



Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Ingeniería  
Maestría en Ingeniería de Calidad y Productividad

**“Extensión de la vida de anaquel de tortillas elaboradas con harina de maíz nixtamalizada obtenida por calentamiento óhmico utilizando conservadores”**

Opción de titulación

**TESIS**

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de:

Maestría en Ingeniería de Calidad y Productividad

**Presenta:**

I. Q. en Al. Hugo Ramírez Araujo

**Dirigido por:**

Dra. Marcela Gaytán Martínez

Centro Universitario  
Santiago de Querétaro, Qro.  
Marzo, 2019.



Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Ingeniería  
Maestría en Ingeniería de Calidad y Productividad

**“Extensión de la vida de anaquel de tortillas elaboradas con harina de maíz nixtamalizada obtenida por calentamiento óhmico utilizando conservadores”**

Opción de titulación  
**TESIS**

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de:  
Maestría en Ingeniería de Calidad y Productividad

**Presenta:**

I. Q. en Al. Hugo Ramírez Araujo


**Dirigido por:**

Dra. Marcela Gaytán Martínez

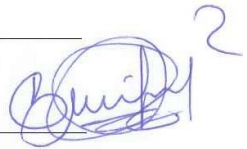
Dra. Marcela Gaytán Martínez  
Presidente

  
Firma

M. I. Javier García Pérez  
Secretario

  
Firma

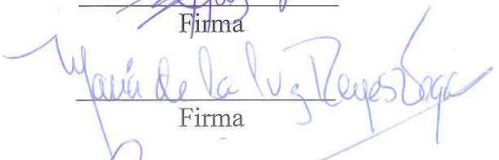
M. I. Guillermo Hiyane Nashiro  
Vocal

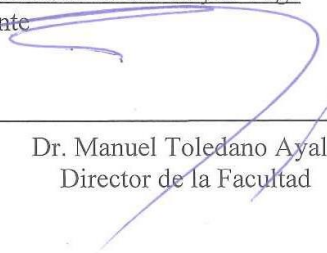
  
Firma


Dra. Montserrat Hernández Iturriaga  
Suplente

  
Firma

Dra. María de la Luz Reyes Vega  
Suplente

  
Firma

  
Dr. Manuel Toledano Ayala  
Director de la Facultad

  
Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña  
Directora de Dirección de Investigación y  
Posgrado

## RESUMEN

La tortilla de maíz es un alimento fundamental en la dieta de la población mexicana, se produce mediante el proceso tradicional de nixtamalización (PTN), este tiene algunas desventajas, la de mayor impacto es la generación de un alto volumen de efluentes contaminantes. El calentamiento óhmico (CO) es una alternativa para producir harina de maíz nixtamalizada (HMN), este proceso no genera efluentes contaminantes. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la adición de diferentes mezclas de conservadores a HMN obtenida mediante CO (HMN-CO) sobre la vida de anaquel de las tortillas. Se evaluó la aceptación sensorial de las tortillas de HMN-CO y se comparó con tortillas procesadas con HMN obtenida por el PTN (HMN-PTN) y comercial (HMN-C). Se desarrolló un diseño de experimentos (DE)  $2^2$ , considerando el propionato de sodio y sorbato de potasio como factores. Se produjeron 4 tratamientos de tortillas empleando HMN-CO, se evaluó su aceptación sensorial y se determinó la vida de anaquel mediante el conteo microbiológico de bacterias mesófilas aerobias (BMA) y hongos y levaduras (HL, variable dependiente en el DE), a los 0, 3 y 6 días de almacenamiento (D0, D3, D6). Las tortillas de HMN-CO tuvieron una alta aceptación sensorial, se presentó diferencia significativa (DS, Kruskal Wallis,  $\alpha = 0.05$ ) entre HMN-CO y HMN-PTN en roabilidad, textura, color, aceptabilidad general y sabor, mientras que entre HMN-CO y HMN-C la hubo en olor y sabor; además se estableció que no existe DS en los 4 tratamientos del DE en olor y sabor. En el D0 no existió DS en el contenido microbiológicos entre los conservadores ( $\alpha = 0.05$ ), mientras que el D3 y D6 sí existió. El propionato de sodio fue el factor que mayor peso tuvo sobre la variable dependiente, las 2 mezclas que contenían la concentración 0.30% fueron las mejores, logrando una vida de anaquel de 6 días. El mismo comportamiento se observó en el contenido de BMA. La mezcla que contiene los niveles altos de ambos factores (propionato de sodio: 0.30%; sorbato de potasio: 0.175%) fue elegida como la de potencial aplicación en un futuro escalamiento industrial.

**Palabras clave:** nixtamalización, tortilla, calentamiento óhmico, vida de anaquel, harina nixtamalizada, conservador.

## SUMMARY

The corn tortilla is a fundamental food in the diet of the Mexican population, it is produced through the traditional nixtamalization process (TNP), this has some disadvantages, the one with the greatest impact is the generation of a high volume of wastewater. Ohmic heating (OH) is an alternative to produce nixtamalized corn flour (NCF), in this process wastewater is not generated. The aim of the present work was to evaluate the effect of the addition of different mixtures of preservatives to NCF obtained by OH (OH-NCF) on the tortilla's shelf life. The sensory acceptance of the OH-NCF tortillas was evaluated and compared with tortillas processed with NCF obtained by the TNP (TNP-NCF) and commercial (C-NCF). A 2<sup>2</sup> experimental design (ED) was developed, considering sodium propionate and potassium sorbate as factors. The 4 treatments of tortillas were produced using OH-NCF, their sensory acceptance was evaluated and the shelf life was determined by the microbiological count of aerobic mesophilic bacteria (AMB), moulds and yeasts (MY, dependent variable in the ED) was evaluated too, at 0, 3 and 6 days of storage (D0, D3, D6). The OH-NCF tortillas had a high sensory acceptance, significant difference was presented (SD, Kruskal Wallis,  $\alpha = 0.05$ ) between OH-NCF and TNP-NCF in rollability, texture, color, general acceptability and taste, while between OH-NCF and C-NCF there was in smell and taste; it was also established that there is not SD in the 4 treatments of ED in smell and taste. In the first day there was not SD in the microbiological counts between the preservatives ( $\alpha = 0.05$ ), while in the third day and sixth day there was SD. Sodium propionate was the factor that had greater weight on the dependent variable, the 2 mixtures containing the concentration 0.30% were the best, achieving a shelf life of 6 days. The same behavior was observed in the content of AMB. The mixture containing the high levels of both factors (sodium propionate: 0.30%, potassium sorbate: 0.175%) was chosen as the potential application in a future industrial scaling.

**Keywords:** nixtamalization, tortilla, ohmic heating, shelf life, nixtamalized flour, preservative.

## DEDICATORIA

*A mis amados padres María Carmen y Antonio, y hermanas, Marícela, Elizabeth, Adriana, Erika, por su enorme apoyo en cada uno de las metas que he emprendido en mi vida, ellos me han motivado y guiado para superar cada obstáculo que se ha cruzado en mi camino.*

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi alma mater, la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ) que mediante la Dirección de Investigación y Posgrado de la Facultad de Ingeniería me concedió la oportunidad de cursar la Maestría en Ingeniería en Calidad y Productividad.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para realizar mis estudios de posgrado.

