácilmente extraídas con agua o soluciones salinas.

El almidón contiene cantidades traza de minerales (< 0.5 %) entre los que destacan calcio, magnesio, potasio, sodio y fósforo, los cuales, con excepción del fósforo son de poca importancia en la funcionalidad del almidón (Tester et al., 2004).

### **2.3.2 Propiedades del almidón**

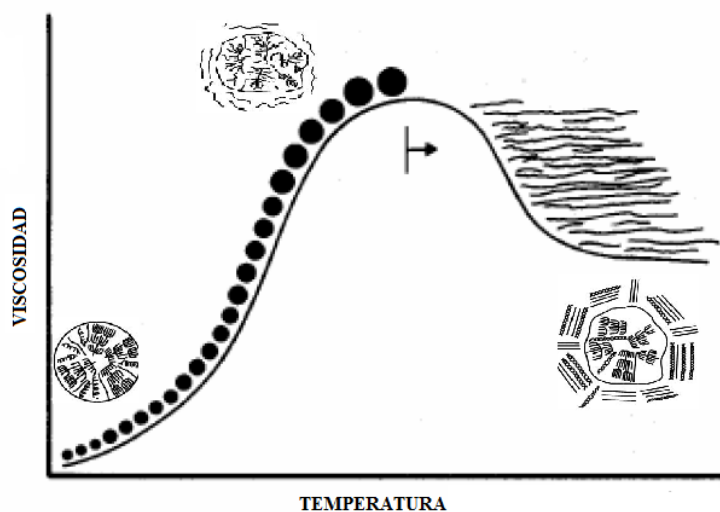
Los almidones nativos presentan propiedades funcionales que pueden ser deseables para ciertas aplicaciones: la gelatinización, retrogradación, birrefringencia, cristalinidad, solubilidad, claridad, viscosidad, capacidad de retención de agua e hinchamiento, son fenómenos que pueden ayudar a explicar la estabilidad del biopolímero y por tanto sugerir su aplicación adecuada (Biliaderis, 1991).

El almidón presenta una alta estabilidad y organización debido a las múltiples interacciones que existen entre la amilosa y la amilopectina, esto ocasiona que sea insoluble en agua fría, sin embargo, cuando se calienta en exceso de agua (> 70 %) ocurre una pérdida de cristalinidad originando que la forma semicristalina cambie a una forma eventualmente amorfa (Tester y Debon, 2000).

### 2.3.2.1 Gelatinización

La gelatinización del almidón es un proceso que se da en presencia de agua en el cual, se pasa de un estado ordenado (estructura cristalina) a un estado desordenado en el que se absorbe calor, es decir, la gelatinización transforma a los gránulos insolubles del almidón, en una solución de sus moléculas constituyentes (amilosa y amilopectina) en forma individual.

Los gránulos de almidón son insolubles en agua fría, pero se hidratan e hinchan en agua caliente dando origen a la formación de pastas viscosas. Este hinchamiento de los gránulos de almidón es reversible hasta una cierta temperatura conocida como temperatura de gelatinización, la cual es característica de cada tipo de almidón y corresponde a la temperatura a la cual se alcanza el máximo de viscosidad, se pierde la birrefringencia y se rompen los gránulos solubilizando amilosa y amilopectina; la amilosa se difunde en el agua formando una malla y generando un gel y la amilopectina permanece en el gránulo para posteriormente perder su orden (Figura 9) (Singh et al., 2003).



**Figura 9. Gelatinización del almidón.**

Entre los factores que determinan el proceso de gelatinización e hinchamiento de los gránulos destacan la relación y el contenido de amilosa y amilopectina, su grado de polimerización, así como el tamaño del gránulo de almidón y el contenido de fósforo (Singh et al., 2003). La relación en el contenido

de amilosa y amilopectina es de suma importancia para la obtención de geles con buenas propiedades mecánicas, de solubilidad y de baja degradabilidad (Biliaderis, 1991).

Son preferibles los almidones ricos en amilosa debido a que sus geles presentan buenas propiedades mecánicas, son menos solubles y presentan una mayor resistencia a su degradación química o enzimática. Sin embargo, estos almidones tienen la desventaja de formar sistemas opacos y presenta tendencia a retrogradar, debido a su alto contenido de amilosa (Biliaderis, 1991).

### **2.3.2.2 Retrogradación**

El enfriamiento del almidón posterior a la gelatinización ha sido denominado retrogradación. Es un proceso que implica insolubilización y precipitación espontánea de las moléculas de amilosa principalmente. Ello debido a que sus cadenas lineales se orientan paralelamente e interaccionan entre sí a través de sus múltiples grupos hidroxilos, por medio de puentes de hidrógeno. Durante la retrogradación, la amilosa forma asociaciones de doble hélice de 40-70 unidades de glucosa (Singh et al., 2003).

Cada almidón tiene una tendencia diferente a la retrogradación, la cual está íntimamente relacionada a la presencia de solutos como lípidos, sales, azúcares, al tipo y concentración de almidón, regímenes de cocimiento y enfriamiento y a su contenido de amilosa. Debido a que las ramificaciones de amilopectina impiden la formación de puentes de hidrógeno con moléculas adyacentes, es más difícil que éstas desarrollen la retrogradación. La retrogradación se manifiesta por la formación de precipitados o geles que afectan la textura, aceptabilidad y digestibilidad de los alimentos que contienen almidón (Badui, 2001).

### **2.3.3 Efecto de las sales de calcio en las propiedades del almidón**

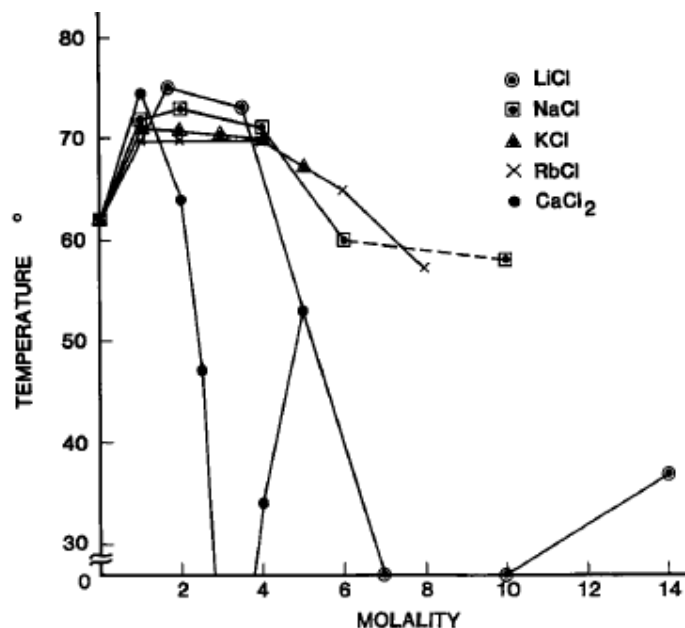
La gelatinización del almidón se ve afectada de diferente forma dependiendo de la sal o compuesto que se utilice. Por ejemplo, el sulfato de sodio aumenta sustancialmente la temperatura de gelatinización del almidón, mientras

que el tiocianato de sodio (> 2 M) gelatiniza el almidón a temperatura ambiente (Jane, 1993).

El efecto de la concentración de calcio de diferentes fuentes ha sido estudiado por Oosten (1982, 1983), quien propone que a bajas concentraciones los cationes penetran en el gránulo generando un potencial de Donnan por el reemplazo de iones hidrógeno por cationes de calcio, que tiende a repeler los iones hidrógeno retrasando la gelatinización; al incrementarse la concentración de cationes en el interior de gránulo este potencial disminuye y se reduce el poder de exclusión de los aniones los cuales actúan como agentes gelatinizantes. Por su parte Jane (1993) concluye que el mecanismo de la gelatinización del almidón en soluciones salinas puede atribuirse a: (1) los efectos de formación o rompimiento de estructuras en agua y (2) las interacciones electrostáticas entre sales y los grupos hidroxilo del almidón

Algunos autores como Gough y Pybus (1973) mostraron que al aumentar la concentración de cloruro de calcio había un efecto inconsistente sobre la temperatura de gelatinización del almidón de trigo.

Evans y Haisman (1982), usando calorimetría diferencial de barrido (DSC), encontraron que el almidón de papa en presencia de cloruro de calcio concentrado (> 4 M) gelatiniza con una entalpía exotérmica, mientras que el almidón calentado solo en presencia de agua gelatiniza con una entalpía endotérmica. De acuerdo con los mismos autores el efecto de las sales neutras en la gelatinización del almidón sigue el orden de las series de Hofmeister (liotrópica), es decir los aniones junto con un catión constante (por ejemplo,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ , etc.), aumentan la solubilidad de la proteína en el orden:  $\text{SO}_4^{2-} < \text{CH}_3\text{COO}^- < \text{Cl}^- < \text{Br}^- < \text{NO}_3^- < \text{ClO}_4^- < \text{I}^- < \text{SCN}^-$ . Los cationes, con la misma contraparte anión, aumentan la solubilidad de las proteínas en el orden:  $\text{NH}_4^+ < \text{Rb}^+ < \text{K}^+, \text{Na}^+, \text{Cs}^+ < \text{Li}^+ < \text{Mg}^{2+} < \text{Ca}^{2+} < \text{Ba}^{2+}$ . Además mencionan que el cloruro de calcio impulsa la gelatinización del almidón a temperatura ambiente, sin embargo Jane (1993) demostró que, si bien la temperatura de gelatinización disminuye, tanto ésta como la entalpía de gelatinización cambian de un modo complejo cuando la concentración de  $\text{CaCl}_2$  aumenta (Figura 10).



**Figura 10. Temperatura de gelatinización del almidón de maíz a diferentes concentraciones de LiCl, NaCl, KCl, RbCl y CaCl<sub>2</sub>. (Jane, 1993)**

Las micrografías también mostraron que el patrón de gelatinización del almidón de maíz en soluciones de CaCl<sub>2</sub> varió con la concentración de la sal, mientras que con otras sales la gelatinización empieza en el hiliun o en la periferia, estas diferencias sugieren que la gelatinización del almidón en estas soluciones de sal está regulada por diferentes mecanismos (Jane, 1993).

Otsuka et al. (2001) probaron el efecto de la concentración de 0 a 0.5 % de carbonato de calcio e hidróxido de calcio sobre la gelatinización y retrogradación del almidón de maíz y encontraron que el incremento en la concentración de ambos compuestos disminuye ligeramente la temperatura y entalpia de gelatinización, con lo que concluyen que ambos promueven la gelatinización del almidón de maíz e inhiben la retrogradación. En ese experimento el hidróxido de calcio mostró efectos más fuertes en la gelatinización y retrogradación del almidón de maíz que el carbonato de calcio. Los mismo resultados fueron obtenidos por Moritaka et al. (2003) cuando evaluaron la concentración de carbonato de calcio en almidón de arroz.

Ruiz-Gutiérrez et al. (2012) evaluaron las propiedades químicas y térmicas del almidón utilizando cal, cloruro de calcio y lactato de calcio y su efecto en las características de masa y la tortilla obtenida con un proceso de nixtamalización de

“dos etapas”. Ellos encontraron que la absorción de calcio fue mayor durante la segunda etapa de cocción con  $\text{CaCl}_2$  y  $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_6\text{Ca}$  que con  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ . El análisis térmico mostró que las temperaturas inicial, pico y final de gelatinización y la entalpía del almidón de nixtamal fueron más altas cuando el grano fue cocido con  $\text{CaCl}_2$  y  $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_6\text{Ca}$  que con  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ .

#### **2.3.4 Digestibilidad del almidón**

De acuerdo a la velocidad y extensión de la hidrólisis por la amilasa pancreática, el almidón se clasifica en tres subtipos: almidón de digestión rápida (ADR), el cual se hidroliza e incrementa los niveles de glucosa en sangre durante los primeros 20 minutos después del consumo de un alimento, almidón de digestión lenta (ADL), el cual promueve una moderada respuesta glucémica e insulinémica y la glucosa se libera entre los 20 y los 120 minutos después del consumo, y el almidón resistente (AR) el cual no es hidrolizado por las enzimas digestivas y permanece después de los 120 minutos de iniciado el proceso digestivo y es fermentado en el intestino grueso (Englyst et al., 1992).

El almidón de digestión rápida incrementa rápidamente los niveles de glucosa en la sangre y provoca un subsecuente episodio de hipoglucemia. Estas fluctuaciones generan un estrés en el sistema de regulación de la homeóstasis de glucosa, debido a que se producen respuestas hormonales y metabólicas alteradas que corresponden al aumento drástico de glucosa en sangre, esto trae implicaciones de tipo físico y mental que afectan al consumidor, ya que se genera una mayor cantidad de insulina como respuesta del organismo al tratar de metabolizar la glucosa que se encuentra en el torrente sanguíneo Lee et al. (2013). Una producción crónica de altos niveles de insulina provocan efectos perjudiciales en el cuerpo como altos niveles de triglicéridos en sangre, incremento en la deposición de grasa en el tejido adiposo, un incremento en la síntesis de grasa en el hígado y estimula el sobreconsumo pasivo de alimentos. Todo esto genera daños a nivel celular, de tejidos y órganos desencadenando enfermedades crónico-degenerativas como obesidad, diabetes, enfermedades cardiovasculares entre otras (Bello-Pérez et al., 2014b).

El almidón de digestión lenta produce un incremento sostenido y lento de glucosa postprandial en sangre, una respuesta insulinémica baja, no se presentan periodos de hipoglucemia y los niveles de ácidos grasos no esterificados en sangre se ven disminuidos, por lo que este tipo de almidón puede ser consumido por diabéticos. Además, la ingesta de almidón de digestión lenta origina un incremento de incretinas, hormonas que están relacionadas con la disminución del vaciamiento gástrico y la absorción de glucosa, así como ayudan a regular la ingesta de alimentos a nivel cerebral, produciendo un incremento en la saciedad. Este tipo de almidón se encuentra en almidones nativos, poco gelatinizados y en forma de complejos con las proteínas (Zhang y Hamaker et al., 2009).

El almidón resistente se define como la suma del almidón y sus productos de la degradación que no son absorbidos en el intestino de individuos sanos (Asp, 1992; Englyst, 1992), se clasifica en cinco tipos. El AR1 corresponde al almidón físicamente inaccesible, es indigestible debido a que se encuentra embebido en la matriz del alimento. El AR2 corresponde a las fracciones no gelatinizadas del almidón, sus características morfológicas y estructurales como el caso de almidones tipo B son pobremente susceptibles a la digestión enzimática. El AR3 es el almidón retrogradado y se forma en alimentos cocidos que son almacenados a temperaturas bajas, debido a que después de la gelatinización y el almacenamiento el almidón sufre una reorganización. El AR4 corresponde a los almidones modificados químicamente ya sea por eterificación, esterificación o entrecruzamiento lo que disminuye su digestibilidad. El AR5 se debe a la formación de los complejos amilosa-lípido, estos complejos son resistentes a la hidrólisis enzimática (Hasjim et al., 2013).

El AR se comporta fisiológicamente como fibra soluble pasando hasta el colon lo que limita la absorción de glucosa en el intestino delgado disminuyendo el aporte calórico total. El almidón resistente reemplaza una porción del almidón digerible y provoca una disminución en la absorción de glucosa y de la respuesta insulinémica (Bello-Pérez et al., 2014b).

Otro efecto benéfico del consumo de AR que ha sido estudiado en ratas es la disminución de colesterol y triglicéridos. Se ha especulado que el ácido



propiónico disminuye la síntesis hepática de colesterol por inhibición de la actividad de la hidroximetilglutaril coenzima A, o por la capacidad de atrapar a los ácidos biliares y excretarlos en las heces (Lee et al., 2013).

Osorio-Díaz et al. (2011) estudiaron la digestibilidad del almidón de tortillas elaboradas con maíces de endospermo suave, intermedio y duro. Las tortillas elaboradas con maíces de endospermo duro o vítreo tuvieron menor contenido de almidón disponible, mientras que las de maíces de endospermo suave o harinoso tuvieron mayor contenido de almidón rápidamente digerible.

Hernández-Urbe et al. (2007) reportaron que las tortillas de maíz pigmentado azul presentan un menor contenido de almidón disponible que las tortillas de maíz blanco. Adicionalmente en las tortillas de maíz azul el contenido de almidón resistente durante el almacenamiento aumenta en mayor cantidad que en las tortillas blancas. En conclusión las tortillas de maíz azul presentan una tasa de hidrólisis más lenta e índices glucémicos más bajos que las tortillas de maíz blanco. Las tortillas azules muestran una menor tendencia a la retrogradación que las tortillas blancas según la evaluación mediante diversas técnicas (DSC, difracción de rayos X y reología dinámica) hecha por Hernández-Urbe et al. (2010).

## IV. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la concentración de sales de calcio en la gelatinización del almidón durante el proceso tradicional y ecológico de nixtamalización.

### 4.2 Objetivos específicos

Evaluar el efecto de la concentración de cal  $[\text{Ca}(\text{OH})_2]$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{CaCO}_3$  y  $\text{CaSO}_4$  en las propiedades térmicas y reológicas del almidón de maíz durante el proceso de nixtamalización ecológico y tradicional.

Evaluar el efecto de la concentración de cal  $[\text{Ca}(\text{OH})_2]$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{CaCO}_3$  y  $\text{CaSO}_4$  en las propiedades térmicas y reológicas de las harinas nixtamalizadas elaboradas con el proceso de nixtamalización ecológico y tradicional.

Evaluar el efecto de la concentración de cal  $[\text{Ca}(\text{OH})_2]$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{CaCO}_3$  y  $\text{CaSO}_4$  en las propiedades térmicas y reológicas de las tortillas elaboradas con el proceso de nixtamalización ecológico y tradicional.

Estudiar la formación de almidón resistente y la digestibilidad de las tortillas, mediante el índice glucémico, hechas a partir del proceso ecológico de nixtamalización.

## V. METODOLOGÍA

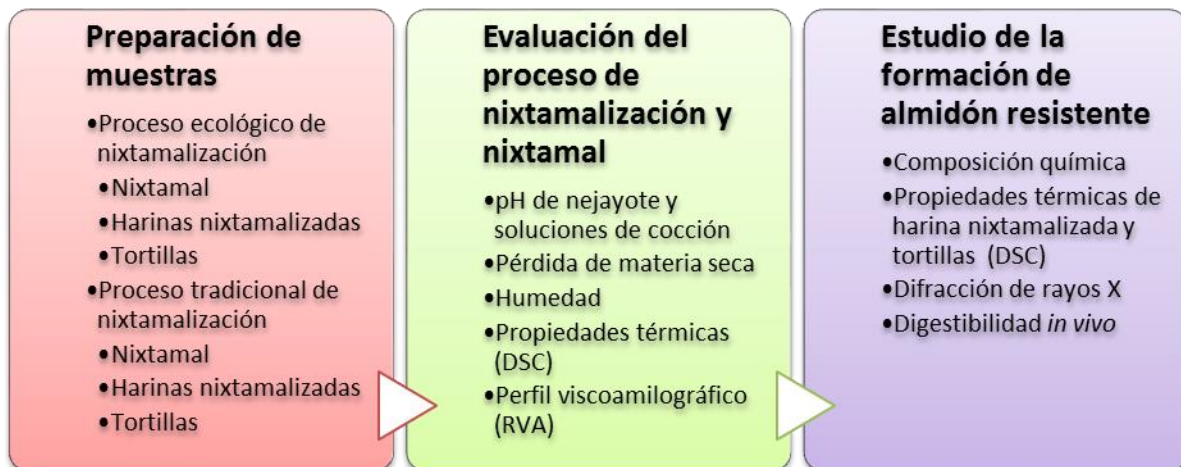
### 5.1 Materiales

Se utilizó un maíz blanco comercial de endospermo duro, el cual se obtuvo en un mercado de la ciudad de Querétaro, México. Se almacenó a 4 ° C y una humedad relativa del 65-100 %.