Agradezco al Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada (CICATA) Unidad Querétaro, que a través del Dr. Eduardo Morales Sánchez, me permitió el uso de sus laboratorios y equipos para desarrollar parte de la investigación.

Agradezco al Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV) Unidad Querétaro, que mediante el Dr. Juan de Dios Figueroa Cárdenas, me facilitó el uso de sus instalaciones para la obtención de las muestras empleadas en la investigación.

Agradezco al Laboratorio para la Evaluación y Control de Riesgos Microbianos en Alimentos (LECRIMA) de UAQ, que a través de la Dra. Montserrat Sánchez Iturriaga, me brindó el apoyo para el uso de sus instalaciones para la realización de parte de la investigación.

Agradezco a la Dra. Marcela Gaytán por el apoyo, orientación, dedicación y confianza brindados para la realización de este proyecto, sobre todo el haberme compartido parte de sus conocimientos y experiencia que impulsaron mi desarrollo profesional.

Agradezco a cada uno de mis sinodales, Dra. Montserrat Hernández Iturriaga, M.I. Guillermo Hiyane Nashiro, M.I. Javier García Pérez y Dra. María de la Luz Reyes Vega por su contribución al desarrollo de la investigación, ello permitió nutrir su contenido y concluirla en tiempo y forma.

Agradezco a mis compañeros y amigos por el apoyo brindado, además de compartir los retos y satisfacciones que representó el estudio de la Maestría, son personas muy valiosas y solidarias.

A Wendy Arriaga Pérez, mi compañerita de generación, por el apoyo y motivación aportados durante el desarrollo de la investigación y a través de nuestros estudios de Maestría.

## ÍNDICE GENERAL

<b>SUMMARY</b> .....	ii
<b>DEDICATORIA</b> .....	iii
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	iv
<b>ÍNDICE GENERAL</b> .....	v
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	x
<b>ÍNDICE DE FÍGURAS</b> .....	xii
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>2. REVISIÓN LITERARIA</b> .....	4
2.1 Generalidades del maíz .....	4
2.1.1 Estructura del grano de maíz.....	4
2.1.2 Composición química del grano de maíz .....	6
2.2 Proceso tradicional de nixtamalización .....	8
2.2.1 Desventajas del proceso tradicional de nixtamalización.....	10
2.3 Tortillas de maíz .....	11
2.3.1 Proceso de producción de tortillas de maíz.....	12
2.3.2 Parámetros de calidad de HMN y tortillas .....	14
2.4 Vida de anaquel en tortillas de maíz.....	15
2.4.1 Conservadores utilizados en la conservación de tortillas.....	17
2.5 Alternativas tecnológicas al proceso tradicional de nixtamalización .....	20
2.6 Calentamiento óhmico .....	23
2.6.1 Ventajas del calentamiento óhmico .....	25
2.6.2 Uso del calentamiento óhmico en el procesamiento de alimentos.....	26
2.6.3 Uso del calentamiento óhmico en la nixtamalización.....	28

2.7 Diseño de experimentos y modelo de regresión .....	32
<b>3. JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>35</b>
<b>4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS .....</b>	<b>36</b>
4.1 Hipótesis .....	36
4.2 Objetivos.....	36
4.2.1 Objetivo general.....	36
4.2.2 Objetivos específicos.....	36
<b>5. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>37</b>
5.1 Materiales.....	37
5.2 Métodos .....	37
5.2.1 Obtención de harina de maíz nixtamalizada mediante el proceso tradicional (HMN-PTN).....	37
5.2.2 Obtención de harina de maíz nixtamalizada mediante calentamiento óhmico (HMN-CO).....	38
5.2.3 Caracterización de la distribución del tamaño de partícula del maíz empleado para la producción de HMN-CO.....	39
5.2.4 Optimización de la alimentación del maíz durante el calentamiento óhmico....	39
5.2.5 Evaluación de la aceptabilidad sensorial de tortilla obtenida mediante HMN-CO .....	39
5.2.5.1 Producción de tortillas.....	39
5.2.5.2 Desarrollo de la evaluación sensorial.....	40
5.2.6 Evaluación de la aceptabilidad sensorial de tortilla obtenida mediante la formulación de HMN-CO con diferentes mezclas de conservadores .....	41
5.2.6.1 Producción de tortillas.....	41
5.2.7 Caracterización fisicoquímica de HMN-CO y HMN-PTN.....	43



5.2.7.2 Índice de absorción de agua e índice de solubilidad de agua.....	43
5.2.7.3 Capacidad de absorción de agua subjetiva.....	44
5.2.7.4 Perfil de viscosidad .....	44
5.2.7.5 pH.....	44
5.2.7.6 Humedad .....	45
5.2.8 Caracterización fisicoquímica de tortillas producidas mediante HMN-CO y HMN-PTN .....	45
5.2.8.1 Producción de tortillas.....	45
5.2.8.2 Inflado de tortilla.....	45
5.2.8.3 Rolabilidad .....	46
5.2.8.4 Pérdida de peso en tortillas (PPT).....	46
5.2.8.5 Rendimiento de tortilla (RT).....	46
5.2.8.6 Determinación de textura en tortillas .....	46
5.2.8.7 Humedad de las tortillas.....	47
5.2.9 Vida de anaquel de tortilla .....	47
5.2.9.1 Producción de tortillas.....	47
5.2.9.2 Análisis fisicoquímico.....	48
5.2.9.3 Análisis microbiológico .....	48
5.2.9.3.1 Preparación de las muestras .....	48
5.2.9.3.2 Cuantificación de hongos y levaduras .....	48
5.2.9.3.3 Cuantificación de bacterias mesófilas aerobias.....	48
5.2.9.3.4 Determinación de la vida de anaquel .....	49
5.2.9.3.5 Análisis confirmatorio del análisis microbiológico .....	49
5.2.10 Diseño y análisis estadístico.....	49

<b>6. RESULTADOS Y DISCUSIONES</b> .....	51
6.1 Caracterización de la distribución del tamaño de partícula del maíz empleado para la producción de HMN-CO. ....	51
6.2 Optimización de la alimentación del maíz durante el calentamiento óhmico .....	52
6.3 Evaluación de la aceptabilidad sensorial de tortilla obtenida mediante HMN-CO ...	54
6.4 Evaluación de la aceptabilidad sensorial de tortilla obtenida mediante la formulación de HMN-CO con diferentes mezclas de conservadores. ....	55
6.5 Caracterización fisicoquímica de HMN-CO y HMN-PTN .....	57
6.5.1 Distribución de tamaño de partícula de HMN-CO y HMN-PTN .....	57
6.5.2 Índice de absorción de agua e índice de solubilidad de agua.....	58
6.5.3 Capacidad de absorción de agua subjetiva.....	60
6.5.4 Perfil de viscosidad .....	60
6.5.5 pH.....	62
6.5.6 Humedad .....	63
6.6 Caracterización fisicoquímica tortillas producidas mediante HMN-CO y HMN-PTN .....	63
6.6.1 Inflado de tortilla.....	63
6.6.2 Rolabilidad .....	64
6.6.3 Pérdida de peso en tortillas .....	64
6.6.4 Rendimiento de tortilla.....	65
6.6.5 Determinación de textura de tortillas .....	66
6.6.6 Determinación de humedad de tortillas .....	67
6.7 Análisis microbiológico.....	67
6.7.1 Contenido microbiológico en HMN-CO.....	68
6.7.2 Contenido microbiológicos en tortillas recién cocidas .....	69

6.7.3 Contenido microbiológico en tortillas almacenadas durante tres días. ....	73
6.7.4 Contenido microbiológico en tortillas almacenadas durante seis días. ....	79
6.7.5 Vida de anaquel de tortillas.....	85
6.7.6 Análisis confirmatorio del análisis microbiológico. ....	87
<b>7. CONCLUSIONES</b> .....	<b>91</b>
<b>8. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>92</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>105</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Contenido de minerales en el grano de maíz .....	8
Tabla 2. Propiedades de conservadores comúnmente empleados en alimentos.....	19
Tabla 3. Conservadores autorizados en tortillas de maíz nixtamalizado o HMN para preparar tortillas. .....	19
Tabla 4. Diseño de experimentos con dos conservadores a dos niveles de concentración (2 <sup>2</sup> ) empleado en la formulación de HMN-CO. ....	41
Tabla 5. Mezclas de conservadores empleados en la formulación de HMN-CO.....	41
Tabla 6. Rendimiento de 5 lotes de producción de HMM-CO.....	52
Tabla 7. Prueba de Kruskal Wallis para la aceptabilidad sensorial de tortillas obtenidas mediante diferentes tipos de HMN. ....	55
Tabla 8. Prueba de Kruskal Wallis para la evaluación del olor y sabor de tortilla, obtenida mediante la formulación de HMN-CO con diferentes mezclas de conservadores.....	56
Tabla 9. Caracterización fisicoquímica de HMN-PTN y HMN-CO, establecimiento de diferencia significativa de las medias mediante la prueba de Dunnett ( $p \leq 0.05$ ). ....	57
Tabla 10. Prueba de Kruskal Wallis para inflado de tortilla y rolabilidad en tortillas elaboradas a partir de HMN-CO y HMN-PTN. ....	63
Tabla 11. Caracterización fisicoquímica de tortillas producidas a partir de HMN-PTN y HMN-CO, establecimiento de diferencia significativa de las medias mediante la prueba de Dunnett ( $p \leq 0.05$ ). .	65
Tabla 12. Contenido de BMA y HL en HMN-CO.....	68
Tabla 13. Valores de pH y contenido de BMA y HL en tortillas recién elaboradas formuladas con cuatro mezclas de conservadores (cero días de almacenamiento).....	70
Tabla 14. Contenido de HL y BMA en tortillas formuladas con cuatro mezclas de conservadores (tres días de almacenamiento).....	73
Tabla 15. ANOVA del efecto de dos conservadores (con dos niveles) sobre el contenido de HL en tortillas almacenadas durante tres días. ....	73
Tabla 16. Contenido de HL y BMA en tortillas formuladas de cuatro mezclas de conservadores (6 días de almacenamiento).....	79
Tabla 17. ANOVA del efecto de dos conservadores (con dos niveles) sobre el contenido de HL en tortillas almacenadas durante seis días.....	79

Tabla 18. Vida de anaquel de tortillas elaboradas a partir de HMN-CO formulada con diferentes mezclas de conservadores. ....	86
Tabla 19. Valores de pH y contenido de HL y BMA en tortillas recién elaboradas a partir de HMN-CO y HMN-PTN formuladas con la mezcla 4 de conservadores (cero días de almacenamiento).....	87
Tabla 20. Contenido de HL y BMA en tortillas elaboradas a partir de HMN-CO y HMN-PTN formuladas con la mezcla 4 de conservadores (tres días de almacenamiento).....	88
Tabla 21. Contenido de HL y BMA en tortillas elaboradas a partir de HMN-CO y HMN-PTN formuladas con la mezcla 4 de conservadores (seis días de almacenamiento). ....	89
Tabla 22. Contenido de HL y BMA en tortillas elaboradas a partir de HMN-CO formuladas con la mezcla 4 de conservadores (siete días de almacenamiento).....	89
Tabla 23. Vida de anaquel de tortillas elaboradas a partir de HMN-CO y HMN-PTN formuladas con la mezcla 4 de conservadores (experimento de confirmación). ....	90

## ÍNDICE DE FÍGURAS

Figura 1. Estructura del grano de maíz .....	6
Figura 2. Proceso industrial de producción de HMN.....	13
Figura 3. Diagrama de un calentador óhmico.....	24
Figura 4. Cocedor óhmico continuo. ....	29
Figura 5. Boleta empleada para la evaluación de la aceptabilidad sensorial de tortilla obtenida mediante HMN-CO.....	40
Figura 6. Boleta empleada para la evaluación de la aceptabilidad sensorial de olor en tortilla, obtenida mediante la formulación de HMN-CO con diferentes mezclas de conservadores.....	42
Figura 7. Boleta empleada para la evaluación de la aceptabilidad sensorial de olor en tortilla, obtenida mediante la formulación de HMN-CO con diferentes mezclas de conservadores.....	43
Figura 8. Distribución de tamaño de partícula de maíz molido mediante molino Nixtamatic.....	51
Figura 9. Intervalos del rendimiento de 5 lotes de producción de HMN-CO. ....	53
Figura 10. Comparación de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) del rendimiento de 5 lotes de producción de HMN-CO.....	53
Figura 11. Viscoamilograma de HMN-CO y HMN-PTN.....	62
Figura 12. Gráfica de efectos de la adición a HMN-CO de dos conservadores a dos niveles de concentración sobre el crecimiento de HL en tortillas recién elaboradas (cero días de almacenamiento).....	70
Figura 13. Intervalos del contenido de BMA en tortillas producidas con HMN-CO adicionada de cuatro mezclas de conservadores (cero días de almacenamiento).....	71
Figura 14. Comparación de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) del pH en tortillas producidas con HMN-CO adicionada de cuatro mezclas de conservadores.....	72
Figura 15. Comparación de medias de Dunnett ( $p \leq 0.05$ ) para el pH de tortillas producidas con HMN-CO adicionada de cuatro mezclas de conservadores.....	72
Figura 16. Gráfica de efectos de la adición a HMN-CO de dos conservadores a dos niveles de concentración sobre el contenido de HL en tortillas almacenadas durante tres días. ....	74
Figura 17. Comparación de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) del efecto de dos conservadores a dos niveles sobre el contenido de HL en tortillas almacenadas durante tres días.....	75
Figura 18. Comparación de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) del efecto de cuatro mezclas de conservadores sobre el contenido de HL en tortillas almacenadas durante tres días.....	76