El hidróxido de calcio  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  y las sales: cloruro de calcio  $\text{CaCl}_2$ , sulfato de calcio  $\text{CaSO}_4$ , y carbonato de calcio  $\text{CaCO}_3$  fueron de una pureza del 97-99 % y grado alimenticio provistos por la empresa Alquimia Mexicana, S. de R.L.

### 5.2 Estrategia experimental

La experimentación consistió básicamente en tres etapas: la preparación de las muestras, la evaluación del nixtamal y el estudio de la formación de almidón resistente (Figura 11).



**Figura 11. Estrategia experimental.**

A continuación se detalla cómo y bajo qué condiciones se prepararon las muestras, cada una de las evaluaciones que se hicieron y las variables que se midieron.

### 5.3 Preparación de muestras

Se prepararon muestras de nixtamal, harina nixtamalizada y tortilla.

### **5.3.1 Proceso de nixtamalización**

El nixtamal se obtuvo mediante dos métodos de nixtamalización: tradicional y ecológico.

#### **5.3.1.1 Proceso tradicional de nixtamalización**

Un kilogramo de maíz se coció con dos litros de agua y diferentes concentraciones de hidróxido de calcio [0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4, 1.6, 1.8 y 2.0 % (p/p)], a 90 °C por 35 minutos, el nixtamal se dejó en reposo durante 16 horas a temperatura ambiente. Finalizadas las 16 horas, el nixtamal se lavó para eliminar el líquido de cocción (nejayote).

#### **5.3.1.2 Proceso ecológico de nixtamalización**

La harina se obtuvo de acuerdo al proceso patentado por Figueroa et al. (2011). El hidróxido de calcio se sustituye por sales de calcio, se utilizaron tres sales: carbonato de calcio, sulfato de calcio y cloruro de calcio. Un kilogramo de maíz se coció durante 35 minutos con 2 litros de agua y diferentes concentraciones de las sales de calcio seleccionadas [0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4, 1.6, 1.8 y 2.0 % (p/p)], los granos cocidos se dejaron reposar durante 16 horas a temperatura ambiente. Posteriormente el líquido de cocción se separó del grano cocido.

### **5.3.2 Preparación de harinas nixtamalizadas**

El nixtamal obtenido en ambos procesos se molió en un molino de piedras para obtener la masa fresca. La masa se deshidrató en un secador flash a 260 °C durante 4 segundos para obtener una harina deshidratada. Posteriormente, esta harina se molió en un molino (Pulvex-200, México, D. F.) utilizando una malla de 0.5 mm. Las harinas se guardaron en bolsas de polietileno para su posterior análisis.

### **5.3.3 Elaboración de las tortillas**

De cada una de las harinas nixtamalizadas se pesaron 250 gramos y se mezclaron con agua hasta obtener una masa con las características adecuadas para la elaboración de tortillas. En una tortilladora de rodillos manual (calibrada con lanas para obtener una abertura de 1.2 mm) se elaboró una tortilla de 1.194 mm de espesor, las cuales se cocieron en una comal a una temperatura de 280 °C por 25 segundos de un lado (para formar la capa delgada), 20 segundos por el otro lado y finalmente se voltearon al lado inicial por 15 segundos para lograr el inflado (Mauricio et al., 2004).

## **5.4 Evaluación de parámetros del proceso de nixtamalización y análisis del nixtamal**

### **5.4.1 pH del nejayote y de la solución de cocción**

Se mezcló cuidadosamente la muestra de nejayote (proceso tradicional de nixtamalización) o solución de cocción (proceso ecológico de nixtamalización) hasta su homogeneización, a temperatura ambiente.

Se calibró el potenciómetro con las soluciones reguladoras de pH 4, pH 7 y pH 10. Posteriormente se tomó una porción de la muestra, se mezcló bien y se sumergió el electrodo en la muestra de manera que quedara cubierto perfectamente. El valor del pH de la muestra se leyó directamente en la escala del potenciómetro. La determinación se hizo por duplicado.

### **5.4.2 Pérdida de materia seca**

Al terminar la nixtamalización y la etapa de reposo, el nixtamal fue separado del nejayote o de la solución de cocción y los granos se enjuagaron con 200 mL de agua. Tanto el nejayote como la solución de lavado se recuperaron y se midió el volumen total. Posteriormente se tomaron 50 mL de esa solución y se depositaron en canastillas de aluminio, previamente pesadas, las cuales se dejaron durante 24 horas en una estufa de circulación de aire a 90 °C para que se evaporara toda el agua. Finalmente se pesó el recipiente con la materia seca y la pérdida de materia seca se calculó de la siguiente manera:

$$\text{Pérdida de materia seca (\%)} = \frac{\text{Peso de materia seca} \times \text{volumen total de nejayote}}{\text{Alícuota de nejayote}}$$

#### **5.4.3 Humedad de nixtamal**

La humedad del nixtamal se determinó en dos gramos de muestra previamente triturada y homogenizada con el método 44-15.02 de la AACC (AACC International, 2000).

#### **5.4.4 Propiedades reológicas (Perfil de viscosidad)**

Para realizar el perfil de viscosidad, las muestras de nixtamal se trituraron y secaron a temperatura ambiente por 48 horas. Posteriormente esas muestras se molieron hasta harina y tamizaron con la malla US 60 (250  $\mu\text{m}$ ). La curva viscoamilográfica se determinó con un equipo Rapid Visco Analyzer Super 4 (Newport Scientific PTY LTD, Sydney, Australia), mediante el método citado por Narváez et al. (2006). Se pesaron 4 g de harina previamente molida y cribada con la malla US 60 (250  $\mu\text{m}$ ) y se suspendieron en 24 mL de agua destilada. La mezcla se calentó de 50 a 92 °C por 8.5 min, luego se mantuvo a 92 °C por 5 min y se enfrió a 50 °C por 8.5 min. Durante el desarrollo de esta prueba la computadora registró automáticamente la viscosidad en cP y la temperatura (°C) de la muestra contra el tiempo (min), resultando una curva de viscosidad (gelatinización-retrogradación) llamada también viscoamilograma. Con estos datos se determina la temperatura inicial de gelatinización (temperatura de pasting), pico de viscosidad máxima, tiempo al pico de viscosidad máxima, la viscosidad mínima, la viscosidad final y la viscosidad de retrogradación.

#### **5.4.5 Propiedades térmicas**

Se realizaron con el método citado por Narváez et al. (2006) utilizando un calorímetro diferencial de barrido (DSC Mettler Toledo Mod. 821). Se colocaron 3.0 mg de material molido y cribado en la malla US 60 en un charola de aluminio agregando 7  $\mu\text{L}$  de agua destilada. La charola se selló con una prensa Mettler Toledo. Las muestras se calentaron de 30 a 110 °C a razón de 10 °C por minuto.

De los termogramas se determinó: temperatura inicial ( $T_o$ ), temperatura pico ( $T_p$ ) y temperatura final de gelatinización ( $T_f$ ), además de la entalpía ( $\Delta H$ ).

Con el uso de la entalpía de gelatinización del almidón de maíz nativo ( $\Delta H_m$ ), el grado de gelatinización (GG) del nixtamal ( $\Delta H_n$ ) se determinó según el método propuesto por Baks et al. (2007).

$$GG = \left(1 - \frac{\Delta H_n}{\Delta H_m}\right) * 100$$

## **5.5 Evaluación de harinas nixtamalizadas**

### **5.5.1 Propiedades térmicas**

Las propiedades térmicas de las harinas (temperatura inicial, pico y final de gelatinización y entalpía de gelatinización) se determinaron con el método descrito por Narváez et al. (2006) descrito en la sección anterior.

### **5.5.2 Perfil de viscosidad**

El perfil de viscosidad y las propiedades reológicas se evaluaron con el método descrito por Narváez et al. (2006) descrito en la sección de propiedades reológicas de nixtamal.

## **5.6 Evaluación de tortillas**

### **5.6.1 Propiedades térmicas**

Las propiedades térmicas de las tortillas (temperatura inicial, pico y final de gelatinización y entalpía de gelatinización) se determinaron con el método descrito por Narváez et al. (2006).

### **5.6.2 Perfil de viscosidad**

El perfil de viscosidad y las propiedades reológicas de la tortilla se evaluaron con el método descrito por Narváez et al. (2006) descrito en la sección de propiedades reológicas de nixtamal.

## **5.7 Estudio de la formación de almidón resistente y la digestibilidad de las tortillas**

Después de la comparación de las propiedades térmicas de los diferentes tratamientos de tortilla, una muestra de cada sal de calcio con la entalpía más alta se seleccionó para una caracterización adicional y pruebas de índice glucémico *In vivo*.

### **5.7.1 Almidón total, almidón resistente y almidón disponible**

El contenido de almidón total se determinó utilizando el kit de Megazyme® (Megazyme Internacional Ireland, Ltd. Wicklow, Irlanda) basado en el método 76-13.01 de la AACC (AACC International, 2000). El contenido de almidón resistente se determinó utilizando el kit de Megazyme® basado en el método AACC 32-40.01 (AACC International 2000). El almidón disponible se determinó como la diferencia entre el almidón total y el almidón resistente.

El contenido de almidón resistente retrogradado (AR3) se determinó a partir de los restos de almidón en los residuos de fibra dietaria, de acuerdo con la metodología Saura-Calixto et al. (1993).

### **5.7.2 Composición química de las tortillas**

La humedad de las tortillas se determinó por el método de 44-15.02, la proteína se determinó a partir del contenido de nitrógeno por el método Kjeldahl ( $N \times 6.25$ ) (método 46-16.01), las cenizas se determinaron por combustión de la muestra (método 08-01.01), los lípidos por extracción con éter de petróleo (método 30-25.01), y la fibra dietaria soluble, insoluble y total de acuerdo al método de 32-07.01 (AACC International, 2000).

### **5.7.3 Análisis de difracción de rayos X**

Todas las muestras para análisis de difracción de rayos X contenían 7 % de humedad. Las muestras fueron puestas en una superficie de vidrio y escaneadas desde 5 hasta 50° sobre la escala 2 $\theta$  utilizando un difractómetro de rayos X Rigaku DMAX-2100, el cual opera a 30 kV y 16 mA con una radiación de



CuK $\alpha$  de  $\lambda = 1.5405$ . Las distancias interplanares ( $d$ ) de los picos se calcularon usando la ecuación de Bragg  $n\lambda = 2d \sin\theta$  (Figueroa et al., 2013b).

#### **5.7.4 Índice glucémico *In vivo***

El índice glucémico se determinó *In vivo* siguiendo el método reportado por Novotni et al. (2012). En el estudio participaron ocho personas voluntarias (seis mujeres y dos hombres), todos sanos y con una edad de entre 22 y 34 años. Sus niveles de glucosa en sangre fueron normales y el índice de masa corporal fue de de 21 a 25 kg/m<sup>2</sup>. Todos los voluntarios fueron personas no fumadores y ninguno tenía antecedentes de alguna enfermedad metabólica, lo cual se determinó por el estilo de vida y el cuestionario realizado antes del reclutamiento. Los sujetos fueron informados de los detalles del protocolo del estudio y dieron su consentimiento previo a la participación.

El estudio se realizó después de un ayuno de 12 horas. A cada uno de los participantes se le dio una porción de tortillas, equivalente a 50 gramos de carbohidratos, entre 09:30 y 10:00 de la mañana. Las porciones fueron consumidas durante los primeros 15 minutos, junto con la porción de alimento se les proporcionaron 250 mL de agua.

Todos los voluntarios consumieron una solución de glucosa como referencia que se preparó disolviendo 50 g de glucosa anhidra pura en 250 ml de agua.

Se tomaron muestras de sangre por punción capilar de cada uno de los participantes a los 0, 15, 30, 45, 60, 90 y 120 min después de la ingesta de la porción de tortillas (tiempo 0). Las concentraciones de glucosa en sangre se midieron utilizando un medidor de glucosa en sangre OneTouch® UltraMini® (modelo no. 7160A, LifeScan, Inc., EE.UU.).

Se graficó la concentración de glucosa contra el tiempo y se determinó el área bajo la curva (ABC) utilizando el software GraphPad Prism 5, la línea base se tomó en 80 mg/dL. El índice glucémico de las tortillas se calculó como la relación entre la media del ABC de cada tortilla probada entre la media del ABC del

alimento de referencia (solución de glucosa). Los resultados se expresaron como la media  $\pm$  la desviación estándar.

### **5.8 Diseño experimental y análisis estadístico**

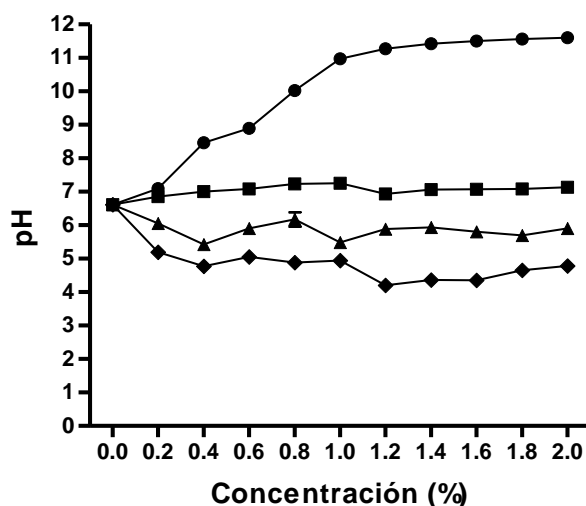
Se utilizó un diseño completamente al azar para cada tipo de compuesto, en donde la variable independiente fue el tipo de compuesto químico a utilizar a diferentes niveles (0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4, 1.6, 1.8, 2.0) %. Para determinar diferencias estadísticas en las propiedades calorimétricas y reológicas del almidón se aplicó una análisis de varianza (ANDEVA) de una vía, a un nivel de significancia de 5 % ( $\alpha = 0.05$ ). Cuando se encontraron diferencias estadísticas significativas se utilizó una prueba de comparaciones múltiples mediante la prueba de Tukey, empleando el paquete estadístico SAS.

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 6.1 Parámetros del proceso de nixtamalización

#### 6.1.1 pH del nejayote y solución de cocimiento

El pH al cual se lleva a cabo el proceso de nixtamalización es uno de los principales factores que influyen en la estabilidad y degradación de los compuestos nutraceuticos del grano de maíz, principalmente antocianinas (Salinas-Moreno et al., 2003; Escalante-Aburto et al., 2013; Rodríguez et al., 2013). El efecto de la concentración de cal y sales de calcio en el pH de la solución de cocimiento se muestra en el Figura 12.



**Figura 12. pH del nejayote y solución de cocimiento del proceso de nixtamalización tradicional (●)  $\text{Ca(OH)}_2$ , y ecológico (■)  $\text{CaCO}_3$ , (▲)  $\text{CaSO}_4$ , (◆)  $\text{CaCl}_2$ .**

Se puede observar que el pH del nejayote en el proceso tradicional depende directamente de la concentración de  $\text{Ca(OH)}_2$  que se utilice, la correlación entre ambas variables fue de 0.93 ( $P < 0.01$ ). El maíz cocido únicamente con agua, sin cal, presentó un pH de 6.61, el cual aumentó progresivamente al incrementar la concentración de cal hasta alcanzar un máximo de 11.6 al utilizar 2.0 % de cal (Figura 12). En la industria de la masa y la tortilla, la industria de harinas nixtamalizadas y en la preparación de tortillas para autoconsumo se utilizan concentraciones de cal del 0.8 % o superiores

(Pflugfelder et al., 1988; Bressani, 2008), lo que convierte al nejayote en una solución fuertemente alcalina, es así como varios autores reportan valores de pH en el rango de 10.5 a 12.0, esto depende además del tipo de maíz utilizado, del tiempo cocimiento, del tiempo de reposo y del lavado del nixtamal (Trejo-González et al., 1982; Campechano et al., 2012).

Por su parte el proceso ecológico de nixtamalización produce soluciones de cocimiento con valores de pH cercanos a la neutralidad y ácidos (Figura 12). En los tratamientos con  $\text{CaCO}_3$  el pH varió de 6.86 a 7.24, en el proceso con  $\text{CaSO}_4$  se obtuvieron valores de 5.41 a 6.32 y en los tratamientos con  $\text{CaCl}_2$  se encontraron valores de 4.20 a 5.21. Estos resultados son similares a los reportados por Campechano et al. (2012) y Rodríguez et al. (2013). La correlación entre la concentración de  $\text{CaCO}_3$  y el pH ( $r = 0.53$ ,  $P < 0.01$ ) indica que a medida que se incrementa la concentración de este compuesto aumenta también el pH, mientras que para el caso de  $\text{CaSO}_4$  ( $r=-0.37$ ,  $P < 0.01$ ) y  $\text{CaCl}_2$  ( $r=-0.68$ ,  $P < 0.01$ ) se observa que a medida que aumenta la concentración el pH disminuye.

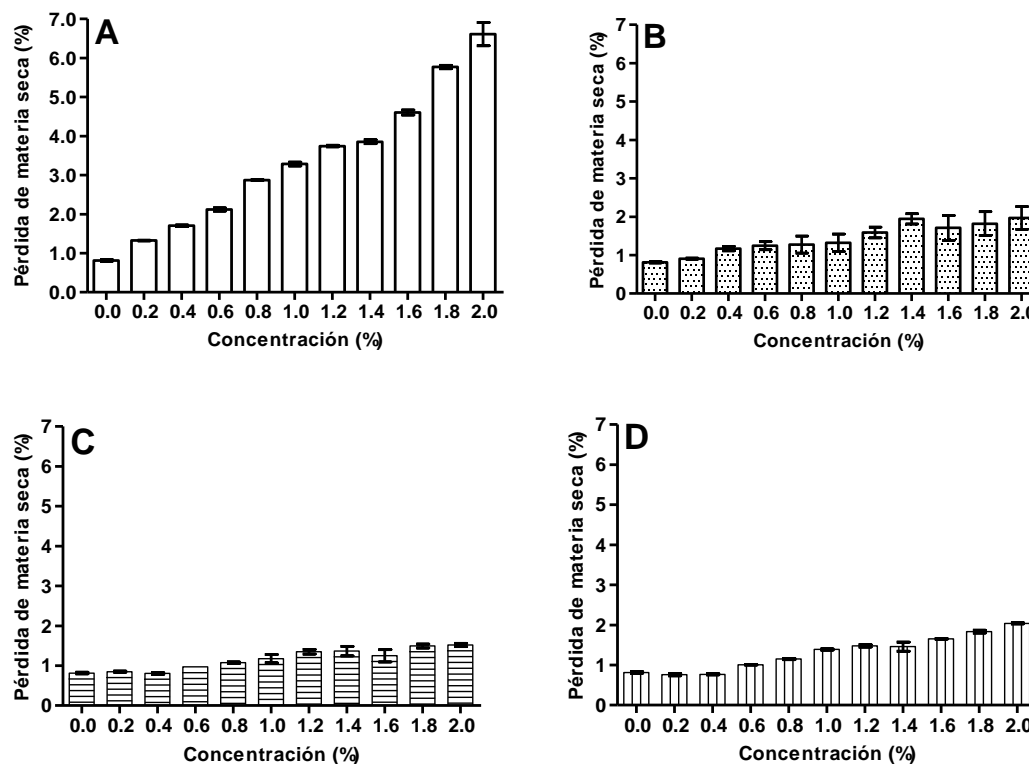
Los valores de pH obtenidos a diferentes concentraciones de sales en el proceso ecológico de nixtamalización representan una ventaja sobre el proceso tradicional ya que los compuestos nutraceuticos como el ácido ferúlico y las antocianinas sufren una menor liberación y degradación a valores de pH cercanos a la neutralidad o ácidos (Rodríguez et al., 2013)

### **6.1.2 Pérdida de materia seca**

Uno de los grandes problemas del proceso tradicional de nixtamalización es la gran cantidad de agua que se utiliza durante el proceso y el alto nivel de sólidos que se descartan por el cocimiento y el lavado del nixtamal (Campechano et al., 2012). El principal componente del grano que se pierde durante el proceso es el pericarpio o los polisacáridos diferentes del almidón (20.0 a 70.0 %) y con él los principales compuestos fenólicos y nutraceuticos presentes en esta capa del grano. El segundo componente en importancia que se pierde durante el proceso es el almidón, Pflugfelder et al. (1988) reportaron pérdidas de hasta 32.0 % de

este polisacárido. La pérdida de proteínas se encuentra en el rango de 1.0 a 3.0 % y la pérdida de lípidos es del 11.0 a 19.0 %, esto debido principalmente a la pérdida del germen durante el manejo del nixtamal en el proceso. Lo anterior representa pérdidas económicas para los procesadores y un problema de contaminación de los efluentes que es necesario resolver.