Figura 19. Comparación de medias de Dunnett ( $p \leq 0.05$ ) del efecto de cuatro mezclas de conservadores sobre el contenido de HL en tortillas almacenadas durante tres días. ....	76
Figura 20. Intervalos del contenido de BMA en tortillas producidas con HMN-CO adicionada de cuatro mezclas de conservadores (tres días de almacenamiento). ....	77
Figura 21. Comparación de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) del efecto de cuatro mezclas de conservadores sobre el contenido de BMA en tortillas almacenadas durante tres días. ....	78
Figura 22. Comparación de medias de Dunnett ( $p \leq 0.05$ ) del efecto de cuatro mezclas de conservadores sobre el contenido de BMA en tortillas almacenadas durante tres días. ....	78
Figura 23. Gráfica de efectos de la adición a HMN-CO de dos conservadores a dos niveles de concentración sobre el contenido de HL en tortillas almacenadas durante seis días. ....	80
Figura 24. Comparación de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) del efecto de dos conservadores a dos niveles sobre el contenido de HL en tortillas almacenadas durante seis días. ....	81
Figura 25. Comparación de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) del efecto de cuatro mezclas de conservadores sobre el contenido de HL en tortillas almacenadas durante seis días. ....	81
Figura 26. Comparación de medias de Dunnett ( $p \leq 0.05$ ) del efecto de cuatro mezclas de conservadores sobre el contenido de HL en tortillas almacenadas durante seis días. ....	82
Figura 27. Intervalos del contenido de BMA en tortillas producidas con HMN-CO adicionada de cuatro mezclas de conservadores (seis días de almacenamiento). ....	83
Figura 28. Comparación de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) del efecto de cuatro mezclas de conservadores sobre el contenido de BMA en tortillas almacenadas durante seis días. ....	83
Figura 29. Comparación de medias de Dunnett ( $p \leq 0.05$ ) del efecto del efecto de cuatro mezclas de conservadores sobre el contenido de BMA en tortillas almacenadas durante seis días. ....	84
Figura 30. Curva de crecimiento de BMA a través del tiempo de almacenamiento en tortillas formuladas con cuatro mezclas de conservadores. ....	84
Figura 31. Curva de crecimiento de HL a través del tiempo de almacenamiento en tortillas formuladas con cuatro mezclas de conservadores. ....	85

## 1. INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays L*) es el tercer cereal más trascendente en la alimentación humana en el mundo, solo después del trigo y el arroz. En el periodo 2017/2018 la producción mundial de maíz fue de 1,033.74 millones de toneladas (Statista, 2019). México es considerado uno de los centros de origen del maíz y posee un valor per cápita de 120 Kg/año, cerca del 75 % de su consumo se realiza en forma de tortilla, botanas, tamales, entre otros (De Girolamo *et al.*, 2016).

La tortilla es el producto derivado del maíz más importante para la alimentación de la población mexicana, es una importante fuente de proteínas, carbohidratos, calcio y fibra (Chávez-Santoscoy *et al.*, 2016). En México el consumo per cápita en las áreas rurales es de 79.5 kg/año, mientras que en las áreas urbanas es de 56.7 kg/año (CEDRSSA, 2014).

La tortilla es obtenida mediante el proceso tradicional de nixtamalización (PTN), un proceso precolombino, en el cual los granos de maíz son sometidos a un tratamiento térmico alcalino, los granos son cocidos en una solución saturada de hidróxido de sodio. Este proceso promueve diferentes cambios fisicoquímicos en los componentes estructurales del maíz (pericarpio, germen y endospermo), permitiendo así que el producto terminado posea propiedades fisicoquímicas y organolépticas características (Vega-Rojas *et al.*, 2016).

El PTN presenta algunas desventajas, entre ellas que el tiempo de procesamiento es muy largo, se tiene un alto consumo de agua y energía, lo que representa un alto costo económico, largos tiempos de procesamiento; también se produce alta cantidad de efluentes contaminantes (nejayote), se pierden nutrientes del producto durante el proceso, estos dos últimos factores afectan considerablemente el rendimiento del proceso (Acosta-Estrada *et al.*, 2015; Valderrama-Bravo *et al.*, 2015).

En respuesta a las desventajas presentadas en diferentes aspectos por parte del PTN, se han realizado múltiples investigaciones para poder aplicar diferentes tecnologías en el campo de la nixtamalización; estas investigaciones están enfocadas a que los procesos alternativos empleados mejoren o afecten en lo menos posible las propiedades nutricionales, organolépticas y funcionales de los productos de maíz obtenidos mediante el PTN.



Recientemente las tecnologías basadas en la aplicación de corriente eléctrica han ganado considerable interés en el procesamiento de alimentos, dentro de este tipo de tecnologías, el calentamiento óhmico (CO) es el mayormente empleado (Jaeger *et al.*, 2016).

El CO es un emergente y prometedor tratamiento térmico, en este proceso el alimento es colocado entre dos electrodos mediante los cuales una corriente alterna es aplicada y fluye directamente a través del alimento conductivo, dicho alimento funciona como una resistencia eléctrica al paso de la corriente, este fenómeno permite la generación de calor interno en el alimento. En la industria se emplean procesos donde se genera una potencia de calentamiento en el rango de 10 a 30 kW (Cho *et al.*, 2016; Lascorz *et al.*, 2016).

El CO ha resultado tener gran potencial en el área de la nixtamalización, se ha utilizado para la producción de harina de maíz nixtamalizada (HMN), su aplicación en diversas investigaciones ha traído consigo destacados beneficios (Gaytán-Martínez, 2011; Gaytán-Martínez *et al.*, 2012; Ménera-López *et al.*, 2013; Rangel-Hernández, 2017; Ramírez-Jiménez *et al.*, 2019).

La vida de anaquel es definida como el tiempo de almacenamiento durante el cual un alimento conserva sus características físicas, químicas y sensoriales, es decir conserva una calidad aceptable por el consumidor. En el instante en que alguno de estos parámetros se considera como inaceptable el producto ha llegado al fin de su vida útil. En el caso de la tortilla este tiempo es corto, se vuelven duras pocas horas después de la cocción y son vulnerables al desarrollo microbiano de hongos, levaduras y bacterias a temperatura ambiente; esto último es debido a su alto contenido de humedad, que oscila entre 45 a 50% y su actividad de agua que va de 0.94 a 0.98 (Vittadini *et al.*, 2004; Giménez *et al.*, 2017).

Un conservador es una sustancia química adicionada a los alimentos, con el objetivo de inhibir el crecimiento microbiano o inactivar microorganismos. El uso de conservadores permite retardar los cambios microbiológicos y fisicoquímicos en el producto, extendiendo así la vida de anaquel del mismo. Mediante el uso de un conservador o una mezcla de ellos, la vida de anaquel de la tortilla se puede extender desde 6 hasta 60 días o más (Martínez-Flores *et al.*, 2004; Weiss *et al.*, 2015).