En la Figura 13 se presenta la pérdida de materia seca del proceso tradicional y ecológico a diferentes concentraciones de cal y sales de calcio utilizadas.



**Figura 13. Pérdida de materia seca por el proceso de nixtamalización. A) Proceso tradicional con Ca(OH)<sub>2</sub>, B) Proceso ecológico (PEN) con CaCO<sub>3</sub>, C) PEN con CaSO<sub>4</sub>, D) PEN con CaCl<sub>2</sub>.**

El maíz cocido solo en agua presentó pérdidas del 0.81 % en promedio que pudieran deberse a la lixiviación y solubilización de compuestos de bajo peso molecular como los minerales o algunas proteínas solubles en agua como las albúminas. En el proceso tradicional de nixtamalización las pérdidas de materia

seca fueron desde 1.32 % hasta 6.82 %, se observa claramente como la concentración de cal influye en la pérdida de compuestos del grano durante el proceso de nixtamalización ( $r = 0.98$ ,  $P < 0.01$ ). En un estudio realizado por Pflugfelder et al. (1988) en dos industrias productoras de tortilla y totopos encontraron que las pérdidas de materia seca estuvieron entre 4.42 y 12.53 % y éstas dependieron del tipo de maíz utilizado y las condiciones de procesamiento, entre ellas las altas cantidades de cal utilizadas en el proceso (0.8-6.25 %). Campechano et al. (2012) y Rodríguez et al. (2013) encontraron pérdidas en el proceso tradicional de entre 3.2 y 7.25 % usando 1.0 % de cal, estas diferencias se atribuyen al tipo de maíz utilizado, la dureza del endospermo, la calidad del grano, el tiempo y la temperatura de cocimiento y el tiempo de reposo. Como se mencionó anteriormente las pérdidas se deben principalmente a la pérdida del pericarpio y sus componentes, pérdida de almidón, proteínas y lípidos y a la cal no absorbida por el grano.

En el proceso ecológico de nixtamalización el cocimiento con  $\text{CaCO}_3$  presentó las mayores pérdidas (0.90-2.18%), seguido de los tratamientos con  $\text{CaCl}_2$  (0.74-2.05 %) y las menores pérdidas se registraron en los tratamientos con  $\text{CaSO}_4$  (0.82-1.55 %) (Figura 13). Resultados similares fueron encontrados por Campechano et al. (2012) y Rodríguez et al. (2013). También se encontró una alta correlación entre la concentración de la sal utilizada y la pérdida de materia seca, para  $\text{CaCO}_3$   $r=0.97$  ( $P < 0.01$ ), para  $\text{CaSO}_4$  la correlación fue de 0.93 ( $P < 0.01$ ) y para  $\text{CaCl}_2$  de 0.98 ( $P < 0.01$ ).

Las mayores pérdidas obtenidas en el proceso ecológico con  $\text{CaCO}_3$ , respecto a los procesos con  $\text{CaCl}_2$  y  $\text{CaSO}_4$  podrían deberse a que durante la disociación del  $\text{CaCO}_3$  en agua se producen iones  $\text{OH}^-$  los cuales hidrolizan parte de los componentes del pericarpio y liberan compuestos presentes en esta capa del grano. Esto fue confirmado anteriormente por Campechano et al. (2012) quienes encontraron que entre las variantes del proceso ecológico, el proceso con  $\text{CaCO}_3$  fue el que presentó la mayor pérdida de fibra dietaria total (23.6 %), principalmente fibra dietaria insoluble (17.4 %), respecto a las demás variantes del proceso que presentaron pérdidas menores de a 19.6% y 11.6 %

respectivamente, y esa fibra corresponde a los componentes del pericarpio hidrolizado.

En el caso del proceso ecológico con  $\text{CaCl}_2$  las pérdidas de materia seca se atribuyen de manera importante a la pérdida de proteínas (Campechano et al., 2012) y esto se debe al efecto de las sales en la solubilidad de las proteínas, ya que de acuerdo con las series de Hofmeister (liotrópica), los aniones acoplados a un catión constante, por ejemplo el calcio ( $\text{Ca}^{++}$ ), aumentan la solubilidad de las proteínas en el orden  $\text{CO}_3^{2-} < \text{SO}_4^{2-} < \text{Cl}^-$  (Jane, 1993; Zhang y Cremer, 2006).

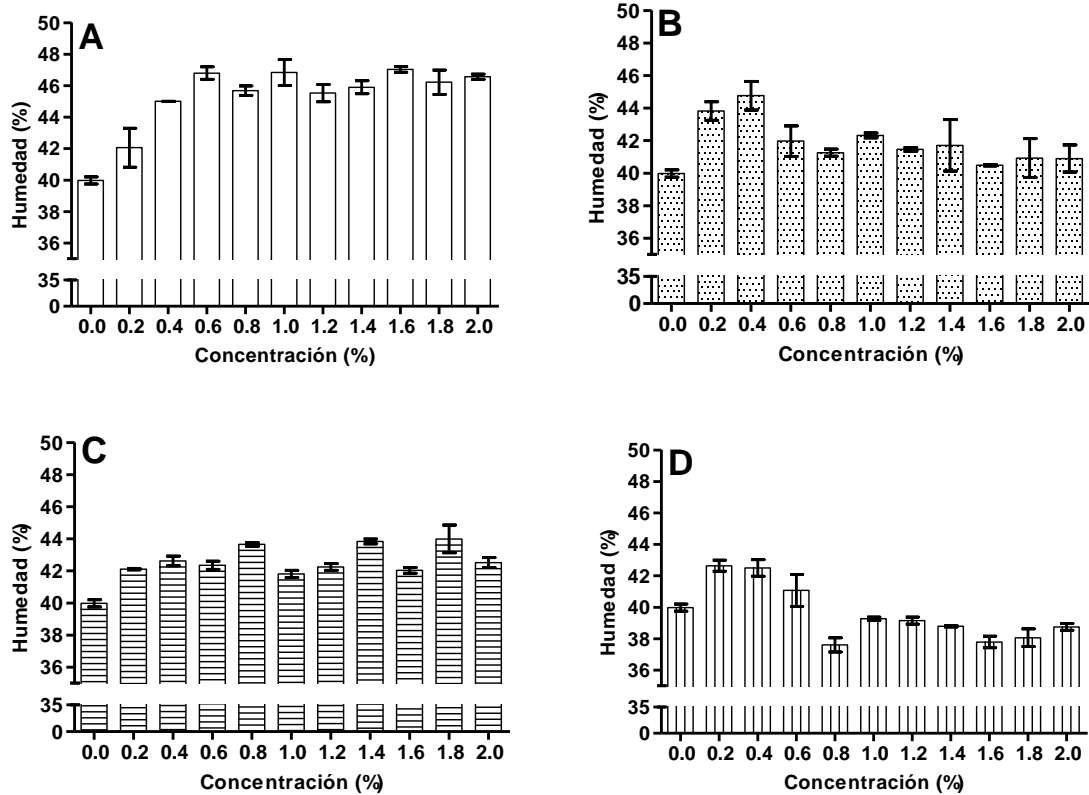
Las bajas pérdidas de materia seca obtenidas en el proceso ecológico con  $\text{CaSO}_4$  se deben a que este compuesto presenta un menor efecto sobre la estabilidad de las proteínas y la hidrólisis del pericarpio, aunque estas pérdidas no fueron estadísticamente significativas con respecto a las demás variantes del proceso.

### **6.1.3 Humedad del nixtamal**

El tiempo de cocción, el tiempo de remojo en la solución alcalina y los rendimientos del producto son diferentes dependiendo de la variedad de maíz utilizada en el procesamiento. Un maíz con un endospermo duro o corneo requiere de un tiempo de cocción más largo que un maíz de endospermo suave o harinoso (Jackson et al., 1988). Khan et al. (1982) y Bedolla y Rooney (1982) establecen que la humedad óptima del nixtamal para la producción de tortillas por el método tradicional de nixtamalización a nivel de autoconsumo debe ser de alrededor del 51.0-52.0 % y para la producción a nivel comercial del 45.0 %, por su parte Johnson et al. (2010) indican que la humedad óptima del nixtamal para producir masa con una plasticidad, cohesividad y maquinabilidad aceptable debe ser de 48 a 50 %.

En México la norma NMX-FF-034/1-SCFI-2002 (SE, 2002) establece como parámetro de calidad en la producción de harinas nixtamalizadas un contenido de humedad en nixtamal entre 36.0 y 42.0 %.

En la Figura 14 se muestra el contenido de humedad del nixtamal obtenido a diferentes concentraciones de cal y sales de calcio.



**Figura 14. Contenido de humedad en nixtamal. A) Proceso tradicional con  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , B) Proceso ecológico (PEN) con  $\text{CaCO}_3$ , C) PEN con  $\text{CaSO}_4$ , D) PEN con  $\text{CaCl}_2$ .**

El maíz cocido en agua presentó un contenido de humedad en nixtamal de 40 %, con el uso de hidróxido de calcio en el proceso tradicional el contenido de humedad aumenta en el rango de 42.0 a 47.0 % dependiendo de la concentración de cal utilizada (Figura 14A). Resultados similares fueron reportados por Sefa-Dedeh et al. (2004), quienes reportaron un contenido de humedad en nixtamal cocido solo con agua del 40.0 %, mientras que el nixtamal cocido en soluciones de cal a concentraciones de entre 0.33 y 1.0 % presentó humedades del 40.0 al 45.0 %. Los mismos autores reportan un máximo de absorción de agua a concentraciones de 0.5 % de cal. En este estudio el máximo se obtuvo a una concentración de 0.6 % de cal.



En el proceso ecológico con  $\text{CaCO}_3$  el contenido de humedad del nixtamal varía entre 40.5 y 44.7 %, en el proceso con  $\text{CaSO}_4$  varió entre 41.8 y 44.0 %, y en el proceso con  $\text{CaCl}_2$  se obtuvieron los valores más bajos (37.7-41.7 %).

Cabe destacar que, en este experimento, en todos los tratamientos se utilizó el mismo tipo de maíz, el mismo tiempo (35 min) y temperatura de cocimiento ( $94^\circ\text{C}$ ) y el mismo tiempo de reposo (16 h) por lo que las diferencias se atribuyen al efecto de las sales en el grano de maíz durante el proceso de nixtamalización.

En primer lugar se puede observar que el contenido de humedad en el nixtamal sigue el mismo comportamiento que la pérdida de materia seca, el proceso de nixtamalización que presentó una mayor pérdida de materia seca presentó también un mayor contenido de humedad en nixtamal, mientras que el proceso ecológico con  $\text{CaCl}_2$  presentó las menores pérdidas de materia seca y los contenidos de humedad más bajos. Lo anterior tiene lógica debido a que si hay una mayor hidrólisis y degradación del pericarpio y la capa de aleurona, habrá una mayor penetración del agua hacia el interior del grano.

Sin embargo este comportamiento no es proporcional a la concentración de cal o de sal utilizada ya que como se puede apreciar en la Figura 14, a mayor concentración de sal de calcio la humedad en el nixtamal no incrementa sino que en cada uno de los procesos existe un valor máximo. De acuerdo con Rodríguez et al. (1996) y Sefa-Dedeh et al. (2004) este comportamiento se debe a las interacciones  $\text{Ca}^{2+}$ -almidón y  $\text{Ca}(\text{OH})^+$ -almidón, a altas concentraciones de cal o sales de calcio los sitios hidroxilo del almidón de maíz podrían saturarse, dando como resultado una disminución en la absorción de agua. Este efecto se puede observar claramente en el proceso ecológico con  $\text{CaCl}_2$ , una sal que se disocia fuertemente en agua, lo que provoca una mayor interacción entre los iones  $\text{Ca}^{2+}$  y los grupos hidroxilo del almidón causando una baja absorción de agua.

## **6.2 Propiedades reológicas y térmicas del nixtamal**

### **6.2.1 Propiedades reológicas del nixtamal**

El tratamiento con térmico-alkalino utilizado en el proceso tradicional de nixtamalización actúa en los componentes de la pared celular hidrolizando el pericarpio y convirtiendo la hemicelulosa en gomas solubles, lo que provoca gran parte de las pérdidas de materia seca como ya se observó anteriormente. Adicionalmente, el proceso de nixtamalización tiene otros efectos tales como la gelatinización del almidón, la saponificación de los lípidos, y la solubilización de algunas proteínas que rodean los gránulos de almidón.

El proceso de nixtamalización proporciona las propiedades reológicas y de textura de la masa y los productos que se elaboran con ella, por esta razón el proceso de gelatinización debe ser controlado cuidadosamente debido a que grandes cantidades de almidón gelatinizado en el nixtamal pueden producir masas muy pegajosas, lo que afecta su manejo (Méndez-Montealvo et al., 2006). En los Cuadros 4, 5, 6 y 7 se muestran las propiedades reológicas del nixtamal obtenido por el proceso tradicional y el proceso ecológico de nixtamalización a diferentes concentraciones de cal y sales de calcio.

**Cuadro 4. Propiedades reológicas del nixtamal obtenido por el proceso tradicional de nixtamalización con  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ <sup>a,b</sup>.**

Concentración (%)	TP (°C)	TPV (min)	VP	VM	VF
			(cP)		
0.0	73.38 a	8.90 a	2343 e	1880 ab	5005 a
0.2	72.85 ab	8.77 a	2551 de	1878 ab	4935 a
0.4	73.15 ab	8.62 a	2581 cde	1738 b	5063 a
0.6	73.03 ab	8.69 a	2571 cde	1898 ab	5139 a
0.8	72.80 ab	8.54 a	2809 bcde	1969 ab	5285 a
1.0	72.40 ab	8.90 a	2852 bcde	2125 ab	5280 a
1.2	72.95 ab	8.80 a	2881 bcde	2209 a	5147 a
1.4	72.98 ab	8.52 a	3186 abcd	2158 a	5179 a
1.6	73.25 a	8.70 a	3056 abcd	1848 ab	5437 a
1.8	71.90 b	8.39 a	3424 ab	2087 ab	5273 a
2.0	73.00 ab	8.57 a	3234 abc	1919 ab	4732 a
Maíz	70.38 c	7.98 b	3691 a	1922 ab	5157 a

<sup>a</sup>TP=temperatura de inicio de la gelatinización, TPV=tiempo de alcance del pico de viscosidad, VP=viscosidad pico o máxima, VM=viscosidad mínima, VF=viscosidad final.

<sup>b</sup>Medias con letras diferentes en la misma columna son estadísticamente diferentes ( $P \leq 0.05$ ).

**Cuadro 5. Propiedades reológicas del nixtamal obtenido por el proceso ecológico de nixtamalización con  $\text{CaCO}_3$ <sup>a,b</sup>.**

Concentración (%)	TP (°C)	TPV (min)	VP	VM	VF
			(cP)		
0.0	73.38 ab	8.90 a	2343 b	1880 ab	5005 a
0.2	73.48 ab	8.67 a	2416 b	1796 ab	5268 a
0.4	73.28 ab	9.13 a	2691 b	1751 b	5498 a
0.6	73.50 a	8.73 a	2710 b	1876 ab	5465 a
0.8	72.73 ab	8.67 a	2814 b	1706 b	5562 a
1.0	73.53 a	8.73 a	2452 b	1675 b	4784 a
1.2	73.38 ab	9.10 a	2667 b	1719 b	5274 a
1.4	72.95 ab	9.18 a	2477 b	1686 b	4847 a
1.6	73.28 ab	9.04 a	2551 b	1644 b	5024 a
1.8	72.68 ab	8.95 a	2824 b	1729 b	5335 a
2.0	72.55 b	9.05 a	2746 b	2215 a	5130 a
Maíz	70.38 c	7.98 b	3691 a	1922 ab	5157 a

<sup>a</sup>TP=temperatura de inicio de la gelatinización, TPV=tiempo de alcance del pico de viscosidad, VP=viscosidad pico o máxima, VM=viscosidad mínima, VF=viscosidad final.

<sup>b</sup>Medias con letras diferentes en la misma columna son estadísticamente diferentes ( $P \leq 0.05$ ).

**Cuadro 6. Propiedades reológicas del nixtamal obtenido por el proceso ecológico de nixtamalización con  $\text{CaSO}_4$ <sup>a,b</sup>.**

Concentración (%)	TP (°C)	TPV (min)	VP	VM	VF
			(cP)		
0.0	73.38 c	8.90 b	2343 b	1880 a	5005 ab
0.2	73.83 bc	8.60 b	1974 b	1601 a	4159 bc
0.4	75.08 a	9.33 b	1852 b	1692 a	3913 c
0.6	75.30 a	8.97 b	1935 b	1612 a	3975 c
0.8	74.80 ab	9.30 b	2156 b	1722 a	4349 abc
1.0	74.90 ab	9.03 b	1985 b	1802 a	4014 c
1.2	74.23 abc	9.04 b	2149 b	1605 a	4273 abc
1.4	75.10 a	9.00 b	2118 b	1554 a	4129 bc
1.6	74.58 ab	8.90 b	2140 b	1789 a	4248 abc
1.8	74.58 ab	8.97 b	2161 b	1608 a	4177 bc
2.0	73.85 bc	8.77 b	2332 b	1706 a	4104 bc
Maíz	70.38 d	7.98 a	3691 a	1922 a	5157 a

<sup>a</sup>TP=temperatura de inicio de la gelatinización, TPV=tiempo de alcance del pico de viscosidad, VP=viscosidad pico o máxima, VM=viscosidad mínima, VF=viscosidad final.

<sup>b</sup>Medias con letras diferentes en la misma columna son estadísticamente diferentes ( $P \leq 0.05$ ).

**Cuadro 7. Propiedades reológicas del nixtamal obtenido por el proceso ecológico de nixtamalización con CaCl<sub>2</sub><sup>a,b</sup>.**

Concentración (%)	TP (°C)	TPV (min)	VP	VM	VF
			(cP)		
0.0	73.38 bc	8.90 a	2343 b	1880 a	5005 ab
0.2	74.95 abc	9.20 a	2014 b	1455 a	4100 abc
0.4	75.73 ab	9.10 a	2042 b	1550 a	4080 abc
0.6	72.73 cd	8.80 a	2140 b	1502 a	3919 bc
0.8	74.93 abc	9.07 a	2050 b	1622 a	4082 abc
1.0	75.13 abc	8.97 a	2266 b	1774 a	4309 abc
1.2	75.53 ab	9.00 a	2077 b	1651 a	4125 abc
1.4	76.55 a	9.14 a	1905 b	1616 a	3855 c
1.6	74.78 abc	8.94 a	2281 b	1752 a	4379 abc
1.8	75.48 abc	9.07 a	2066 b	1631 a	4113 abc
2.0	74.58 abc	8.97 a	2241 b	1706 a	4364 abc
Maíz	70.38 d	7.98 b	3691 a	1922 a	5157 a

<sup>a</sup>TP=temperatura de inicio de la gelatinización, TPV=tiempo de alcance del pico de viscosidad, VP=viscosidad pico o máxima, VM=viscosidad mínima, VF=viscosidad final.

<sup>b</sup>Medias con letras diferentes en la misma columna son estadísticamente diferentes ( $P \leq 0.05$ ).