Como resultado de las múltiples investigaciones sobre la implementación del CO en la producción de tortillas, hoy en día se cuenta con un cocedor óhmico continuó patentado.

Se han establecido las condiciones óptimas de operación (temperatura, tamaño de partícula, humedad del procesamiento, velocidad de alimentación, voltaje aplicado) que han permitido obtener tortillas con características fisicoquímicas muy semejantes a las obtenidas por el PTN, sobre todo con lo que respecta a la textura. En vista de dichos avances, el presente trabajo tuvo por objetivo extender la vida de anaquel de dichas tortillas mediante la formulación de la HMN-CO con una mezcla de conservadores, y a la vez asegurar que dicho producto sea aceptado por los consumidores.

## 2. REVISIÓN LITERARIA

### 2.1 Generalidades del maíz

El Maíz (*Zea mays L*) pertenece a la familia de las *Gramineae*, subfamilia *Panicoideae*, y tribu *Andropogoneae*. Es el tercer cereal más importante en la alimentación del ser humano a nivel mundial después del trigo y el arroz, es un alimento muy importante en ciertas regiones, principalmente en América; aporta una gama de elementos nutritivos y energéticos (FAO, 2014).

La adaptación a una diversidad de condiciones climáticas y geográficas, además de la gama de aplicaciones que se le da, confirman la importancia de este cereal. En el periodo 2017/2018 la producción mundial de maíz fue de 1,033.74 millones de toneladas (Statista, 2019).

El maíz a menudo es blanco o amarillo, aunque también se puede encontrar negro, rojo o jaspeado. Existen diferentes tipos de grano, que difieren en la cantidad de cada uno de los compuestos químicos presentes en el mismo. El maíz se utiliza principalmente para la alimentación animal y la del ser humano, con este grano se produce una gama de productos e ingredientes alimenticios, utilizando procedimientos físicos o químicos para su producción (De Girolamo *et al.*, 2016).

México es considerado uno de los centros de origen del maíz y tiene uno de los más altos consumos per cápita en el mundo (120 kg/año), se consume en una diversidad de productos alimenticios, siendo el principal la tortilla (Méndez-Albores *et al.*, 2012).

#### 2.1.1 Estructura del grano de maíz

El grano consta de tres partes principalmente, germen, pericarpio y endospermo; en menor proporción se encuentran la aleurona y el pedicelo (Figura 1).

Endospermo: esta parte constituye 82-84% de peso del grano seco, está compuesto por células alargadas que en su interior se localizan gránulos de almidón empaquetados de geometría redonda o poliédrica de 3 a 25  $\mu\text{m}$  de diámetro, cada granulo de almidón está envuelto en una matriz proteica. El endospermo está formado por aproximadamente un 87.6% de almidón, 8.0% de proteínas, 2.7% fibra cruda, 0.8% extracto etéreo, 0.3% cenizas y 0.62% azúcar. El endospermo está formado por dos zonas bien definidas, una harinosa y

una vítrea, la región harinosa representa el doble de la vítrea. La región harinosa está ubicada en la fisura central del grano, contiene gránulos de almidón grandes, esféricos y poco empaquetado. Ahí se depositan los gránulos de almidón recién formados, los cuales aumentan de tamaño gradualmente hasta tener un tamaño aproximado de 10 a 30  $\mu\text{m}$ , esto provoca que la matriz proteica se estire y se vuelva más delgada. La región vítrea se encuentra en las periferias del grano, contiene células con gránulos de almidón más pequeños (1-10  $\mu\text{m}$ ), traslúcidos y bien empaquetados por una matriz proteica más gruesa y resistente, esta comprime los gránulos de almidón, los cuales adquieren una forma poliédrica. La capa aleurona es la estructura más externa del endospermo y lo divide del pericarpio, así mismo la sub-aleurona separa al endospermo del germen (Watson y Ramstad, 2003).

Pericarpio: generalmente conocido como cascarilla, es la cubierta exterior del grano y representa de 5-6% de peso del grano seco. La cubierta recubre íntegramente al endospermo y al germen. El espesor del pericarpio varía de 62 a 160  $\mu\text{m}$  dependiendo del tipo de grano. Está conformado por varias capas, desde la parte exterior hacia el interior estas son: 1) epidermis, 2) mesocarpio, 3) células cruzadas, 4) células tubulares y 5) testa. El pericarpio tiene un elevado contenido de fibra cruda (86.7%), constituida básicamente por un conjunto de fibras de celulosa (23%) rodeadas de una matriz formada por hemicelulosa (67%); otro componente presente en mucha menor cantidad es la lignina (0.1%). Además de fibra contiene 7.3% de almidón, 3.7% proteína, 1.0% extracto etéreo, 0.8% cenizas y 0.34% de azúcar (Watson y Ramstad, 2003).

Germen: formado por el embrión y el escúleto, su función es almacenar nutrientes y hormonas, los cuales son distribuidos al resto del grano mediante enzimas. Representa 10-12% del peso del grano seco, contiene 33.2% de extracto etéreo, 18.4% de proteína, 10.8% de azúcar, 10.5% de cenizas, 8.8% de fibra cruda y 8.3% de almidón. Comprende una morfología altamente densa, formada por ácidos grasos poliinsaturados principalmente. El embrión es la estructura a partir de la cual surge una nueva planta, representa 10% del germen. El escúleto representa el 90% del germen, esta estructura contiene esferomas o cuerpos grasos que son lípidos en forma de gotas microscópicas, los esferomas tienen un diámetro de 1 a 1.3  $\mu\text{m}$  y tienen una membrana compuesta por lípidos y proteínas. El escúleto separa al germen del endospermo (Watson y Ramstad, 2003).

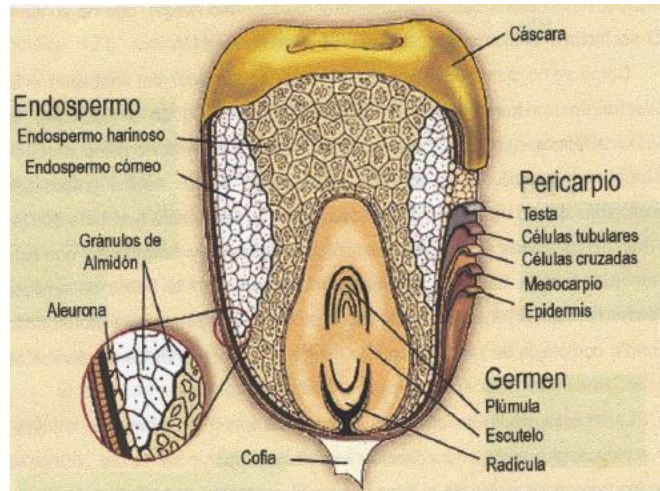


Figura 1. Estructura del grano de maíz  
Fuente: Hoseney (1991).

### 2.1.2 Composición química del grano de maíz

Los principales componentes del maíz son los carbohidratos, principalmente el almidón. Después siguen las proteínas, los lípidos y en cantidades menores se encuentran los azúcares, fibra cruda, minerales y vitaminas. La composición química del grano está en función de la variedad de grano, condiciones geográficas y climatológicas (FAO, 1993).