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la temperatura de inicio de gelatinización (TP), el tiempo para alcanzar el pico de viscosidad (TPV) y en el pico de viscosidad (PV) entre las diferentes concentraciones en cada proceso.

El almidón de maíz nativo sin nixtamalizar tuvo una temperatura de inicio de gelatinización de 70.4 °C, el cocimiento del maíz en agua aumentó esta temperatura 3 °C. En el proceso tradicional de nixtamalización la temperatura de inicio de la gelatinización aumentó entre 1.5 y 3.0 °C, por su parte en el proceso ecológico de nixtamalización este parámetro tuvo un aumento de 2.1-3.2 °C con CaCO<sub>3</sub>, 3.4-5.0 °C con CaSO<sub>4</sub>, y 2.3-6.2 °C con CaCl<sub>2</sub>, respecto a la temperatura de inicio de gelatinización del almidón nativo (Cuadros 4, 5, 6 y 7). El aumento del tiempo para alcanzar el pico de viscosidad fue en promedio de 0.6 min para el proceso tradicional, 0.95, 0.99 y 1.1 para el proceso ecológico en las variantes de CaCO<sub>3</sub>, CaSO<sub>4</sub> y CaCl<sub>2</sub>, respectivamente.

De acuerdo con Méndez-Montealvo et al. (2006), quienes encontraron el mismo comportamiento en su investigación, el desplazamiento hacia valores más altos de la temperatura de inicio de la gelatinización y el tiempo para alcanzar el pico de viscosidad se debe al fenómeno de templado (annealing). El templado se define como un tratamiento del almidón en exceso de agua (> 65 % p/p) o en un contenido de humedad intermedio (40-55 % p/p), a una temperatura por debajo de la temperatura de inicio de la gelatinización (Jayakody y Hoover, 2008). En el proceso de nixtamalización el proceso de templado se presenta durante el periodo de reposo el cual puede ser de varias horas, en esta investigación el reposo duró 16 horas.

Otros efectos importantes de templado en las propiedades reológicas del almidón de nixtamal fueron la disminución del pico de viscosidad y en algunos tratamientos la disminución de la viscosidad final (Cuadros 4, 5, 6 y 7), ambos fenómenos también reportados por Mendez-Montealvo et al. (2006). De acuerdo con estos autores los valores de pico de viscosidad y viscosidad final del almidón de nixtamal menores al del almidón de maíz nativo se debe a que durante la nixtamalización una cierta cantidad de cadenas de amilosa (de los gránulos presentes en la periferia del endospermo del grano) son solubilizados, lo cual provoca que la contribución de esta molécula en la viscosidad del sistema sea menor.

Jayakody y Hoover (2008) coinciden en que los valores de viscosidad más bajos y el incremento en la estabilidad térmica se atribuyen a una reducción del hinchamiento de los gránulos de almidón, a la lixiviación de amilosa y al aumento de la interacción entre las cadenas de almidón durante el templado. La reducción del hinchamiento de los gránulos de almidón durante el templado se atribuye a la interacción de los siguientes factores: aumento de la perfección cristalina y la disminución de la hidratación, interacción amilosa-amilosa y/o amilopectina-amilopectina, el aumento de las fuerzas de unión intragranulares y reforzamiento del gránulo, y la formación de complejos V-amilosa-lípido.

Con respecto al tipo de compuesto utilizado en el proceso de nixtamalización, la temperatura de inicio de la gelatinización y el tiempo para alcanzar el pico de viscosidad aumentaron en el orden:  $\text{CaCl}_2 > \text{CaSO}_4 > \text{CaCO}_3 > \text{Ca(OH)}_2$ . El pico de viscosidad de todos los tratamientos fue menor que el pico de viscosidad del almidón de maíz nativo (3691 cP) y su disminución fue del orden de 7.2-30.0 % para el proceso tradicional, de 23.0-34 % para el proceso ecológico con  $\text{CaCO}_3$ , de 36.8-49.8 % para el proceso ecológico con  $\text{CaSO}_4$ , y de 38.2-48.3 % para el proceso ecológico con  $\text{CaCl}_2$  (Cuadros 4, 5, 6 y 7).

Oosten (1982) reporta que los cationes bivalentes como el  $\text{Ca}^{2+}$  pueden producir enlaces más fuertes entre las moléculas de almidón y los iones lo que causa una disminución en la capacidad de adsorción de agua. Los tratamientos con  $\text{Ca(OH)}_2$  muestran un pico de viscosidad más alta (menor reducción del pico de viscosidad) y los tratamientos con  $\text{CaSO}_4$  los picos de viscosidad más bajos. De acuerdo con Jane (1993) la repulsión entre los grupos  $\text{OH}^-$  electronegativos del almidón y los iones  $\text{SO}_4^{2-}$  fuertemente cargados negativamente aumentan la resistencia del almidón a la gelatinización, esta puede ser la razón por la cual utilizando esta sal se obtienen picos de viscosidad más bajos.

Por otro lado, en los tratamientos con  $\text{Ca(OH)}_2$  no solo se obtuvieron mayores picos de viscosidad si no que se requirió un menor tiempo para alcanzar esa viscosidad máxima, lo que indica un hinchamiento más rápido del granulo de almidón que requiere de menos energía térmica. Según Oosten (1982), compuestos como el  $\text{Ca(OH)}_2$  que se disocian en  $\text{Ca}^{2+}$  y en un anión monovalente ( $\text{OH}^-$ ) pueden penetrar con mayor facilidad el gránulo de almidón e iniciar el proceso de gelatinización por la ruptura de los puentes de hidrógeno. Por la misma razón, los tratamientos con  $\text{CaCO}_3$  tuvieron viscosidades más altas que los tratamientos con  $\text{CaSO}_4$  y  $\text{CaCl}_2$ , ya que este compuesto se disocia formando aniones  $\text{OH}^-$  ( $\text{CO}_3^{2-} + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{HCO}_3^- + \text{OH}^-$ ).

Tomando en cuenta la concentración de las sales, el comportamiento de cada sal sobre las propiedades reológicas fue complejo, no se observó una tendencia clara. En el proceso tradicional de nixtamalización un aumento en la concentración de cal, en general, produjo un aumento del pico de viscosidad

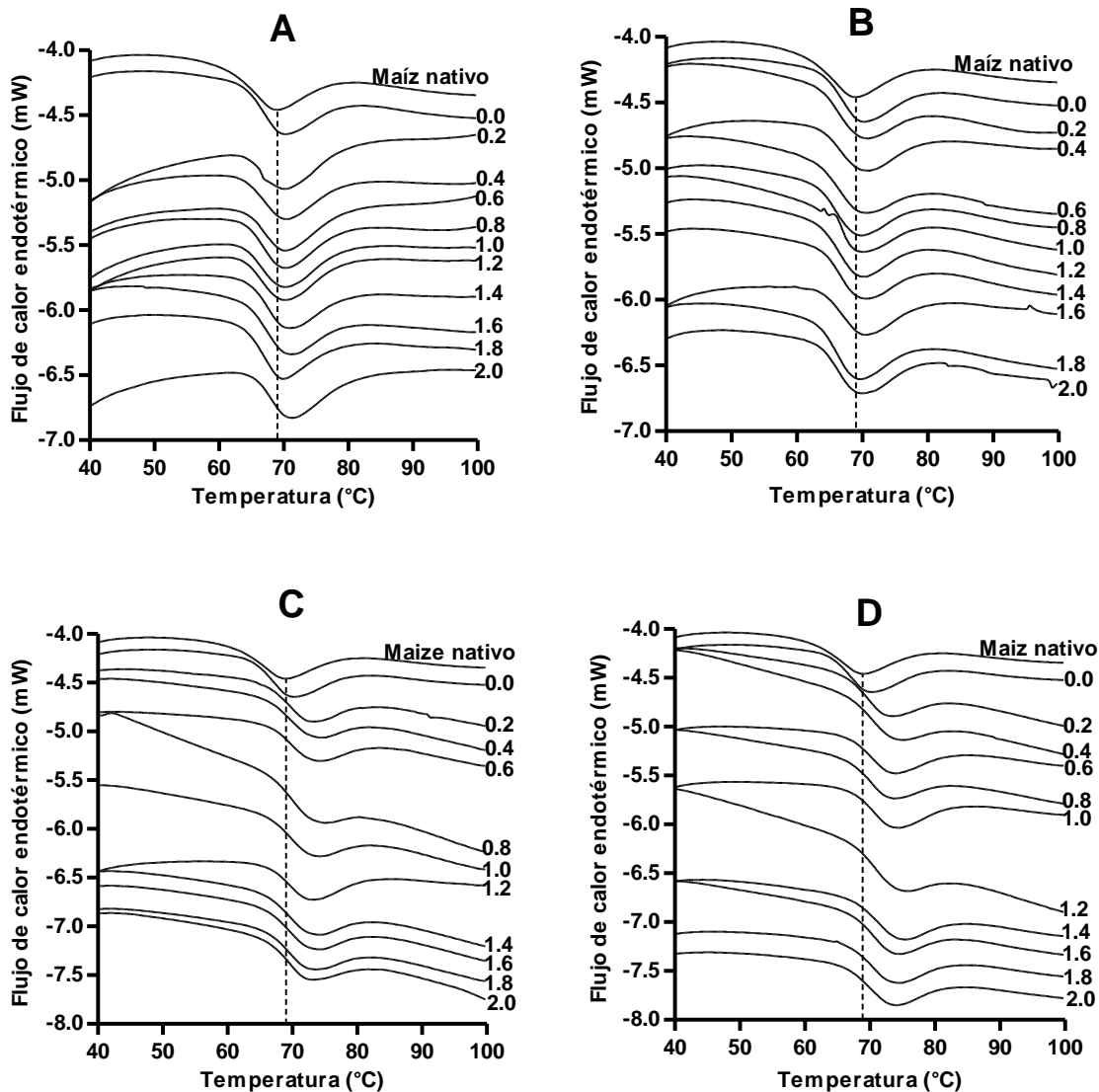
( $r=0.88$ ,  $P < 0.01$ ), este comportamiento también fue reportado por Castillo et al. (2009) a concentraciones entre 1.0 y 2.0 %, ellos encontraron un valor máximo de pico de viscosidad utilizando una concentración de 1.5 % de cal. En este trabajo el valor máximo de pico de viscosidad se encontró a una concentración de 1.8 % de cal. En las tres variantes del proceso ecológico no hubo correlación entre la concentración de cada sal y las propiedades reológicas. El máximo pico de viscosidad en el proceso ecológico se encontró a una concentración de 1.8 % de  $\text{CaCO}_3$ , 2.0 % de  $\text{CaSO}_4$  y 1.6 % de  $\text{CaCl}_2$ .

### **6.2.2 Propiedades térmicas del nixtamal**

Los resultados de propiedades térmicas: temperatura inicial de gelatinización ( $T_i$ ), temperatura pico de gelatinización ( $T_p$ ), temperatura final de gelatinización ( $T_f$ ), entalpía ( $\Delta H$ ) y rango de gelatinización ( $T_f-T_i$ ), fueron consistentes con los resultados reportados por otros autores (Campas-Baypoli et al., 1999; Méndez-Montealvo et al., 2006; Figueroa et al., 2013a, 2013b). Durante el proceso de nixtamalización el almidón fue afectado por tres causas principales: el templado (annealing), el tipo de sal de calcio, y la concentración de cal y sales de calcio.

El almidón de maíz nativo presentó una temperatura inicial, pico y final de gelatinización de 63.42, 70.10 y 79.06 °C respectivamente, una entalpía de 6.82 J  $\text{g}^{-1}$ , y un rango de gelatinización de 15.64 °C.

En todos los procesos la temperatura inicial, pico y final de gelatinización del almidón de nixtamal aumentaron después de 35 minutos de cocción y 16 horas de reposo, mientras que el rango de gelatinización disminuyó, respecto a las propiedades térmicas del almidón de maíz nativo (Figura 15), esto se debe principalmente al proceso de templado (annealing). La Figura 15 muestra un aumento de entre 0.01 y 4.09 °C en la temperatura inicial, 0.05-4.12 °C en la temperatura pico y 0.04-3.51 °C en la temperatura final, así como una disminución del rango de gelatinización de aproximadamente 0.0-1.41 °C especialmente en el proceso ecológico de nixtamalización con  $\text{CaCl}_2$  y  $\text{CaSO}_4$ .



**Figura 15. Termogramas de maíz nativo y nixtamal a diferentes concentraciones de sales de calcio. A) Proceso de nixtamalización tradicional (PNT) con  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ . B) Proceso de nixtamalización ecológico (PEN) con  $\text{CaCO}_3$ . C) PEN con  $\text{CaSO}_4$ . D) PEN con  $\text{CaCl}_2$ . La línea punteada muestra la temperatura máxima de gelatinización del almidón de maíz nativo.**

Como ya se mencionó en la sección anterior, el proceso de templado se define como la incubación de los gránulos de almidón en exceso (> 60 %, p/p) o contenido intermedio (40-55 %, p/p) de agua durante un cierto período de tiempo (generalmente > 12 h) a una temperatura superior a la temperatura de transición



vítrea pero por debajo de la temperatura de inicio de la gelatinización (Jacobs y Delcour, 1998). Uno de los principales efectos de este fenómeno es el incremento de la temperatura de gelatinización, el cual es más pronunciado en la temperatura inicial que en la temperatura final, esto se debe a que la temperatura inicial representa la fusión de los cristalitos más débiles. Esos cristalitos son más susceptibles a la perfección cristalina durante el templado que los cristalitos que tienen una mayor estabilidad los cuales están representados por la temperatura final de gelatinización (Jayakody y Hoover, 2008).

La disminución del rango de gelatinización indica una mayor homogeneidad y fusión conjunta de los cristalitos, de acuerdo con Jacobs y Delcour (1998).

Se sabe que durante el templado hay un incremento en la movilidad del almidón dentro de las regiones amorfas que conduce a una reorganización molecular que involucra la interacción entre las cadenas de amilosa y/o las cadenas de amilosa y amilopectina. Esta interacción junto con la perfección de los cristalitos incrementa la temperatura de transición vítrea, lo que trae como consecuencia un incremento en las temperaturas inicial, pico y final de gelatinización (Jayakody y Hoover, 2008).

En lo que respecta a la entalpía, la mayoría de autores coincide en que el templado causa un incremento en este valor o simplemente permanece sin cambios (Jayakody y Hoover, 2008). Sin embargo de acuerdo con Tester y Debon (2000) este efecto se da siempre y cuando se cumpla la definición estrictamente y el templado se dé entre la temperatura de transición vítrea y la temperatura inicial de gelatinización, la cual no debe ser rebasada. En el proceso de nixtamalización el primer paso consiste en un cocimiento del grano de maíz a temperaturas por encima de la temperatura inicial de gelatinización del almidón lo cual causa una gelatinización parcial del almidón, dañando a los gránulos más externos del endospermo. Esta es la razón por la cual la entalpía de gelatinización del almidón de nixtamal no se mantiene igual que la del almidón de maíz, ni aumenta, sino que disminuye.

Por otra parte, se observaron efectos significativos del tipo de sal de calcio, la cal y las concentraciones de cada uno de estos compuestos en el proceso de templado. El tipo de sal de calcio y la cal aumentaron la temperatura inicial, pico y final de gelatinización del almidón en este orden:  $\text{CaCl}_2 > \text{CaSO}_4 > \text{Ca(OH)}_2 > \text{CaCO}_3$ . La entalpía disminuyó en el orden:  $\text{CaCO}_3 > \text{CaSO}_4 > \text{Ca(OH)}_2 > \text{CaCl}_2$  (Figura 10 y 11).

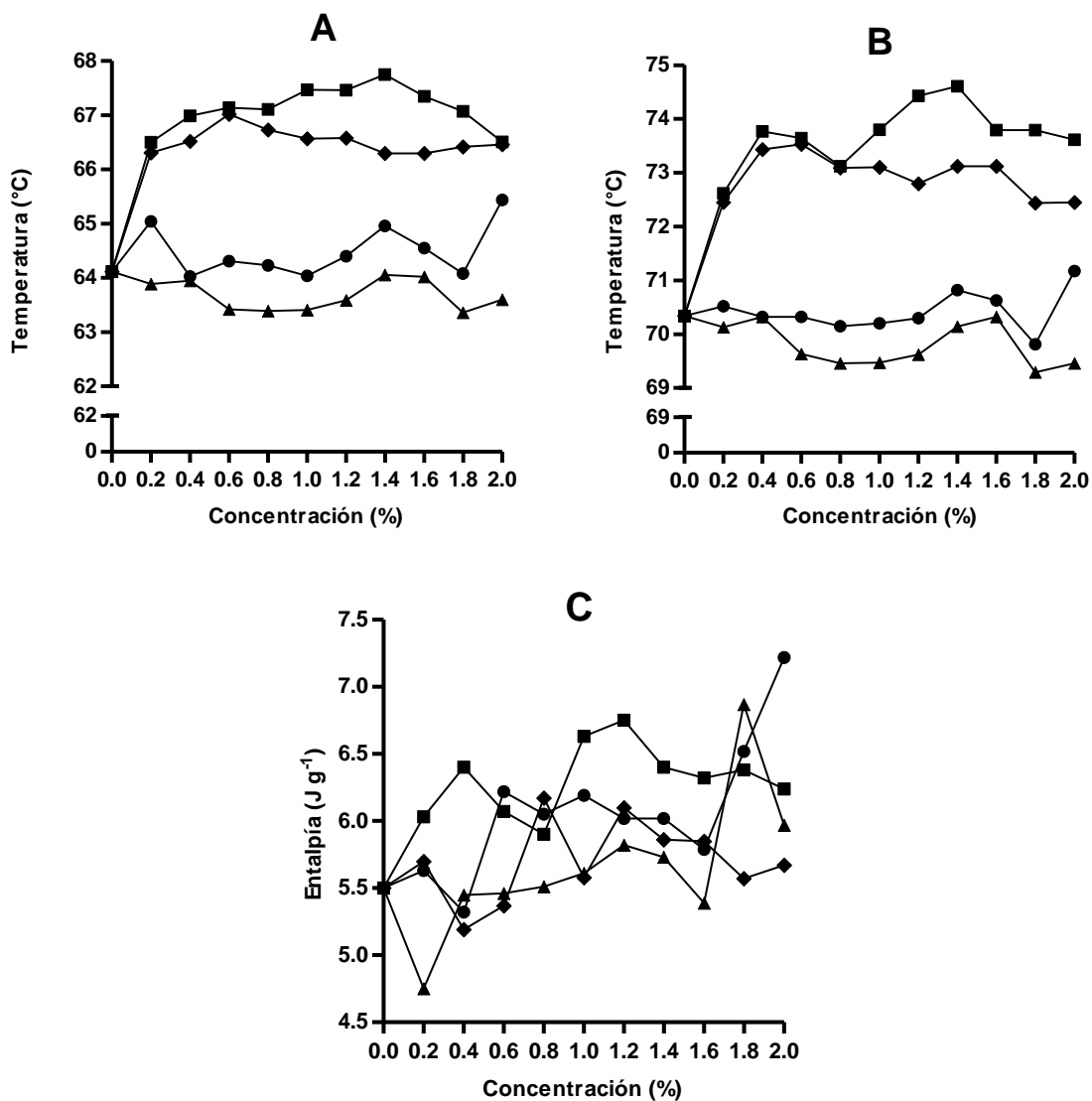


Figura 16. A) Temperatura de inicio, B) temperatura pico, y C) entalpía de gelatinización del almidón de nixtamal a diferentes concentraciones de sales de calcio. (●)  $\text{Ca(OH)}_2$ , (■)  $\text{CaCl}_2$ , (▲)  $\text{CaCO}_3$ , (◆)  $\text{CaSO}_4$

Oosten (1982) y, Ahmad y Williams (1999) mencionan que los aniones tienen un mayor efecto en comparación con los cationes en el proceso de gelatinización del almidón, mientras los cationes tienden a proteger y estabilizar el granulo de almidón, los aniones son los agentes “gelatinizantes” por ruptura de los puentes de hidrógeno. En el presente estudio,  $\text{Ca}^{2+}$  es el catión en todas las sales y el hidróxido de calcio utilizado, por lo que el efecto sobre las propiedades térmicas se puede atribuir principalmente a los aniones ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{OH}^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ). Según Oosten (1982), el efecto del potencial de Donnan en compuestos como  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , que se disocia en el catión  $\text{Ca}^{2+}$  y en el anión monovalente ( $\text{OH}^-$ ) hace que el anión ( $\text{OH}^-$ ) pueda penetrar con mayor facilidad el gránulo de almidón e iniciar el proceso de gelatinización por la ruptura de los puentes de hidrógeno. El  $\text{CaCO}_3$  al disociarse en agua forma también iones ( $\text{OH}^-$ ) tomando en cuenta la siguiente reacción:  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{HCO}_3^- + \text{OH}^-$ . En base a lo anterior ambos compuestos presentan menores aumentos en la temperatura inicial, pico y final de gelatinización debido a que su anión ( $\text{OH}^-$ ) puede iniciar con mayor facilidad el proceso de gelatinización.

Por su parte, los compuestos como el  $\text{CaSO}_4$  que se disocian en el catión  $\text{Ca}^{2+}$  y el anión divalente  $\text{SO}_4^{2-}$ , los aniones son más excluidos y no pueden penetrar con facilidad el gránulo de almidón por lo que inhiben el proceso de gelatinización. En el caso del  $\text{CaCl}_2$ , este se disocia muy fácilmente en el agua en un anión monovalente  $\text{Cl}^-$ , por lo tanto al unirse estos aniones al agua, la concentración disponible para penetrar el gránulo de almidón es muy baja. Los pocos aniones presentes experimentan fuerzas de repulsión, debido a la alta densidad de carga de este anión, por lo tanto, la penetración del gránulo de almidón es muy difícil para los muy pocos iones cloruro y consecuentemente la temperatura de gelatinización se eleva.

La concentración de cada compuesto afectó a las propiedades térmicas del almidón como se menciona a continuación. En los tratamientos con  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  se observaron cinco etapas, la temperatura de gelatinización ( $T_p$ ) aumentó cuando se incrementó la concentración de 0.0 hasta 0.2 %, de 0.8 a 1.4 %, y de 1.8 a 2.0 % (Figura 11B), y disminuyó de 0.2 a 0.8, y de 1.4 a 1.8%. Resultados similares

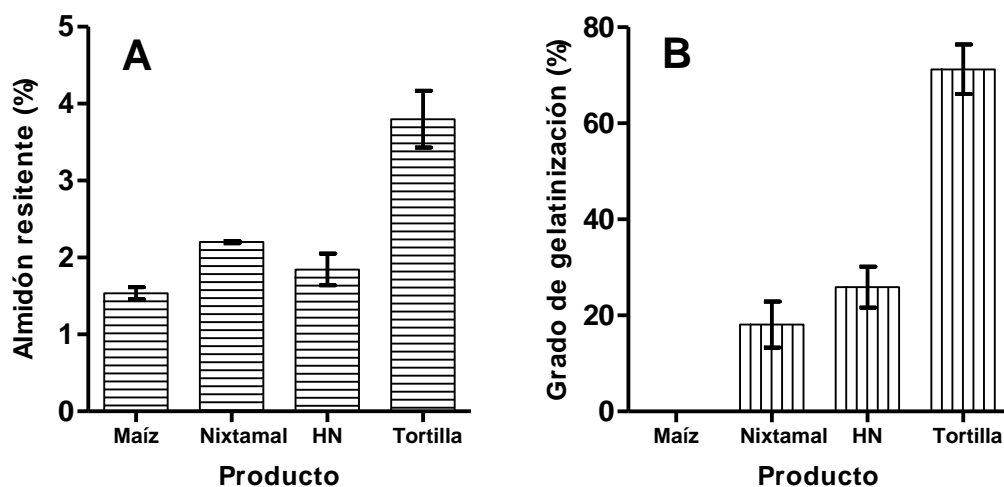
fueron reportados por Rodríguez et al. (1995, 1996), Alvarado-Gil et al. (1997), Bryant y Hamaker (1997), Mondragón et al (2004), Castillo et al. (2009) y Pineda-Gómez et al. (2011, 2012), quienes postularon que las interacciones  $\text{Ca}^{++}$ -almidón y  $\text{Ca}(\text{OH})^+$ -almidón son responsables de este fenómeno. Al incrementar las concentraciones de cal las interacciones  $\text{Ca}^{++}$ -almidón se producen principalmente en la superficie de los gránulos aumentando su rigidez que conduce a una disminución en la capacidad de absorción de agua y el grado de gelatinización.

En el proceso ecológico con  $\text{CaCO}_3$  la temperatura pico de gelatinización mostró un descenso entre 0.0 y 1.0 %, un aumento entre 1.0 y 1.6 %, y después una disminución hasta el 2.0 % (Figura 11B). Resultados similares fueron encontrados por Otsuka et al. (2001) quienes informaron de una disminución en la temperatura máxima de gelatinización del almidón de maíz cuando se aumentó la concentración de carbonato de calcio entre 0.0 y 0.5 %. Este comportamiento, similar al del hidróxido de calcio puede ser explicado debido al incremento del pH por la disociación del carbonato en agua como se ha mencionado anteriormente. En contraste, en los tratamientos del proceso ecológico con  $\text{CaSO}_4$  se observó un incremento desde 0.0 hasta 0.6 %, y luego una disminución hasta el 1.2 %, un ligero aumento hasta 1.6 %, y finalmente una disminución hasta 2.0 % (Figura 11B). En el proceso ecológico con  $\text{CaCl}_2$  los tratamientos mostraron cuatro etapas, hubo dos incrementos en la temperatura pico de gelatinización 0.0-0.4 % y 0.8-1.4 %, y dos caídas entre 0.4 a 0.8 % y 1.4 a 2.0 % (Figura 11B). Las más altas temperaturas de inicio y pico de gelatinización en el proceso ecológico con  $\text{CaSO}_4$  y  $\text{CaCl}_2$  (Figura 11A y 11B) se pueden atribuir a la disminución de la fracción de agua libre y la mayor viscosidad de la solución. Según Jane (1993), el aumento de la viscosidad retarda la difusión de la solución de sal en los gránulos de almidón y disminuye aún más la concentración del diluyente dentro de los gránulos. Además, la repulsión entre los grupos  $\text{OH}^-$  electronegativos del almidón y los iones  $\text{SO}_4^{2-}$  fuertemente cargados negativamente aumenta la resistencia de almidón a la gelatinización.

### 6.3 Cambios en el almidón y digestibilidad de las tortillas

#### 6.3.1 Formación de almidón resistente

La Figura 17A muestra que la cantidad de almidón resistente aumentó cuando el maíz fue nixtamalizado con el proceso de nixtamalización ecológica y consecuentemente transformado en harina nixtamalizada y tortillas.



**Figura 17. A) Contenido de almidón resistente y B) grado de gelatinización en productos del proceso de nixtamalización ecológica con 0.6% de CaCl<sub>2</sub>. HN= Harina nixtamalizada.**

Una tendencia similar fue reportada por Campas-Baypoli et al (1999) en productos del proceso tradicional de nixtamalización. El contenido más bajo de almidón resistente se encontró en el maíz entero (1.54 %). Esto depende de la variedad de maíz y es una combinación de almidón resistente tipo 1 (AR1) y tipo 2 (AR2) (García-Rosas et al., 2009). Después, cuando los granos de maíz fueron sometidas a cocción con 0.6 % de CaCl<sub>2</sub> y dejados en reposo durante 16 horas, el contenido de almidón resistente aumentó significativamente (Fig. 17A), esto debido a la formación de complejos amilosa-lípido (almidón resistente tipo 5) durante el proceso de templado. El proceso de templado se define como una incubación de los gránulos de almidón en exceso (> 60 % p/p) o contenido intermedio (40-55 % p/p) de agua por un periodo de tiempo (generalmente > 12 horas) a una temperatura por encima de la temperatura de transición vítrea, pero

por debajo de la temperatura de gelatinización (Jacobs y Delcour, 1998); este proceso se lleva a cabo durante el proceso de reposo o remojo del nixtamal. Jayakody y Hoover (2008) reportaron que sólo el almidón de maíz tiene la capacidad de formar complejos amilosa-lípido durante el proceso de templado, y esta capacidad del almidón de maíz podría deberse a la entrada de lípidos de la superficie hacia el interior del gránulo (a través de los canales de la superficie del gránulo). De acuerdo con estos autores, es probable que una vez en el interior del gránulo de almidón, la energía térmica impartida a la cadena carbonada del ácido graso durante el templado pueda aumentar su movilidad, facilitando de esta manera su interacción con la hélice de amilosa.

La hipótesis de la formación de complejos amilosa-lípido durante el templado se comprobó mediante difracción de rayos X con un incremento en la intensidad del pico  $2\theta \sim 20^\circ$  ( $\sim 4.5 \text{ \AA}$ ), pico que se asocia a estos complejos (Figura 18).

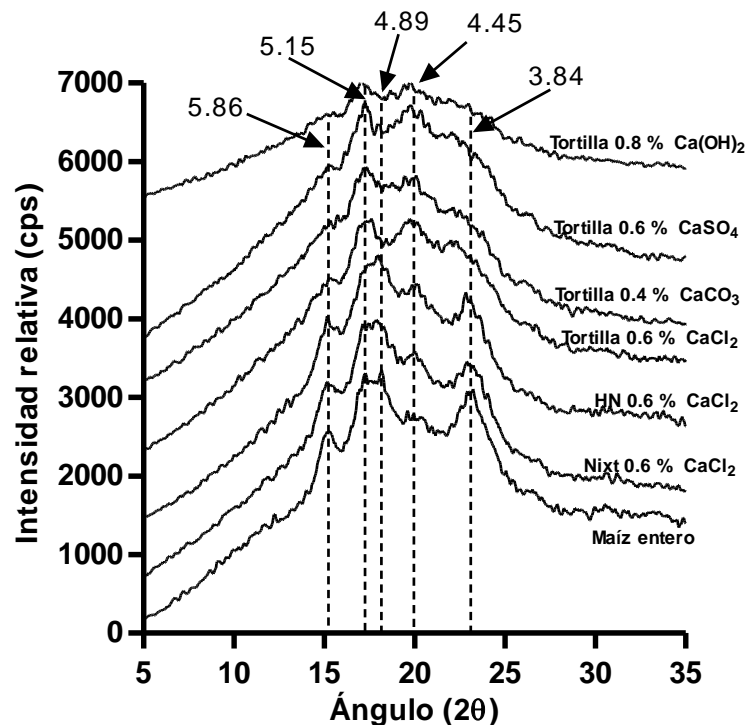
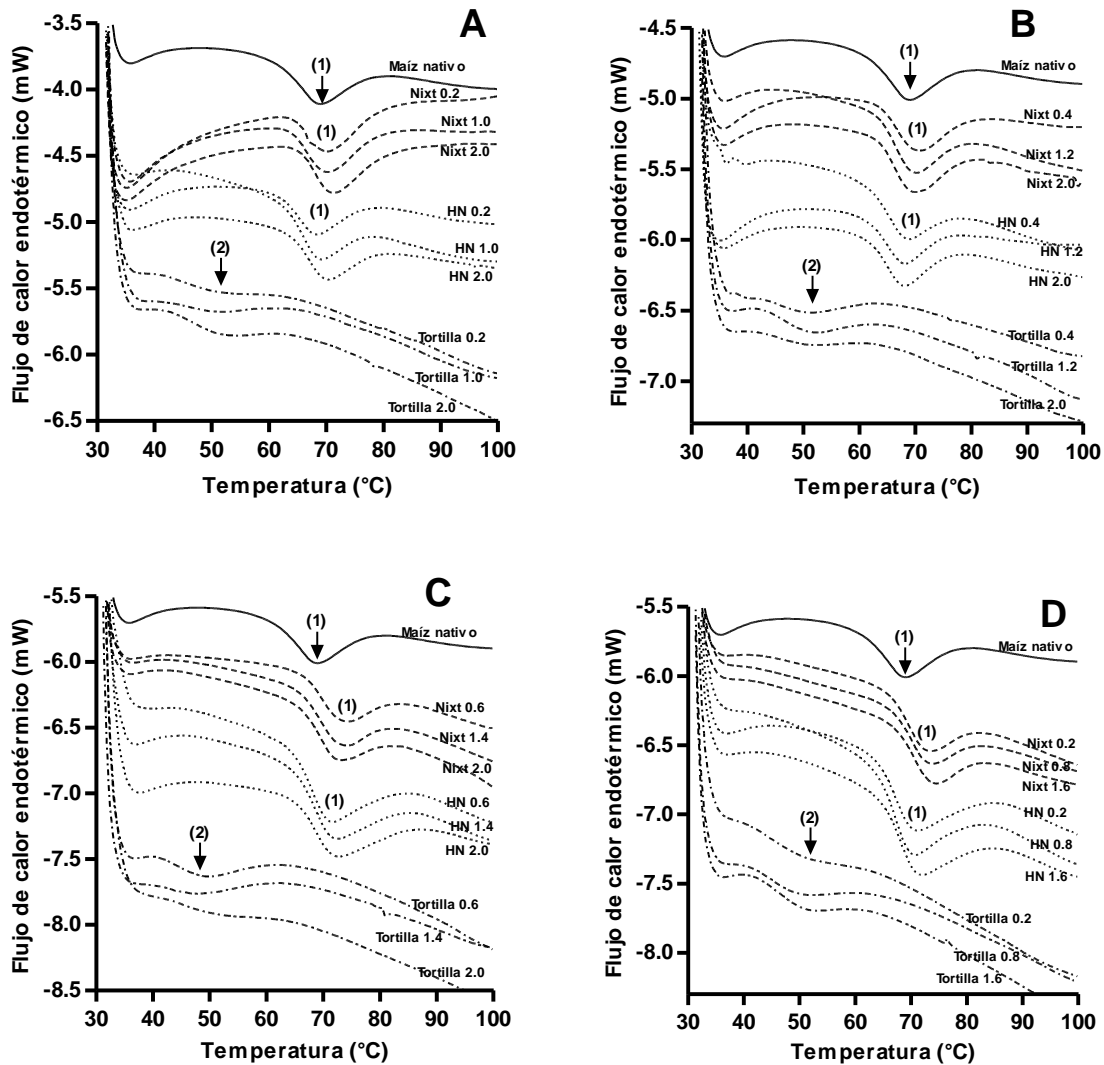


Figura 18. Patrón de difracción de rayos X de almidón de maíz nativo, nixtamal (Nixt), harina nixtamalizada (HN) y tortillas.

De acuerdo a lo anterior, el incremento en el contenido de almidón resistente cuando el grano de maíz es transformado en nixtamal corresponde a la formación de complejos amilosa-lípido.



**Figura 19. Termogramas (DSC) de almidón de maíz nativo, nixtamal (Nixt), harina nixtamalizada (HN) y tortilla a diferentes concentraciones de sales de calcio y de cal. A) Proceso tradicional de nixtamalización con cal  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  a 0.2, 1.0 y 2.0%. B) Proceso ecológico de nixtamalización (PEN) con  $\text{CaCO}_3$  a 0.4, 1.2 y 2.0%. C) PEN con  $\text{CaSO}_4$  a 0.6, 1.4 y 2.0%. D) PEN con  $\text{CaCl}_2$  al 0.2, 0.8 y 1.6% de  $\text{CaCl}_2$ .**

. También hay una ligera disminución del almidón resistente tipo 1 (gránulos nativos) debido al tratamiento térmico durante el cocimiento, lo que se demuestra con el aumento del grado de gelatinización del almidón a 14.7 % (Figura 17B).

Por lo tanto, se encontró que el aumento en el contenido de almidón resistente cuando el grano entero se transformó en nixtamal correspondió a una ligera disminución en el contenido de AR1 y la formación de AR5 (complejos amilosa-lípido).

En la siguiente etapa del proceso, que corresponde a la transformación de nixtamal en harina nixtamalizada hubo una ligera disminución en el contenido de almidón resistente. En esta etapa el almidón de nixtamal se somete a otra gelatinización parcial, de 14.7 a 22.9 % (Figura 17B), cuando se muele y se deshidrata, por tanto el contenido de almidón nativo (AR1) disminuye. Una disminución de la entalpía de gelatinización de la harina nixtamalizada se observa debido a esta gelatinización parcial (Figura 19), respecto al almidón nativo. En este paso, aparentemente no se forman complejos amilosa-lípido (AR5), como se comprobó en el difractograma donde la intensidad del pico a  $\sim 4.5 \text{ \AA}$  que corresponde al complejo V-amilosa-lípido se mantiene sin cambios (Figura 18).

Finalmente, la tortilla producida a partir de la harina nixtamalizada presentó un aumento de aproximadamente 50 % en el contenido de almidón resistente, así como un aumento dramático en el grado de gelatinización del almidón debido al proceso de cocción de tortillas (Figura 17B). Antes de la cocción de las tortillas, la harina nixtamalizada fue hidratada y mezclada para formar la masa creando una fuerte interacción entre el almidón nativo residual o la amilosa lixiviada de los dos procesos parciales de gelatinización anteriores y todos los otros componentes del grano de maíz, principalmente lípidos. Este proceso tiene lugar a temperatura ambiente, y Putseys et al. (2010) mencionan que los complejos amilosa-lípido del tipo I se pueden formar a temperaturas menores de 60 °C. Mientras tanto, los complejos del tipo II se obtienen por calentamiento de la mezcla de amilosa y los lípidos a altas temperaturas, al menos 90 °C, y como la cocción de tortillas se lleva a cabo a  $> 90 \text{ °C}$ , es posible que los complejos V-amilosa-lípidos también se



formen en este paso. Esto se confirmó con un aumento significativo en el pico a  $\sim 4.5 \text{ \AA}$  correspondiente a los complejos V-amilosa-lípido (Figura 18). El aumento es mayor en las tortillas del proceso ecológico de nixtamalización ( $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{CaSO}_4$  y  $\text{CaCO}_3$ ) que en las tortillas hechas con el proceso tradicional (Figura 18), esto se puede deber a que los lípidos del grano de maíz en este último proceso se pierden en el nejayote o se saponifican con el hidróxido de calcio, por lo que hay menos de estos compuestos disponibles para formar complejos con la amilosa, mientras que en el proceso ecológico estos compuestos se conservan y están disponibles para formar complejos.

Las propiedades térmicas de los complejos amilosa-lípido están influenciados por muchos factores tales como la temperatura de formación, solvente utilizado, pH, la presencia de electrolitos, contenido de agua de la mezcla, el tipo de almidón, longitud de la cadena de amilosa, concentración de lípidos y de amilosa, el tipo de lípidos y la insaturación de la cadena, entre otros (Putseys et al., 2010). Según Putseys et al. (2010) los mejores ácidos grasos que forman complejos con la amilosa tienen 16 o 18 átomos de carbono; en el maíz hay alrededor de 85 % de ácidos grasos de 18 carbonos y 15 % de 16 carbonos, aunque la mayoría de estos son insaturados y en la configuración cis (Weber et al., 1978). Estas características afectan a las propiedades térmicas del complejo reduciendo su estabilidad térmica debido a un retorcimiento en su cadena lipídica y están, por lo tanto, sujetos a impedimento estérico dentro de la cavidad de la hélice sugiriendo sólo inclusión parcial en la hélice. Los complejos amilosa-lípidos presentes en las tortillas, se observaron en los difractogramas de rayos X, sin embargo no fue posible observarlos mediante la técnica de calorimetría diferencial de barrido debido a que estos complejos se observan en el rango de 80 a 130 °C (Putseys et al., 2010), fuera del rango que se utilizó en este trabajo.