El componente químico principal en el grano es el almidón, representando de 72 a 73% del peso del grano. El almidón se encuentra principalmente en el endospermo, y en menor cantidad en el pericarpio, germen y pedicelo. El almidón comprende dos polímeros de glucosa, la amilosa y la amilopectina. La amilosa está formada por cadenas de glucosa con enlaces glucosídicos  $\alpha$ -D-(1-4), que establece largas cadenas lineales con 200 a 2500 unidades de glucosa, tiene una masa molar aproximada de  $10^5$ - $10^6$  kDa. La amilosa adquiere una conformación tridimensional helicoidal, donde cada vuelta de hélice está formada por seis moléculas de glucosa. Se ha considerado que las regiones helicoidales son relativamente rígidas y se presentan de 10 a 15 giros por región. La amilosa constituye de 25 a 30% del almidón. La amilopectina contiene cadenas de glucosa con enlaces glucosídicos  $\alpha$ -D-(1-4) y  $\alpha$ -D-(1-6), tiene una estructura ramificada y representa el 70-75 % del almidón. Las ramas están unidas al tronco central (semejante a la amilosa) por enlaces  $\alpha$ -D-(1,6), localizadas cada 15-25 unidades lineales de glucosa. Tiene un peso molecular mucho mayor que la amilosa, aproximadamente de  $10^7$ - $10^9$  kDa (Hoyos-Leyva *et al.*, 2017).

La amilopectina al ser el polímero con mayor proporción en el almidón, es el responsable de que el granulo presente una estructura organizada en forma de anillos, además de que presente cierta propiedad semicristalina formando así dos regiones, una amorfa y otra cristalina, que dan al gránulo su característica de birrefringencia. La región amorfa está formada puntos ramificados entre la amilosa y la amilopectina, mientras que la región cristalina está formada por cadenas de amilopectina estructurada en racimos. Las regiones cristalinas y amorfas se organizan en forma alternada (Vamadevan *et al.*, 2013).

Los azúcares libres representan solo el 2% del peso del grano en base seca, principalmente comprenden los monosacáridos D-fructosa y D-glucosa, el disacárido sacarosa y el trisacárido rafinosa (FAO, 1993).

Después del almidón las proteínas son el componente de mayor importancia en el maíz, su contenido oscila entre 8 y 11% del peso de grano, se encuentra en su mayor parte en el endospermo. Las gluteinas, zeínas, globulinas y albúminas son las principales proteínas presentes en el grano de maíz, las cuales representan 34, 60, 3 y 3% respectivamente del contenido total de proteínas en el grano. Las albúminas y globulinas predominan en el germen, las gluteinas y zeínas lo hacen en el endospermo. Comparada con la proteína de origen animal, la proteína de maíz es considera de bajo valor nutricional, esto es debido a la deficiencia de aminoácidos en los diferentes tipos de proteínas presentes. Las zeínas presentan una insuficiencia de lisina y el triptófano que son aminoácidos indispensables. Pero por otro lado las gluteinas, globulinas y albúminas presentan una cantidad adecuada de aminoácidos esenciales y presentan un elevado contenido de leucina. En el grano también está presente nitrógeno no proteico, que representa el 6% del nitrógeno total (Santos *et al.*, 2014; Chaidez-Laguna *et al.*, 2016).

De 81 a 85% del aceite presente en el grano de maíz se encuentra en el germen. Este aceite está formado por un 95.6% de triglicéridos, 1.7% de ácidos grasos libres, 1.2% de fitoesteroles, 0.05% de ceras y 0.06% de tocoferoles, estos datos están considerados para aceite sin refinar. El aceite contiene baja cantidad de ácidos grasos saturados, principalmente contiene ácido palmítico (11%) y ácido estérico (2%). En el endospermo se presentan pequeñas cantidades de fosfolípidos y glucolípidos. El aceite es una buena fuente de ácidos poli-insaturados, principalmente de ácido linoleico (24%) y en menor cantidad ácido

linolénico (0.7 %), este aceite es muy estable debido a la presencia de antioxidantes naturales (Watson y Ramstad, 2003; Vega-Rojas *et al.*, 2017).

Los carbohidratos complejos del grano de maíz constituyen la fibra dietética, principalmente se encuentran en el pericarpio y la peloriza, se encuentran en menor cantidad en las paredes celulares del endospermo y el germen. Principalmente la fibra dietética está constituida por hemicelulosa, celulosa y lignina (Watson y Ramstad, 2003).

El grano de maíz contiene aproximadamente 1.3% en peso seco de cenizas, aunque puede variar de acuerdo a la variedad del maíz y las condiciones geográficas y ambientales. La estructura que presenta mayor cantidad de minerales es el germen, con un valor de 10.5%. El germen contiene aproximadamente el 78% del total de minerales del grano. El fósforo, potasio y magnesio son los minerales más abundantes, mientras que contiene una baja cantidad de calcio. En la Tabla 1 se observa el contenido de los principales minerales presentes en el maíz (FAO, 1993).

Tabla 1. Contenido de minerales en el grano de maíz

Mineral	Concentración (mg/100 g)
P	299.6 ± 57.8
K	324.8 ± 33.9
Ca	48.3 ± 12.3
Mg	107.9 ± 9.4
Na	59.2 ± 4.1
Fe	4.8 ± 1.9
Cu	1.3 ± 0.2
Mn	1.0 ± 0.2
Zn	4.6 ± 1.2

Fuente: Bressani *et al.* (1989).

## 2.2 Proceso tradicional de nixtamalización

El PTN es un proceso de cocción en un medio alcalino. Este proceso es crítico para aumentar la calidad nutricional del maíz, mediante el cual se obtienen una variedad de productos

alimenticios, tales como: HMN, tortillas, pozole, tostadas, nachos, totopos, botanas, tamales etc. Estos alimentos son fundamentales en la dieta de las poblaciones de México, Centroamérica y Estados Unidos (Mariscal-Moreno *et al.*, 2015; Corrales-Bañuelos *et al.*, 2016).

El PTN comprende varias etapas: a) cocción del maíz bajo condiciones alcalinas, (adición de 1.5-2% de hidróxido de calcio) por 30 a 60 min, el objetivo es ablandar el grano; b) reposo del maíz cocido en la misma agua de cocción (12 a 14 h); c) lavado del nixtamal (maíz ya cocido) con agua para eliminar el exceso de hidróxido de calcio; d) molienda del maíz, obteniendo un producto maleable, blando y no pegajoso, denominado “masa”. Finalmente, la masa es utilizada para producir tortillas, o secada y molida para obtener HMN (Santos *et al.*, 2014).