Baks et al. (2007) mencionaron que la endoterma de gelatinización característica del almidón se produce en el termograma entre 51 y 76 °C (Figura 19, flecha 1). Sin embargo, en la Figura 19 se observa un ligero desplazamiento de la endoterma de gelatinización del almidón en las tortillas a temperaturas más bajas entre 37 y 65 °C (flecha 2), que no es característico del almidón nativo.

De acuerdo con Singh et al. (2003) el pico endotérmico de los almidones después de la gelatinización y el almacenamiento a 4 °C aparecen a temperaturas de transición más bajas. Las temperaturas de transición son usualmente entre 10 a 26 °C más bajas y las entalpías de retrogradación son entre 60 y 80 % más pequeñas que la temperatura y entalpía de gelatinización de los gránulos de almidón nativos. Los almidones retrogradados muestran una temperatura y entalpía de gelatinización más bajos que el almidón nativo debido a que presentan una cristalinidad más débil. En la Figura 19 (flecha 2) y Cuadro 8 se puede observar que las endoterma de transición del almidón de las tortillas se encuentra entre 39 y 65 °C, lo cual coincide con lo reportado por Campas-Baypoli et al. (2002), García-Rosas et al. (2009) y Hernández-Uribe et al. (2010), quienes también reportan una transición térmica en tortillas del proceso tradicional en el rango de temperatura de 31.9 a 64.0 °C y lo atribuyen a la disociación de la amilopectina retrogradada.

Lo anterior es posible debido a que la retrogradación de las tortillas ocurre durante el enfriamiento que se da antes de que las tortillas sean consumidas, sin embargo no solo la amilopectina se retrograda, también se sabe que la amilosa retrograda más rápido que la amilopectina pero su endoterma de fusión se encuentra a temperaturas más altas (120-170 °C) las cuales no se pudieron observar en el rango de temperaturas estudiado.

Por otro lado el grado de gelatinización en las tortillas (Figura 17B) se encontró entre 67 y 75 %, lo que significa que una pequeña porción del almidón no fue gelatinizada, y por tanto en las tortillas aún existen gránulos nativos de almidón (RS1).

En base a lo anterior se concluye que en las tortillas existen tres tipos de almidón resistente: AR5 (complejos amilosa-lípido), AR3 (almidón retrogradado) Y AR1 (almidón nativo). Tomando en cuenta los resultados del Cuadro 8, se seleccionaron tortillas de cada uno de los procesos, cuyos tratamientos hayan mostrado el valor más alto de entalpía y se caracterizaron físico-químicamente, para posteriormente determinar el índice glucémico *in vivo*.

**Cuadro 8. Temperaturas de transición, entalpía de retrogradación y grado de gelatinización de tortillas del proceso tradicional y ecológico de nixtamalización<sup>a</sup>.**

Concentración (%) w/w	Ca(OH) <sub>2</sub>					CaCO <sub>3</sub>					CaSO <sub>4</sub>					CaCl <sub>2</sub>				
	To	Tp	Tf	ΔH	GG	To	Tp	Tf	ΔH	GG	To	Tp	Tf	ΔH	GG	To	Tp	Tf	ΔH	GG
	°C			J g <sup>-1</sup>	%	°C			J g <sup>-1</sup>	%	°C			J g <sup>-1</sup>	%	°C			J g <sup>-1</sup>	%
0.2	42.4	50.4	60.5	0.7	90.1	43.3	51.5	60.7	0.9	87.6	40.3	48.6	60.6	0.8	89.5	41.3	50.7	62.0	1.1	84.5
0.4	43.4	51.4	60.8	1.1	84.0	43.4	51.5	61.1	1.4	80.8	41.4	49.7	60.7	0.7	89.8	43.0	51.1	60.3	1.5	78.5
0.6	44.4	53.1	62.9	0.9	87.8	41.9	50.1	60.1	1.0	85.8	41.6	49.4	59.6	1.4	80.5	44.4	51.7	60.4	2.1	70.9
0.8	44.6	52.7	62.1	1.4	81.0	43.5	51.1	60.1	0.7	90.1	42.4	52.4	61.0	0.9	86.8	43.4	51.0	60.9	1.4	80.3
1	43.4	51.4	59.9	0.9	87.2	42.9	50.5	59.8	1.2	83.5	41.6	48.8	58.9	1.2	83.5	43.3	51.3	62.4	1.2	83.6
1.2	44.2	51.8	61.8	1.3	82.1	43.8	51.4	60.3	1.2	83.0	43.4	52.2	64.2	0.9	88.0	44.6	51.8	61.0	1.4	80.8
1.4	43.9	51.5	60.3	0.7	89.5	43.1	51.8	56.7	0.9	86.7	41.7	48.7	58.1	1.0	86.6	44.6	52.0	60.8	1.5	78.7
1.6	44.0	51.6	61.6	0.9	86.9	43.4	51.8	61.1	1.0	85.5	39.9	49.4	58.4	1.2	83.7	44.8	52.0	61.7	1.4	80.2
1.8	44.6	52.8	63.2	1.4	79.9	43.8	50.5	58.5	0.8	89.1	40.5	50.6	63.3	1.4	80.3	42.2	51.5	62.2	1.1	85.1
2	44.9	52.5	64.4	1.5	79.6	43.8	51.1	59.7	1.0	86.6	40.7	50.8	62.3	1.0	86.0	45.7	52.8	61.4	1.7	76.1
LSD a (0.05)	3.73	2.07	4.8	0.9	12.6	2.6	3.0	2.1	0.6	9.1	6.5	2.8	6.2	0.5	7.2	5.8	2.5	2.5	0.6	9.0

<sup>a</sup>To = temperatura inicial; Tp = temperatura pico; Tf = temperatura final; ΔH = entalpía; GG = grado de gelatinización

### 6.3.2 Difracción de Rayos X

La Figura 18 muestra los patrones de difracción de rayos X del maíz y los productos obtenidos durante el proceso de elaboración de tortillas. Para observar los cambios que sufre el almidón se tomó como ejemplo el tratamiento con 0.6 % de  $\text{CaCl}_2$ .

El grano, nixtamal y la harina nixtamalizada del proceso ecológico con 0.6 % de  $\text{CaCl}_2$  presentaron difractogramas con cinco picos definidos que corresponden a las distancias interplanares " $d$ " de 5.86, 5.15, 4.89, 4.45 y 3.84 Å, respectivamente. Estos picos son similares a los valores característicos del almidón nativo reportados por Campas-Baypoli et al. (1999, 2002).

El patrón cristalino del grano entero se clasifica como tipo A, característico de los granos de cereales (Zobel, 1988). El tratamiento térmico (cocción) y el templado causaron un ligero cambio en la cristalinidad típica del almidón de maíz nativo. Sin embargo, cuando la harina nixtamalizada se transformó en masa y posteriormente en tortillas, la cristalinidad de los gránulos de almidón nativos se vio afectada en gran medida debido a la cocción. Las tortillas hechas usando el proceso tradicional de nixtamalización con cal y las tortillas hechas con el proceso ecológico de nixtamalización con  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{CaCO}_3$  y  $\text{CaSO}_4$  mostraron una disminución en algunos picos típicos de almidón tipo A correspondientes a las distancias de 5.86, 5.15 y 3.84 Å, pero el pico a 4.45 Å aumentó en las tortillas, especialmente en los tratamientos del proceso ecológico. Es claro que en todas las etapas del proceso ecológico de nixtamalización y la preparación de las tortillas el pico correspondiente a  $\sim 4.5$  Å, característico de los complejos V-amilosa-lípido aumentó y los picos a 5.86 Å y 3.84 Å del patrón tipo A disminuyeron (Figura 18). Según Zobel (1988) la disminución de los picos de amilopectina a 5.86 y 3.84 Å, durante el tratamiento térmico en la preparación de la tortilla, sugieren que las ramas laterales de la amilopectina forman nuevas hélices de amilosa, lo cual se indica por el aumento de complejos amilosa-lípido y su pico correspondiente a 4.45 Å.

En el proceso tradicional de nixtamalización con 0.8 % de  $\text{Ca(OH)}_2$  los lípidos del grano de maíz se pierden en el nejayote o son saponificados con

hidróxido de calcio por lo que hay menos de estos compuestos disponibles para formar complejos, por esta razón en este tratamiento prácticamente no se observa una disminución del pico a  $2\theta = 20$ .

### 6.3.3 Composición química de las tortillas

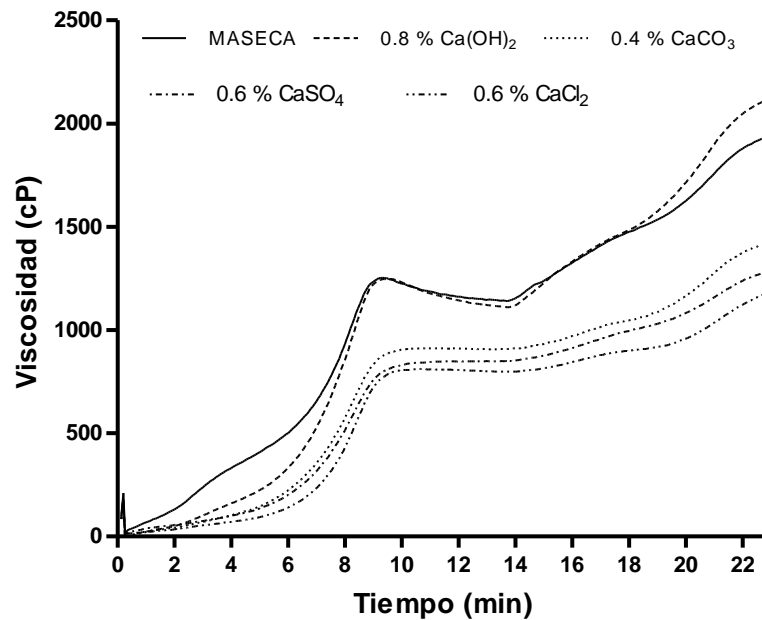
La composición proximal, específicamente proteínas, lípidos, cenizas y fibra dietaria de las tortillas, se presenta en el Cuadro 9.

**Cuadro 9. Composición química de tortillas de tratamientos seleccionados<sup>a</sup>.**

Muestra	Humedad	Lípidos	Proteína	Cenizas	FI	FS	FDT
Tortilla harina comercial	49.6 a	4.0 b	8.3 ab	1.1 ab	5.1 d	1.7 b	6.8 d
Tortilla 0.8% Ca(OH) <sub>2</sub>	46.1 b	5.0 a	7.9 bc	1.3 a	9.4 c	2.7 a	12.2 c
Tortilla 0.4% CaCO <sub>3</sub>	41.5 c	5.1 a	7.7 c	0.8 bc	15.3 b	3.2 a	18.7 b
Tortilla 0.6% CaSO <sub>4</sub>	45.3 b	5.1 a	8.6 a	0.9 bc	15.3 b	2.8 a	18.2 b
Tortilla 0.6% CaCl <sub>2</sub>	42.4 c	5.3 a	8.5 a	0.7 c	16.6 a	3.1 a	19.7 a

<sup>a</sup>Medias seguidas por la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes a  $P < 0.05$ . Data reported in (%) of dry basis. FI= Fibra insoluble, FS= Fibra soluble, FDT=Fibra dietaria total.

En general, el contenido de humedad fue más alto en las tortillas elaboradas con harina nixtamalizada comercial, lo que confirma que la presencia de aditivos (gomos) aumenta la capacidad de las partículas para absorber el agua según lo reportado por Flores-Farías et al. (2000). Campas-Baypoli et al. (1999) informaron que las harinas nixtamalizadas comerciales al secarse a altas temperaturas los gránulos de almidón pierden su estructura y su integridad dando lugar a la formación de una pasta gelatinizada con un índice de absorción de agua alto. El contenido de humedad de las tortillas de los tratamientos del proceso ecológico fue menor que el de las tortillas del proceso tradicional y las de harina nixtamalizada comercial, lo cual coincidió con el perfil viscoamilográfico (Figura 20).



**Figura 20. Perfil viscoamilográfico de tortillas**

De acuerdo con Bello-Pérez et al. (2003) estos resultados pueden estar relacionados con la degradación del almidón o la formación de complejos amilosa-lípidos durante el proceso de nixtamalización, la preparación de las harinas nixtamalizadas, la masa y las tortillas. Bello-Pérez et al. (2014a) también reportaron que las tortillas de harina comercial presentaron mayor contenido de humedad (45.88 %) que las tortillas elaboradas con el proceso tradicional (38.71 %) y las elaboradas con el proceso ecológico utilizando  $\text{CaCO}_3$  (38.71 %).

El contenido de proteína en las tortillas hechas con el proceso ecológico usando  $\text{CaSO}_4$  y  $\text{CaCl}_2$  fue mayor que en las tortillas de harina nixtamalizada comercial,  $\text{CaCO}_3$  y  $\text{Ca(OH)}_2$  (Cuadro 9), lo cual se debe probablemente a que durante el proceso de nixtamalización se pierde un poco de proteína debido a las solubilización. Las tortillas con el menor contenido de proteína fueron las del proceso tradicional con cal y las del proceso ecológico con  $\text{CaCO}_3$ . Esto se debe a que los iones  $\text{OH}^-$  tienen la capacidad de hidrolizar parte del pericarpio y solubilizar proteínas, las cuales se lixivian a la solución de cocimiento. El comportamiento del tratamiento con  $\text{CaCO}_3$  se puede entender cuando se toma en cuenta el equilibrio de  $\text{CO}_3^{2-} + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{}^+\text{HCO}_3 + \text{OH}^-$ . Campechano et al. (2012)

demonstraron que la solución de cocimiento del proceso ecológico con  $\text{CaCO}_3$  y  $\text{Ca(OH)}_2$  presentó un mayor contenido de proteína que las solución del proceso ecológico con  $\text{CaCl}_2$ .

El contenido de cenizas en todos los tratamientos aumentó con la cal o las sales que fueron incorporados al grano durante la nixtamalización. En este estudio, el contenido de cenizas en las tortillas de harina nixtamalizada comercial (1.1 %) no fue estadísticamente diferente del contenido de cenizas de las tortillas del proceso tradicional (1.3 %), ya que la concentración de cal utilizada en ambos procesos es similar. En las tortillas del proceso ecológico el contenido de cenizas fue menor debido a las bajas concentraciones de sales utilizadas en el proceso de nixtamalización.

En general, las tortillas del proceso ecológico dieron valores más altos de lípidos, fibra dietaria total, fibra dietaria insoluble y fibra dietaria soluble, en comparación con las tortillas del proceso tradicional y las de harina nixtamalizada comercial, resultados similares fueron obtenidos por Bello-Pérez et al. (2014a). Esto indica que una mayor cantidad de lípidos, fibra dietaria total, fibra dietaria insoluble y fibra dietaria soluble se retuvo durante el proceso ecológico que durante el proceso tradicional, debido a que en el proceso ecológico el pericarpio y las capas externas del grano de maíz, que contienen principalmente fibra (celulosa, hemicelulosa), y los lípidos del germen se conservan durante las diferentes etapas del proceso (Maya-Cortés et al., 2010; Campechano et al., 2012). En contraste, las tortillas elaboradas con harina nixtamalizada comercial tuvieron el contenido más bajo de lípidos y fibra dietaria, lo que podría estar relacionado al proceso de nixtamalización y a la variedad de maíz utilizada. El lavado del nixtamal en el proceso industrial remueve gran parte del pericarpio (fibra) y pedazos del germen, adicionalmente cabe la posibilidad de que se haya utilizado una variedad de maíz con un bajo contenido de germen y pericarpio. Maya-Cortés et al. (2010) también reportaron un bajo contenido de fibra dietaria total (4.76 %), soluble (0.86 %), e insoluble (3.90 %) en tortillas de harina nixtamalizada comercial.

De acuerdo con Bello-Pérez et al. (2014a), un alto contenido de fibra dietaria en las tortillas es deseable debido a sus propiedades de aumento de volumen y a que promueven la motilidad intestinal.

#### 6.3.4 Contenido de almidón y digestibilidad de las tortillas

El contenido de almidón total, almidón disponible, almidón resistente total y almidón resistente retrogradado en tortillas mostraron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre las muestras (Cuadro 10).

**Cuadro 10. Almidón total, almidón disponible, almidón resistente, e índice glucémico de tratamientos seleccionados<sup>a</sup>.**

Muestra	AT	ART	AD	AR3	IG
Tortilla harina comercial	80.2 a	3.4 ab	76.8 a	1.1 ab	70.5 b
Tortilla 0.8 % $\text{Ca}(\text{OH})_2$	77.9 ab	3.1 bc	74.8 ab	1.3 a	48.0 c
Tortilla 0.4 % $\text{CaCO}_3$	76.9 b	3.0 c	73.9 ab	1.2 a	66.0 b
Tortilla 0.6 % $\text{CaSO}_4$	75.0 bc	2.8 c	72.3 b	1.0 b	50.8 c
Tortilla 0.6 % $\text{CaCl}_2$	78.2 c	3.8 a	68.4 c	1.0 b	43.3 c
Solución de glucosa	-	-	-	-	100.0 a

<sup>a</sup>Medias seguidas por la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes al  $P < 0.05$ . AT = almidón total, ART= Almidón resistente total, AD= Almidón disponible, AR3= Almidón resistente retrogradado, IG=índice glucémico.

La tortilla recién preparada hecha con harina nixtamalizada comercial tuvo el mayor contenido de almidón total y almidón disponible respecto a las tortillas frescas preparadas utilizando sales en el proceso ecológico. La formación del AR5 (complejos V-amilosa-lípido) y AR3 (almidón retrogradado) disminuye el contenido de almidón disponible, ya que estos complejos y la reorganización del almidón reducen la hidrólisis de la muestra de tortilla por las enzimas gastrointestinales. Las tortillas del proceso ecológico tuvieron el contenido más bajo de almidón total y almidón disponible, lo que está asociados con la naturaleza del proceso. En el proceso tradicional y el proceso industrial para hacer harina nixtamalizada, el



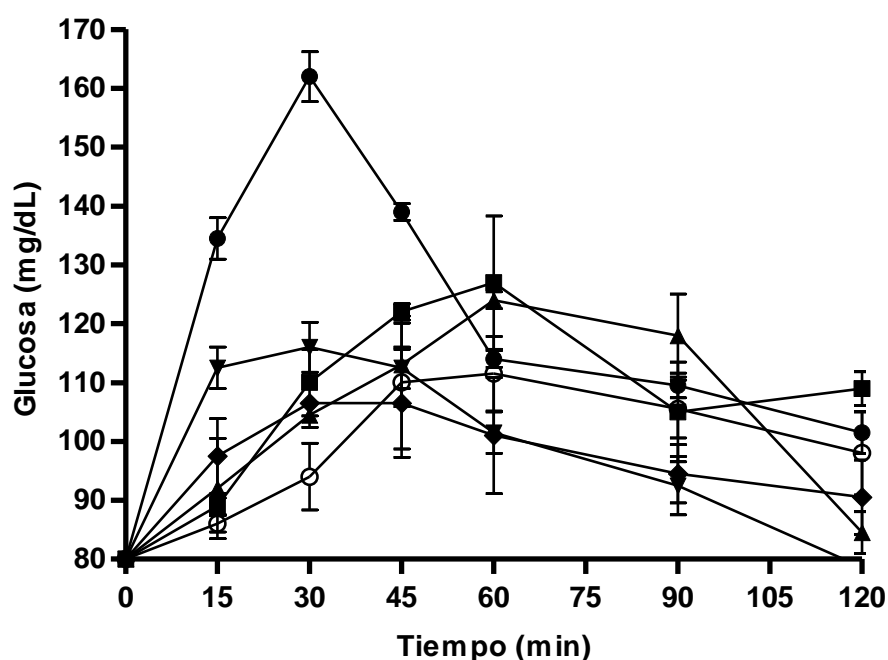
pericarpio y otros componentes del grano se eliminan con el uso de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  lo que resulta en una mayor concentración de almidón en la harina, masa y tortillas. García-Rosas et al. (2009) mencionan que cuando los gránulos de almidón son totalmente gelatinizados y dispersados el almidón es de fácil acceso y de fácil digestión. En el proceso ecológico las sales de calcio no atacan la capa pericarpio lo que resulta en una gelatinización parcial del almidón y valores bajos de almidón disponible.

Los valores de almidón resistente total en las tortillas del tratamiento con  $\text{CaCl}_2$  fueron mayores que los registrados en las tortillas del proceso tradicional y las tortillas de harina nixtamalizada comercial (Cuadro 10). Estos valores más altos pueden estar relacionados con la formación de complejos amilosa-lípido (AR5) como ya se demostró anteriormente. Las tortillas del proceso tradicional mostraron la más alta concentración de almidón resistente retrogradado (RS3), esto concuerda con los resultados de difracción de rayos X en donde no se observó la formación de complejos amilosa-lípido, y ha sido demostrado que estos compuestos inhiben el proceso de retrogradación. La tortilla del tratamiento con 0.6 % de  $\text{CaSO}_4$  presentó el menor valor de AR (2.76 %), un hecho que puede estar relacionado con las condiciones de nixtamalización o cocimiento de la tortilla, y se necesita más investigación para aclarar este aspecto. Bello-Pérez et al (2014a) encontraron un mayor contenido de almidón resistente en tortillas de harina nixtamalizada comercial y en tortillas elaboradas con el proceso tradicional que en las tortillas elaboradas con el proceso ecológico utilizando  $\text{CaCO}_3$ , en forma similar a los resultados obtenidos en este trabajo. Agama-Acevedo et al. (2004) mencionó que la etapa de calentamiento-enfriamiento adicional aplicado a las tortillas antes de los análisis probablemente influye en los resultados, pero esta condición también es válida para el producto tal y como se consume.

Hasta ahora, el índice glucémico de las tortillas se ha determinado por métodos *in vitro* (Agama-Acevedo et al., 2004, 2005; Bello-Pérez et al., 2006, 2014a; Hernández-Urbe et al., 2007; Islas-Hernández et al., 2006, 2007; Grajales-García et al., 2012; Osorio-Díaz et al., 2011; Rendón-Villalobos et al., 2002, 2006a, 2006b; Sáyago-Ayerdi et al., 2005; Tovar et al., 2003) que se basa en la

estimación de la digestibilidad enzimática del almidón, pero difieren de acuerdo a las enzimas utilizadas en las pruebas, así como las circunstancias durante la hidrólisis. Los métodos *In vivo* proporcionan información más real debido a que los almidones se encuentran en la matriz real en la que pueden ser digeridos y absorbidos de acuerdo con el metabolismo.

La respuesta glucémica medidas después del consumo de las tortillas de harina nixtamalizada comercial y los tratamientos seleccionados, así como la solución referencia de glucosa se muestran en la Figura 21.



**Figura 21. Respuesta glucémica en sangre de ocho voluntarios sanos después del consumo de tortillas. (●) solución de glucosa, (■) harina comercial, (▼) 0.8 %  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , (▲) 0.4 %  $\text{CaCO}_3$ , (◆) 0.6 %  $\text{CaCl}_2$ , (○) 0.6 %  $\text{CaSO}_4$ .**

El nivel de glucosa más alto para las curvas *in vivo* se produjo en los casos de consumo de la solución de glucosa (control) y la tortilla de harina nixtamalizada comercial. Después de alcanzar el máximo nivel de glucosa, los valores muestran una disminución lenta en el caso de las tortillas del proceso ecológico utilizando 0.6 % de  $\text{CaCl}_2$  y 0.6 % de  $\text{CaSO}_4$ , mientras que el aumento de la curva es más

pronunciado para las tortillas de harina nixtamalizada comercial, y las elaboradas con el proceso ecológico utilizando 0.4 % de  $\text{CaCO}_3$  y las del proceso tradicional con 0.8 % de  $\text{Ca(OH)}_2$ , mientras que la curva con la disminución más abrupta es la de la solución de glucosa. Esto significa que las tortillas de harina nixtamalizada comercial, y las de los tratamientos con 0.4 % de  $\text{CaCO}_3$  y 0.8 % de  $\text{Ca(OH)}_2$ , son rápidamente digeridas liberando una alta concentración de glucosa en la sangre (índice glucémico alto), y la caída del nivel de glucosa es bastante brusco. En las tortillas del proceso ecológico con 0.6 % de  $\text{CaCl}_2$  y 0.6 % de  $\text{CaSO}_4$  los azúcares son liberados progresivamente durante la digestión, lo que lleva a un aumento sostenido de glucosa postprandial en sangre y la respuesta a la insulina, así como una lenta disminución del nivel de azúcar en la sangre.

Los valores de índice glucémico medidos *in vivo* para las cinco muestras de tortillas probadas se muestran en el Cuadro 10. Las tortillas elaboradas con harina comercial fueron de alto índice glucémico, las tortillas elaboradas con el proceso ecológico utilizando 0.4 % de  $\text{CaCO}_3$  y 0.6 % de  $\text{CaSO}_4$  se clasificaron como alimentos de índice glucémico medio (IG = 50-70). Estos valores son más altos que el índice glucémico de la tortilla elaborada con el proceso tradicional usando 0.8 % de  $\text{Ca(OH)}_2$  y la elaborada con el proceso ecológico utilizando 0.6 % de  $\text{CaCl}_2$ , pero similares o inferiores a los reportados por otros autores utilizando métodos *in vitro* (Bello-Pérez et al., 2006; Hernández-Urbe et al., 2007; Islas-Hernández et al., 2007; Sáyago-Ayerdi et al., 2005; Tovar et al., 2003).

En la Tabla Internacional de índice glucémico de los alimentos (Atkinson et al., 2008), la tortilla de maíz (elaborada con el proceso tradicional) tiene un índice glucémico entre 43 y 55, por lo que el valor encontrado en nuestro estudio para la tortilla del proceso tradicional con 0.8 % de  $\text{Ca(OH)}_2$  es consistente con lo reportado.

Las tortillas elaboradas con harina comercial tuvieron un bajo contenido de lípidos, proteína y fibra dietaria total así como una alta cantidad de almidón disponible, esta es la razón por la cual tuvieron un índice glucémico alto (Cuadros 9 y 10). Resultados similares para la tortilla de harina nixtamalizada comercial han sido reportados por Sáyago-Ayerdi et al. (2005) y Bello-Pérez et al. (2014a).

El consumo de tortillas elaboradas con el proceso ecológico utilizando 0.6 % de  $\text{CaCl}_2$  tuvo el valor más bajo de índice glucémico y está clasificada como un producto de bajo índice glucémico ( $\text{IG} < 50$ ). El bajo índice glucémico de las tortillas del proceso ecológico con 0.6 % de  $\text{CaCl}_2$  se debe a su alto contenido de carbohidratos no glucémicos (almidón resistente, fibra dietaria soluble, fibra dietaria insoluble), los cuales cuando absorben agua en el intestino delgado incrementan su viscosidad y tienen cualquiera de los siguientes efectos: retardan la difusión de la glucosa a las células epiteliales de la mucosa intestinal, atrapan la glucosa y reducen su disponibilidad para ser absorbida, e inhiben la acción de la amilasa pancreática sobre el almidón (Bornet et al., 1997).

En base a lo anterior se concluye que las tortillas elaboradas con el proceso ecológico de nixtamalización son una excelente opción para el consumo por personas cuya dieta exija un control del nivel de glucosa en sangre, y en el caso de personas sanas su consumo podría traer algún efecto positivo a su salud.

## VII. CONCLUSIONES

Las propiedades térmicas y reológicas del almidón de maíz durante el proceso de nixtamalización ecológico y tradicional cambian debido a tres causas principales: el proceso de templado, el tipo de sal de calcio, y la concentración de sal de calcio.

El tipo de sal de calcio aumentó las propiedades térmicas y disminuyeron las propiedades reológicas en el orden:  $\text{CaCl}_2 > \text{CaSO}_4 > \text{Ca(OH)}_2 > \text{CaCO}_3$ , dependiendo de la disociación de cada sal en el agua.

El contenido de almidón resistente aumenta a través del proceso de nixtamalización y elaboración de las tortillas, debido principalmente a la formación de complejos amilosa-lípido (almidón resistente tipo 5)

Las tortillas elaboradas con el proceso ecológico de nixtamalización presentaron valores más altos de almidón resistente, proteína, lípidos y fibra dietaria total en comparación con las tortillas del proceso tradicional y las de harina nixtamalizada comercial.

El índice glucémico más alto se produjo en la tortilla de harina nixtamalizada comercial y el más bajo en las tortillas del proceso ecológico con 0.6 % de  $\text{CaCl}_2$ , la cual presentó una mayor cantidad de carbohidratos no glucémicos que conducen a una baja concentración de azúcar en sangre.

Los procesos de nixtamalización ecológico causaron diferencias significativas en la calidad y propiedades nutricionales de las tortillas en comparación con el proceso de nixtamalización tradicional.

## VIII. REFERENCIAS

- AACC International. 2000. Approved Methods of Analysis, 11th Ed. Método 44-15.02 Humedad; Método 46-16.01 Proteína cruda; Método 08-01.01 Cenizas por combustión; Método 30-25.01 Lípidos; Método 32-07.01 Fibra dietaria total; Método 32-40.01 Almidón resistente; Método 76-13.01 Almidón total. AACC International: St. Paul, MN.
- Agama A., E. 2006. Caracterización morfológica, fisicoquímica y molecular de almidón de maíces pigmentados y estudios bioquímicos de las enzimas involucradas en su biosíntesis. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de Querétaro. Facultad de Química. Querétaro, México. 124 p.
- Agama-Acevedo, E., R. Rendón-Villalobos, J. Tovar, O. Paredes-López, J. J. Islas-Hernández, and L. A. Bello-Pérez, L. A. 2004. In vitro starch digestibility changes during storage of maize flour tortillas. *Nahrung/Food* 48:38-42.
- Agama-Acevedo, E., R. Rendón-Villalobos, J. Tovar, S. R. Trejo-Estrada, and L. A. Bello-Pérez. 2005. Effect of storage time on in vitro digestion rate and resistant starch content of tortillas elaborated from commercial corn masas. *Arch. Latinoam. Nutr.* 55:86-92.
- Ahmad, F. B., and Williams, P. A. 1999. Effect of salts on the gelatinization and rheological properties of sago starch. *J. Agric. Food Chem.* 47:3359–3366.
- Alarcón C., P., M. Olivo y L. Solís. 2001. Diversidad gastronómica de los pueblos indios de México. *Etnoecológica* 6(8):100-102.
- Alvarado-Gil, J. J., H. Vargas, F. Sánchez-Sinencio, J. González-Hernández, and L. C. M. Miranda. 1997. Effect of lime content on the processing conditions of cooked maize tortillas: changes of thermal, structural, and rheological properties. *Opt. Eng.* 36(2):348-357.
- Asp, N. G. 1992. Resistant starch. Proceedings from the Second Plenary Meeting of EURESTA. *Eur. J. Clinical Nutr.* 46(Suppl.2): SI.

- Atkinson, F. S., K. Foster-Powell, and J. C. Brand-Miller. 2008. International Tables of Glycemic Index and Glycemic Load Values: 2008. *Diabetes Care* 31:2281-2283.
- Badui, S. D. 2001. *Química de los alimentos*. Ed. Pearson Education. México, D. F. pp. 94-104.
- Baks, T., I. S. Ngene, J. J. G. Van Soest, A. E. M. Janssen, and R. M. Boom. 2007. Comparison of methods to determine the degree of gelatinisation for both high and low starch concentrations. *Carboh. Polym.* 67:481-490.
- Baldwin, P. M. 2001. Starch granule associated proteins and polypeptides: a review. *Starch/Stärke* 53:475–503.
- Bedolla, S., and L. W. Rooney. 1982. Cooking maize for masa production. *Cereal Foods World* 27:219-221.
- Bello-Pérez, L. A., P. Osorio-Díaz, E. Agama-Acevedo, J. Solorza-Feria, J. F. Toro-Vázquez, and O. Paredes-López. 2003. Chemical and physicochemical properties of dried wet masa and dry masa flour. *J. Sci. Food Agric.* 83:408-412.
- Bello-Pérez, L. A., J. R. Rendón-Villalobos, E. Agama-Acevedo, and J. L. Islas-Hernández. 2006. In vitro starch digestibility of tortillas elaborated by different masa preparation procedures. *Cereal Chem.* 83:188-193.
- Bello-Pérez, L. A., P. C. Flores-Silva, E. Agama-Acevedo, J. D. Figueroa-Cárdenas, J. A. López-Valenzuela, and O. H. Campella. 2014a. Effect of the nixtamalization with calcium carbonate on the indigestible carbohydrate content and starch digestibility of corn tortilla. *J. Cereal Sci.* 60:421-425.
- Bello-Pérez, L. A., P. C. Flores-Silva, E. Agama-Acevedo, y P. Osorio-Díaz. 2014b. Almidón resistente y de digestión lenta como alimento funcional. En: *Los alimentos funcionales: Un nuevo reto para la industria de alimentos*. G. A. González-Aguilar, G. A., A. F. González-Córdova, B. Vallejo-Córdova, E. Álvarez-Parrilla, y H. S. García (Eds). AGT Editor. pp. 378-412.
- Biliaderis, C. G. 1991. The structure and interactions of starch with food constituents. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 69:60-63.

- Bornet, F. R. J., M. S. Billaux, and B. Messing. 1997. Glycemic index concept and metabolic diseases. *Int. J. Biol. Macromol.* 21:207-219.
- Bressani, R. 2008. Cambios nutrimentales en el maíz inducidos por el proceso de nixtamalización. *In* Rodríguez G., M. E., S. O. Serna S., y F. Sánchez S. (Eds.) Nixtamalización del maíz a la tortilla. Aspectos nutrimentales y toxicológicos. Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro. pp. 19-80.
- Bressani, R., Turcios, J. C., Colmenares R., A. S., and Palacios P., P. 2004. Effect of processing conditions on phytic acid, calcium, iron, and zinc contents of lime-cooked maize. *J. Agric. Food Chem.* 52:1157-1162.
- Bryant, C. M., and B. R. Hamaker. 1997. Effect of lime on gelatinization of corn flour and starch. *Cereal Chem.* 74:171–175.
- Campas-Baypoli, O. N., E. C. Rosas-Burgos, P. I. Torres-Chávez, B. Ramírez-Wong, and S. O. Serna-Saldívar. 1999. Physicochemical changes of starch during maize tortilla production. *Starch/Stärke* 51:173–177.
- Campas-Baypoli, O. N., E. C. Rosas-Burgos, P. I. Torres-Chávez, B. Ramírez-Wong, and S. O. Serna-Saldívar. 2002. Physicochemical changes of starch in maize tortillas during storage at room and refrigeration temperatures. *Starch/Stärke.* 54:358–363.
- Campechano C., E. M., J D Figueroa C., J. Arámbula V., H. E. Martínez F., S. J. Jiménez S., and J. Gabriel L. B. 2012. New ecological nixtamalization process for tortilla production and its impact on the chemical properties of whole corn flour and wastewater effluents. *Int. J. Food Sci. Tech.* 47:564–571.
- Casarrubias-Castillo, M. G., G. Mendez-Montevalvo, S. L. Rodríguez-Ambriz, M. M. Sánchez-Rivera, y L. A. Bello-Pérez. 2012. Diferencias estructurales y reológicas entre almidones de frutas y cereales. *Agrociencia* 46(5):455-466.
- Castillo V., K. C., Ochoa M., L. A., Figueroa C., J. D., Delgado L., E., Gallegos I., J. A., and Morales C., J. 2009. Efecto de la concentración de hidróxido de calcio y tiempo de cocción del grano de maíz (*Zea mays* L.) nixtamalizado, sobre las características fisicoquímicas y reológicas del nixtamal. *Arch. Latinoam. Nutr.* 59(4):425-432.



- Ellwood, E. C., M. P. Scott, W. D. Lipe, R. G. Matson, and J. G. Jones. 2013. Stone-boiling maize with limestone: experimental results and implications for nutrition among SE Utah preceramic groups. *J. Arch. Sci.* 40:35-44.
- Englyst, H. N., S. M. Kingman, and J. H. Cummings. 1992. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *Eur. J. Clin. Nutr.* 46:S33-S50.
- Escalante-Aburto, A., B. Ramírez-Wong, P. I. Torres-Chávez, J. M. Barrón-Hoyos, J. D. Figueroa C., y J. López-Cervantes. 2013. La nixtamalización y su efecto en el contenido de antocianinas de maíces pigmentados, una revisión. *Rev. Fitotec. Mex.* 36(4):429-437.
- Evans, I. D., and D. R. Haisman. 1982. The effect of solutes on the gelatinization temperature range of potato starch. *Starch/Stärke* 34:224-231.
- Figueroa C., J. D. 2012. Procesos ecológicos en la nixtamalización para la producción de tortilla integral de maíz. *In* Espinoza A., D. E. (Editor). *Memorias-2012. Cuarto Congreso Internacional de Nixtamalización. Querétaro, México, 16 al 19 de octubre de 2012.* pp. 39-40.
- Figueroa C., J. D., M. G. Acero G., N. L. Vasco M., A. Lozano G., and L. Flores A. 2003. Nutritional quality of nixtamal tortillas fortified with vitamins and soy proteins. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 54(3):189-200.
- Figueroa C., J. D., M. G. Acero G., N. L. Vasco M., A. Lozano G., L. Flores A, y J. González H. 2001. Fortificación y evaluación de tortillas de nixtamal. *Arch. Latinoam. Nutr.* 51(3):293-302.
- Figueroa C., J. D., F. Martínez B., J. González H., F. Sánchez S., J L Martínez M., y M. Ruiz T. 1994. Modernización tecnológica del proceso de nixtamalización. *Avance y Perspectiva* 13:323-329.
- Figueroa C., J. D., A. Rodríguez C., J. J. Vélez M. 2011. Proceso ecológico de nixtamalización para la producción de harinas, masas y tortillas integrales. Mexican patent, 289, 339. PA/a/2005/011797. pp. 1–22.
- Figueroa C., J. D., J. J. Véles-Medina, E. M. Tolentino-López, M. Gaytán-Martínez, F. Aragón-Cuevas, N. Palacios, M. Willcox. 2013a. Effect of traditional

- nixtamalization process on starch annealing and the relation to pozole quality. *J. Food Process Eng.* 36:704-714.
- Figuroa, J. D., J. J. Véles M., M. A. Hernández L., F. Aragón C., M. Gaytán M., E. Chávez M., N. Palacios, and M. Willcox. 2013b. Effect of annealing from traditional nixtamalisation process on the microstructural, thermal, and rheological properties of starch and quality of pozole. *J. Cereal Sci.* 58:457-464.
- Flores-Farías, R., F. Martínez-Bustos, Y. Salinas-Moreno, Y Kil C., J. González H., and E. Ríos. 2000. Physicochemical and rheological characteristics of commercial nixtamalized Mexican maize flours for tortillas. *J. Sci. Food Agric.* 80:657-664.
- Flores-Morales, A., M. Jiménez-Estrada, and R. Mora-Escobedo. 2012. Determination of the structural changes by FT-IR, Raman, and CP/MAS <sup>13</sup>C NMR spectroscopy on retrograded starch of maize tortillas. *Carboh. Polym.* 87:61-68.
- García-Rosas, M., A. Bello-Pérez, H. Yee-Madeira, G. Ramos, A. Flores-Morales, and R. Mora-Escobedo. 2009. Resistant starch content and structural changes in maize (*Zea mays*) tortillas during storage. *Starch/Stärke* 61:414–421.
- Gómez A., C. A., F. Martínez B., J. D. Figuroa C., C. A. Ordorica F., and J. González H. 1996. Cambios en algunos componentes químicos y nutricionales durante la preparación de tortillas de maíz elaboradas con harinas instantáneas obtenidas por extrusión continua. *Arch. Latinoam. Nutr.* 46(4):315-319.
- Gómez, M. H., J. K. Lee, C. M. McDonough, R. D. Waniska, and L. W. Rooney. 1992. Corn starch changes during tortilla and tortilla chip processing. *Cereal Chem.* 69(3):275-279.
- Gough, B. M., and J. N. Pybus. 1973. Effect of metal cations on the swelling and gelatinization behavior of large wheat starch granules. *Starch/Stärke* 25:123-130.