Durante la cocción del grano se alcanzan altas temperaturas (entre 85 y 100°C) y un alto valor de pH (alrededor de 12), estas condiciones, junto con el periodo de remojo y la acción de la molienda, permiten que ocurran diferentes alteraciones estructurales, fisicoquímicas, funcionales, reológicas y nutricionales en los granos del maíz. Entre dichos cambios, se tiene la degradación del pericarpio, saponificación de lípidos, pérdida de proteínas solubles, gelatinización parcial del almidón, desnaturalización de proteínas, entre otros. Los cambios en el valor nutritivo son complejos, ya que incluye la pérdida de algunos de ellos, incremento en otros y alteraciones en la biodisponibilidad de ellos. También se ven afectados los cambios en la actividad microbiana y en las características organolépticas, tales como aroma, sabor y color (García-Díaz *et al.*, 2016).

La pérdida del pericarpio permite la absorción de agua y de calcio. El peso seco del grano disminuye con el tiempo de cocción y se recupera a valores similares a los iniciales durante la etapa final de la cocción y en el reposo. La estructura de la capa de unidades aleuronas se mantiene intacta y adherida al endospermo, funcionando como una estructura de contención del mismo, reduciendo la pérdida de proteínas del endospermo. La mayor parte del germen se mantiene intacta durante la cocción alcalina, manteniendo la calidad proteínica del grano. Durante el proceso de cocción, la proteína zeína (deficiente en lisina y triptófano) disminuye su solubilidad, por otra parte, la albumina, globulina y gluteinas, que tienen un



mayor valor nutricional, aumentan su solubilidad y con ello la disponibilidad de aminoácidos esenciales (Cuellar, 2014).

El gránulo de almidón incrementa su tamaño y existe una destrucción parcial de los mismos. La gelatinización del almidón es uno de los cambios más importantes que sufren los granos de maíz durante la nixtamalización. Se da una total gelatinización en los gránulos de almidón de las capas externas del endospermo, mientras en las capas internas se da de una forma parcial. Los gránulos de almidón están asociados a proteínas, estas últimas tienen la función de mantener la estructura del gránulo de almidón gelatinizado, por tanto, las condiciones de procesamiento y sus efectos sobre la desnaturalización de proteínas repercuten directamente sobre la gelatinización del almidón. Los lípidos interactúan con las moléculas de amilosa, lo que modifica las propiedades fisicoquímicas del almidón (Cornejo-Villegas *et al.*, 2013). Es bien conocido que los cambios enunciados anteriormente son los responsables de las propiedades reológicas y organolépticas de la masa y de los productos obtenidos a partir de ella (Santos *et al.*, 2014).

#### 2.2.1 Desventajas del proceso tradicional de nixtamalización

El PTN que se usa para la producción de HMN, tortillas u otros productos derivados, demanda alto consumo de tiempo, agua y energía. En el proceso se usan aproximadamente 3 L de agua con 1-2% de hidróxido de calcio para que se produzca 1 kg de masa, originando una cantidad considerable de aguas residuales, estos residuos se conocen como nejayote. Basado en un consumo per cápita de tortillas (62 Kg/año), la población mexicana (112 millones), rendimiento en la elaboración de tortillas (1.4 kg tortilla/kg maíz) y cantidad de nejayote generado (3 L/kg maíz procesado), en México se generan anualmente aproximadamente 14,800 millones de litros de nejayote (García-Zamora *et al.*, 2015; Castro-Muñoz *et al.*, 2017; García-Depraect *et al.*, 2017).

El nejayote presenta altos valores de pH, elevada concentración de sólidos solubles e insolubles, donde se incluyen fracciones de fibra, polisacáridos, almidón, proteínas, lípidos, además de algunos compuestos bioactivos, polifenoles, carotenoides y partes del grano como pericarpio, celulosa, hemicelulosa y germen. La eliminación del pericarpio durante el PTN representa una pérdida importante de fibra en el grano de maíz, lo que conlleva a una reducción en el contenido de compuestos fenólicos y de la capacidad antioxidante. Lo

anteriormente mencionada provoca una disminución en el valor nutricional del maíz y por tanto de los productos alimenticios obtenidos a partir del mismo (Reyes-Moreno *et al.*, 2013; Castro-Muñoz y Yáñez-Fernández, 2015; Morales y Garcia-Zepeda, 2017).

El nejayote tiene altos valores de demanda biológica de oxígeno (DBO:  $14219 \pm 309$  mg/L), sólidos suspendidos totales ( $8342 \pm 25$  mg/L), demanda química de oxígeno (DQO:  $40,058 \pm 82$  mg O<sub>2</sub>/L) y alcalinidad total ( $5768 \pm 0.5$  mg CaCO<sub>3</sub>/L), pH (>11) y una concentración de hidróxido de calcio (13.09%). Actualmente en México, los reglamentos para la disposición y tratamiento del nejayote limitan su aplicación a la producción de productos nixtamalizados a nivel industrial, mientras que no existe regulación aplicable para pequeñas empresas. Considerando las características fisicoquímicas del nejayote existe una fuerte evidencia de que la producción de productos nixtamalizados es una importante fuente de contaminación de agua. La alta generación de residuos en el proceso de nixtamalización repercute en los ámbitos económico, ambiental, nutricional, salud, etc. (Acosta-Estrada *et al.*, 2015; Valderrama-Bravo *et al.*, 2015).

### 2.3 Tortillas de maíz

Las tortillas son un alimento en forma de disco plano echas de maíz, su diámetro varía de 12 a 18 cm de diámetro y de 1 a 4 mm de espesor, son obtenidas mediante el proceso de nixtamalización, este proceso fue desarrollado originalmente por las antiguas civilizaciones Mesoamericanas (Gómez-Aldapa *et al.*, 2013). La tortilla es uno de los alimentos básicos más importantes para la alimentación de los mexicanos, siendo la fuente más importante de energía, proteína, calcio y fibra. Es una excelente fuente de calorías, la gran mayoría son aportadas por la fracción almidonosa, por lo tanto, la digestibilidad de la energía es alta; aproximadamente el 93% de la energía bruta de la tortilla es digerida y aprovechada (Chávez-Santoscoy *et al.*, 2016; Serna-Saldívar y Amaya-Guerra, 2018).

Las tortillas son elaboradas a partir de masa fresca o HMN. Las propiedades organolépticas, fisicoquímicas, reológicas y la textura de la masa y la calidad final de las tortillas está en función de dos factores principalmente, el tipo de maíz utilizado y las condiciones del proceso de nixtamalización (Vázquez-Carrillo *et al.*, 2015).

La industria de la tortilla representa aproximadamente una quinta parte del mercado global en México, con una producción anual estimada en 8.4 millones de toneladas. Se estima

que en las áreas rurales de México el consumo per cápita es de 79.5 kg por año, mientras en las áreas urbanas es de 56.7 kg por año (CEDRSSA, 2014).