- Grajales-García, E. M., P. Osorio-Díaz, I. Goñi, D. Hevert-Hernández, S. H. Guzmán-Maldonado, and L. A. Bello-Pérez. 2012. Chemical composition, starch digestibility and antioxidant capacity of tortilla made with a blend of quality protein maize and black bean. *Int. J. Mol. Sci.* 13:286-301.
- Hasjim, J., Y. Ai, J. Jane. 2013. Novel applications of amylose-lipid complexes as resistant starch type 5. *In Resistant Starch: Sources, Applications and Health Benefits*. Y. C. Shi and C. C. Maningat (Eds). IFT Press: UK. pp. 79-94.
- Hernández-Uribe, J. P., E. Agama-Acevedo, J. J. Islas-Hernández, J. Tovar, and L. A. Bello-Pérez. 2007. Chemical composition and in vitro starch digestibility of pigmented corn tortilla. *J. Sci. Food Agric.* 87:2482–2487.
- Hernández-Uribe, J. P., G. Ramos-López, H. Yee-Madeira, and L. A. Bello-Pérez. 2010. Physicochemical, rheological and structural characteristics of starch in maize tortillas. *Plant Foods Hum. Nutr.* 65:152–157.
- Herrera-Corredor, J. A., W. Prinyawiwatkul, H. Kyoon N., P. Chompreeda, K. Garcia, J. E. P. Saidu, and A. Khachatryan. 2010. Influence of education/profession of Mexican consumers on acceptance and purchase intent of corn tortilla. *J. Sensory Stud.* 25:108–126.
- Herrera-Corredor, J. A., J. E. P. Saidu, A. Khachatryan, W. Prinyawiwatkul, A. Carballo-Carballo, and R. Zepeda-Bautista, R. 2007. Identifying drivers for consumer acceptance and purchase intent of corn tortilla. *J. Food Sci.* 72:727-731.
- Illescas, R. 1943. La teoría química de la formación del nixtamal. *Soc. Mex. Hist. Nat.* 4:129-132.
- Iltis, H. H. 2000. Homeotic sexual translocations and the origin of maize (*Zea mays*, Poaceae): A new look at an old problem. *Econ. Bot.* 54(1):7-42.
- Islas-Hernández, J. J., R. Rendón-Villalobos, E. Agama-Acevedo, F. Gutierrez-Meráz, J. Tovar, G. Arámbula-Villa, and L. A. Bello-Pérez. 2006. In vitro digestion rate and resistant starch content of tortillas stored at two different temperatures. *LWT-Food Sci. Tech.* 39:947–951.

- Islas-Hernández, J. J., J. R. Rendón-Villalobos, E. Agama-Acevedo, J. Tovar, and L. A. Bello-Pérez. 2007. Chemical composition and in vitro starch digestibility of corn tortillas with added amaranth flour. *J. Sci. Food Agric.* 87:2348–2352.
- Jackson, D. S., L. W. Rooney, O. R. Kunze, and R. D. Waniska. 1988. Alkaline processing properties of stress-cracked and broken corn (*Zea mays* L.). *Cereal Chem.* 65(2):133-137.
- Jacobs, H., and J. A. Delcour. 1998. Hydrothermal modifications of granular starch, with retention of the granular structure: A review. *J. Agric. Food Chem.* 46:2895-2905.
- Jane, J. 1993. Mechanism of starch gelatinization in neutral salt solutions. *Starch/Starke* 45(5):161-166.
- Jayakody, L., and R. Hoover. 2008. Effect of annealing on the molecular structure and physicochemical properties of starches from different botanical origins— A review. *Carboh. Polym.* 74(3): 691–703.
- Johnson, W. B., W. S. Ratnayake, D. S. Jackson, K. Lee, T. J. Herrman, S. R. Bean, and S. C. Mason. 2010. Factors affecting the alkaline cooking performance of selected corn and sorghum hybrids. *Cereal Chem.* 87(6):524–531.
- Khan, M. N., M. C. Des Rosiers, L. W. Rooney, R. G. Morgan, and V. E. Sweat. 1982. Corn tortillas: evaluation of corn cooking procedures. *Cereal Chem.* 59(4):279-284.
- Kato Y., T. A. 2009. Teorías sobre el origen del maíz. *In* Kato Y., T. A., C. Mapes S., L. M. Mera O., J. A. Serratos H., y R. A. Bye B. (Eds.). Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F. pp. 43-68.
- Katz, S. H., M. L. Heddiger, and L. A. Valleroy. 1974. Traditional maize processing techniques in the New World. *Science* 184:765–773.

- Lee, B., L. A. Bello-Pérez, A. H. Lin, C. Young K., and B. R. Hamaker. 2013. Importance of location of digestion and colonic fermentation of starch related to its quality. *Cereal Chem.* 90(4):335–343.
- Lindeboom, N., P. R. Chang, and R. T. Tyler. 2004. Analytical, biochemical and physicochemical aspects of starch granule size, with emphasis on small granule starches: a review. *Starch/Stärke* 56:89-99.
- Martínez-Flores, H. E., M. G. Garnica-Romo, V. J. U. Romero, and J. B. Yahuaca. 2006. Evaluating the quality of lipids during alkaline cooking of corn. *J. Food Lipids* 13:177-185.
- Mauricio S., R. A., J. D. Figueroa C., S. Taba, M. Reyes V., F. Rincón S., y A. Mendoza G. 2004. Caracterización de accesiones de maíz por calidad de grano y tortilla. *Rev. Fitotec. Mex.* 27(3):213-222.
- Maya-Cortés, D. C., J. D. Figueroa C., M. G. Garnica R., R. A. Cuevas V., R. Cortés M., J. J. Vélez M., and H. E. Martínez F. Whole-grain corn tortilla prepared using an ecological nixtamalisation process and its impact on the nutritional value. *Int. J. Food Sci. Tech.* 45:23–28.
- Mendez-Montevalvo, G., M. M. Sánchez-Rivera, O. Paredes-López, and L. A. Bello-Pérez. 2006. Thermal and rheological properties of nixtamalized maize starch. *Int. J. Biol. Macromol.* 40:59–63.
- Milán-Carrillo, J., R. Gutiérrez-Dorado, E. O. Cuevas-Rodríguez, J. A. Garzón-Tiznado, and C. Reyes-Moreno. 2004. Nixtamalized flour from quality protein maize (*Zea mays* L.). Optimization of alkaline processing. *Plant Food Hum. Nutr.* 59:35-44.
- Misra, M. K., K. W. Ragland, and A. J. Baker. 1993. Wood ash composition as a function of furnace temperature. *Biomass Bioener.* 4(2):103-116.
- Mondragón, M., L. A. Bello-Pérez, E. Agama-Acevedo, D. Betancur-Ancona, and J. L. Peña. 2004. Effect of cooking time, steeping and lime concentration on starch gelatinization of corn during nixtamalization. *Starch/Stärke* 56:248–253.

- Moritaka, H., M. Ishihara, T. Matsumoto, H. Iino, and S. Kimura. 2003. Effect of calcium and magnesium agents on gelatinization of nonglutinous rice starch. *J. Japan. Soc. Food Sci. Tech.* 50(11):517-522.
- Narváez G., D. E., J. D. Figueroa C., S. Taba, F. Rincon S. 2006. Kernel microstructure of Latin American races and their thermal and rheological properties. *Cereal Chem.* 83(6):605-610.
- Novotni, D., N. Cukelj, B. Smerdel, M. Bituh, F. Dujmi, and D. Curic. 2012. Glycemic index and firming kinetics of partially baked frozen gluten-free bread with sourdough. *J. Cereal Sci.* 55:120-125.
- Ohno, T., and N. S. Erich. 1994. Phosphorus and potassium availability in wood ash-amended soils: an incubation study. Research Report No. 2. Maine agricultural and forest experiment station. University of Maine. 16 p.
- Oosten, B. J. 1982. Tentative hypothesis to explain how electrolytes affect the gelatinization temperature of starches in water. *Starch/Stärke* 34:233-239.
- Oosten, B. J. 1983. Explanations for phenomena arising from starch electrolyte interactions. *Starch/Stärke* 35:166-169.
- Ortega, E. I., E. Villegas, and S. K. Vasal. 1986. A comparative study of protein changes in normal and quality protein maize during tortilla making. *Cereal Chem.* 63:446-451.
- Osorio-Díaz, P., E. Agama-Acevedo, L. A. Bello-Pérez, J. J. Islas-Hernández, N. O. Gómez-Montiel, and O. Paredes-López. 2011. Effect of endosperm type on texture and in vitro starch digestibility of maize tortillas. *LWT- Food Sci. Tech.* 44:611-615.
- Otsuka, M., H. Moritaka, H. Fukuba, S. Kimura, M. Ishihara. 2001. Effects of calcium carbonate and calcium hydroxide on gelatinization and retrogradation of corn starch. *J. Japan. Soc. Food Sci. Tech.* 48(10):751-58.
- Pappa, M. R., P. Palacios P., and R. Bressani. 2010. Effect of lime and wood ash on the nixtamalization of maize and tortilla chemical and nutritional characteristics. *Plant. Foods Hum. Nutr.* 65:130–135.
- Paredes L., O., F. Guevara L., y L. A. Bello P. 2009. La nixtamalización y el valor nutritivo del maíz. *Ciencias* 92-93:60-70.

- Paredes-López, O., and M. E. Saharópulos. 1982. Scanning electron microscopy studies of limed corn kernels for tortilla making. *Int. J. Food Sci. Tech.* 17(6):687–693.
- Pérez, S., P. Baldwin, and D. J. Gallant. 2009. Structural features of starch. *In* BeMiller J, and R. Whistler (Eds.). *Starch Chemistry and Technology*, 3rd edition. Academic Press. New York, USA. pp.149-192.
- Pflugfelder, R. L., L. W. Rooney, and R. D. Waniska. 1988. Dry matter losses in in commercial corn masa production. *Cereal Chem.* 65(2):127-132.
- Pineda-Gómez, P., D. F. Coral, D. Ramos-Rivera, A. Rosales-Rivera, and M. E. Rodríguez-García. 2011. Thermo-alkaline treatment. A process that changes the thermal properties of corn starch. *Proceed. Food Sci.* 1:370–378.
- Pineda-Gómez, P., A. Rosales-Rivera, and M. E. Rodríguez-García. 2012. Effect of the thermo-alkaline treatment over the thermal degradation of corn starch. *Starch/Starke*, 64:776–785.
- Putseys, J. A., L. Lamberts, and J. A. Delcour. 2010. Amylose-inclusion complexes: Formation, identity and physico-chemical properties. *J. Cereal Sci.* 51:238-247.
- Quintanar-Guzmán, A., M. E. Jaramillo-Flores, R. Mora-Escobedo, L. Chel-Guerrero, and J. Solorza-Feria. 2009. Changes on the structure, consistency, physicochemical and viscoelastic properties of corn (*Zea mays* sp.) under different nixtamalization conditions. *Carboh. Polym.* 78:908–916.
- Rendón-Villalobos, R., L. A. Bello-Pérez, P. Osorio-Díaz, J. Tovar, and O. Paredes-López. 2002. Effect of storage time on in vitro digestibility and resistant starch content of nixtamal, masa, and tortilla. *Cereal Chem.* 79:340–344.
- Rendón-Villalobos, R., E. Agama-Acevedo, J. J. Islas-Hernández, O. Paredes-López, and L. A. Bello-Pérez. 2006a. Effect of hydrocolloid type and concentration on in vitro starch digestibility of stored tortillas using response surface methodology. *J. Food Eng.* 74:153–159.

- Rendón-Villalobos, R., E. Agama-Acevedo, J. J. Islas-Hernández, J. Sánchez-Muñoz, and L. A. Bello-Pérez. 2006b. In vitro starch bioavailability of corn tortillas with hydrocolloids. *Food Chem.* 97:631–636.
- Robelo, C. A. 1904. *Diccionario de aztequismos*. Museo Nacional de Arqueología, Historia y Etnología. México, D. F. 384 p.
- Robles, R. R., E. D. Murray, and O. Paredes-López. 1988. Physico-chemical changes of maize starch during the lime-cooking treatment for tortilla making. *Int. J. Food Sci. Technol.* 23:91-98.
- Rodríguez, M. E., J. M. Yáñez, A. Cruz-Orea, J. J. Alvarado-Gil, O. Zelaya-Ángel, F. Sánchez-Sinencio, H. Vargas, J. D. Figueroa, F. Martínez B., J. L. Martínez-Montes, J. González-Hernández, and L. C. M. Miranda. 1995. The influence of slaked lime content on the processing conditions of cooked maize tortillas: changes of thermal, structural and rheological properties. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 201:236-240.
- Rodríguez, M. E., M. Yáñez-Limón, J. J. Alvarado-Gil, H. Vargas, F. Sánchez-Sinencio, J. D. C. Figueroa, F. Martínez-Bustos, J. L. Martínez-Montes, J. González-Hernández, M. D. Silva, and L. C. M. Miranda. 1996. Influence of the structural changes during alkaline cooking on the thermal, rheological, and dielectric properties of corn tortillas. *Cereal Chem.* 73(5):593-600.
- Rodríguez M., L. I., J. D. Figueroa C., M. Ramos G., and L. L. Méndez L. 2013. Nutraceutical properties of flour and tortillas made with an ecological nixtamalization process. *J. Food Sci.* 78:1529-1534.
- Rooney, L. W., and E. L. Suhendro. 1999. Perspectives on nixtamalization (alkaline cooking) of maize for tortillas and snacks. *Cereal Foods World* 44:466-470.
- Ruiz-Gutiérrez, M. G., A. Quintero-Ramos, C. O. Meléndez-Pizarro, R. Talamás-Abbud, J. Barnard, R. Márquez-Meléndez, and D. Lardizábal-Gutierrez. 2012. Nixtamalization in two steps with different calcium salts and the relationship with chemical, texture and thermal properties in masa and tortilla. *J. Food Process Eng.* 35:772–783.



- Salinas-Moreno, Y., F. Martínez-Bustos, M. Soto-Hernández, R. Ortega-Paczka, y J. L. Arellano-Vázquez. 2003. Efecto de la nixtamalización sobre las antocianinas del grano de maíces pigmentados. *Agrociencia* 37: 617-628.
- Sánchez-Tovar, S. A., A. Salazar-Zazueta, B. Mena-Iniesta, and C. Durán de Bazúa. 2004. Viscoamylographic studies on *Zea mays* [Mexican white tuxpeño maize] partial gelatinization with calcium hydroxide. *Starch/Stärke* 56:526-534.
- Saura-Calixto, F., I. Goñi, L. Bravo, and E. Mañas. 1993. Resistant starch in foods: modified method for dietary fiber residues. *J. Food Sci.* 58:642–643.
- Sáyago-Ayerdi, S. G., J. Tovar, P. Osorio-Díaz, O. Paredes-López, and L. A. Bello-Pérez. 2005. In vitro starch digestibility and predicted glycemic index of corn tortilla, black beans, and tortilla-bean mixture: effect of cold storage. *J. Agric. Food Chem.* 53:1281-1285.
- SE-DGIB (Secretaría de Economía-Dirección General de Industrias Básicas). 2012. Análisis de la cadena de valor maíz-tortilla: situación actual y factores de competencia local. [http://www.economia.gob.mx/files/comunidad\\_negocios/industria\\_comercio/informacionSectorial/20120411\\_analisis\\_cadena\\_valor\\_maiz-tortilla.pdf](http://www.economia.gob.mx/files/comunidad_negocios/industria_comercio/informacionSectorial/20120411_analisis_cadena_valor_maiz-tortilla.pdf). (Consulta: mayo, 2013).
- SE-DGN (Secretaría de Economía-Dirección General de Normas). 2002. NMX-FF-034/1-SCFI-2002. Productos alimenticios 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. México, D. F. 18 p.
- Sefa-Dedeh, S., B. Cornelius, E. Sakyi-Dawson, and E. O. Afoakwa. 2004. Effect of nixtamalization on the chemical and functional properties of maize. *Food Chem.* 86:317–324.
- Serna-Saldívar, S. O., L. W. Rooney, and L. W. Greene. 1992. Effect of lime treatment on the bioavailability of calcium in diets of tortillas and beans: bone and plasma composition in rats. *Cereal Chem.* 69(1):78.81.

- Singh, S., J. Singh, L. Kaur, N. S. Sodhi, and B. S. Gill. 2003. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources, a review. *Food Chem.* 81:219–231.
- Tester, F. R., and S. J. J. Debon. 2000. Annealing of starch a review. *Int. J. Biol. Macromol.* 27: 1-12.
- Tester, F. R., and J. Karkalas. 2001. The effects of environmental conditions on the structural features and physic-chemical properties of starches. *Starch* 53:513-519.
- Tester, F. R., J. Karkalas, and X. Qui. 2004. Starch-composition, fine structure and architecture. *J. Cereal Sci.* 39:151-165.
- Tovar, J., S. G. Sáyago-Ayerdi, C. Peñalver, O. Paredes-López, and L. A. Bello-Pérez. 2003. In vitro starch hydrolysis index and predicted glycemic index of corn tortilla, black beans (*Phaseolus vulgaris* L.), and mexican “taco”. *Cereal Chem.* 80:533–535.
- Trejo-González, A., A. Feria-Morales, and C. Wild-Altamirano. 1982. The role of lime in the alkaline treatment of corn for tortilla preparation. *Advan. Chem. Ser.* 198:245–263.
- USDA (United States Department of Agriculture). 2010. Mexico. Grain and Feed Annual. Corn Production Forecast to Rebound (GAIN Report Number: MX0017). <http://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Grain%20and%20Feed%20Annual%20Mexico%20City%20Mexico%203-12-2010.pdf>. (Consulta: mayo, 2013).
- Valderrama-Bravo, C., A. Rojas-Molina, E. Gutiérrez-Cortés, I. Rojas-Molina, A. Oaxaca-Luna, E. De la Rosa-Rincón, and M. E. Rodríguez-García. 2010. Mechanism of calcium uptake in corn kernels during the traditional nixtamalization process: Diffusion, accumulation and percolation. *J. Food Eng.* 98:126–132.
- Vandeputte, G. E., and J. A. Delcour. 2004. From sucrose to starch granule to starch physical behavior: a focus on rice starch. *Carboh. Polym.* 58:245-266.

- Véles M., J. J. 2004. Caracterización de tostadas elaboradas con maíces pigmentados y diferentes métodos de nixtamalización. Tesis de maestría. Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada. Instituto Politécnico Nacional. Querétaro, México. 182 p.
- Watson, S. A. 2003. Description, development, structure, and composition of the corn kernel. *In* White, P. J., and L. A. Johnson (Eds.). *Corn: chemistry and technology*. Second edition. American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, USA. pp. 69-106.
- Weber, E. J. 1978. Corn lipids. *Cereal Chem.* 55:572-584.
- Whistler, R. L., y J. R. Daniel. 1984. Molecular structure of starch. *In* J. Bemiller and R. L. Whistler (Eds). *Starch. Chemistry and Technology*. Academic Press. New York, USA. pp. 154-180.
- Zhang, Y. and P. S. Cremer. 2006. Interactions between macromolecules and ions: the Hofmeister series. *Current Opinion Chem. Biol.* 10:658–663.
- Zhang, G. and B. Hamaker. 2009. Slowly digestible starch: concept, mechanism, and proposed extended glycemic index. *Critical Rev. Food Sci. Nutr.* 49:852–867.
- Zobel, H. F. 1988. Starch crystal transformations and their industrial importance. *Starch/Stärke* 40:1–7.