### 2.3.1 Proceso de producción de tortillas de maíz

En el proceso de nixtamalización, después del lavado el nixtamal para eliminar el exceso de hidróxido de calcio, el nixtamal se muele para obtener masa, en el proceso tradicional se usa una piedra plana llamada “metate”, también se puede moler en un molino de piedras, una vez obtenida la masa esta se puede utilizar directamente para elaborar tortillas o puede ser deshidratada y molida para obtener HMN. En el proceso manual de la elaboración de tortillas se toman alrededor de 50 g de masa, la masa se coloca en una prensa metálica o de madera, se aplica presión sobre la prensa, esto permite extender la masa y dar la forma redondeada a las tortillas, después estas se cocinan en un plato caliente de hierro o barro, llamado “comal”. La masa contiene aproximadamente 54-56 % de agua y la tortilla 45-55%, normalmente el comal es rociado con una solución diluida de agua con hidróxido de calcio, esto facilita voltear la tortilla para poder cocinarla de ambos lados. Una vez volteada, se forma vapor de agua dentro de la tortilla, abultándose la superficie del lado que se cocinó primero. En muchas ocasiones la presión del vapor de agua rompe la superficie, esto indica que la tortilla ya está bien cocinada, se debe retirar del comal y almacenarla en un canasto cubierto por una manta, hasta el momento de su consumo (Serna-Saldívar y Amaya-Guerra, 2008).

El consumo de HMN ha incrementado en los últimos 10 años, principalmente entre la población urbana, esto es debido a que este producto presenta la ventaja práctica de que solamente se debe rehidratar con agua dentro de un mezclador para obtener la masa, la cual después es troquelada y cocinada para obtener tortillas. El uso de HMN y no del grano como materia prima en la fabricación de tortillas, permite un ahorro de energía, inversión de maquinaria, mano de obra, tiempo de proceso y la reducción de efluentes contaminantes. Además, el producto es más homogéneo, se puede tener mayor control higiénico durante el proceso, asegurando así la inocuidad del producto y aumentando su vida de anaquel. También se le pueden adicionar fácilmente aditivos, tales como conservadores y mejoradores de textura que permiten alargar la vida de anaquel de la tortilla. El producto presenta baja humedad lo que reduce la actividad enzimática y retarda la oxidación de las grasas, esto

permite que el producto conserve sus propiedades. La vida de anaquel de las HMN fabricadas mediante el PTN es de aproximadamente 3 meses en verano y de 4 a 6 meses en invierno. El contenido de nutrientes en las HMN es más estable que en el maíz utilizado en el PTN (Rodríguez, 2013).

La producción a nivel industrial de HMN sigue los principios del PTN, pero se utilizan equipos automatizados que permiten la producción a gran escala. Como se muestra en la Figura 2, el proceso está compuesto básicamente por las etapas de recepción, selección, limpieza, almacenamiento del grano, cocimiento alcalino, molienda del grano cocido y la producción de la masa que es deshidratada, cernida, clasificada y envasada (Flores-Farías *et al.*, 2002).

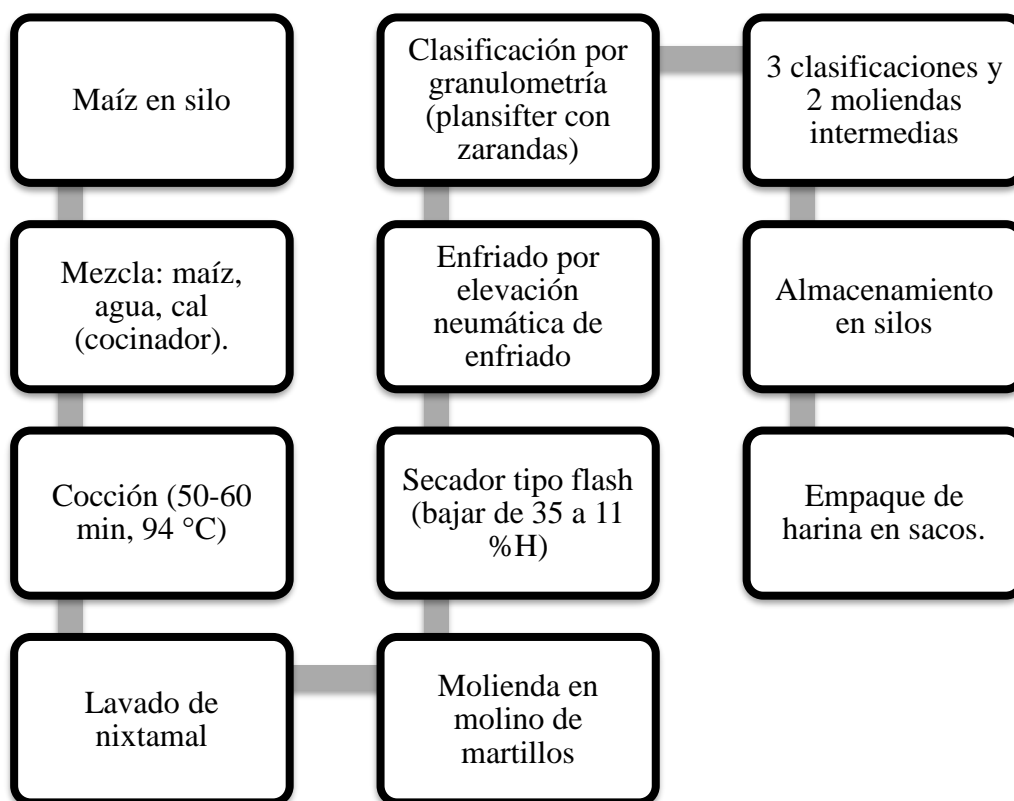


Figura 2. Proceso industrial de producción de HMN.  
Fuente: Cargill de México (2005).

El desarrollo de tecnología en el área de la nixtamalización ha permitido que el arduo trabajo que representa la elaboración manual de las tortillas sea agilizado mediante maquinas especiales para hacer tortillas. El proceso en una tortillería empieza mezclando HMN y agua en el batidor, en ocasiones también agregan hidróxido de calcio con el fin de

alargar la vida de anaquel o bien para tener tortillas amarillas, se bate la mezcla hasta formar una masa homogénea; también se puede realizar todo el proceso de nixtamalización dentro de la tortillería con la finalidad de obtener masa fresca. Una vez obtenida la masa, esta se adiciona al alimentador de la maquina tortilladora, se realiza el cortado de las tortillas, se cosen en una banda caliente giratoria, en este momento el producto está listo para su venta, otra opción es dejarlo enfriar y empaquetarlo para su almacenamiento y posterior distribución. El proceso desarrollado en una empresa de mayor escala tiene el mismo principio, variando básicamente en la capacidad de la maquinaria utilizada y que algunas de las etapas del proceso se han automatizado (Rodríguez, 2013).

### 2.3.2 Parámetros de calidad de HMN y tortillas

Los parámetros de calidad de las HMN destinadas a la producción de tortilla han sido establecidas en la NMX-F-046-S-1980, sin embargo, está establece poca información sobre las características funcionales. En base a diversos estudios se ha señalado que aquellos parámetros que mejor describen las características funcionales de HMN son: índice de absorción de agua (IAA), índice de solubilidad en agua (ISA), capacidad de absorción de agua subjetiva (CAAS), pH, perfil de viscosidad y distribución de tamaño de partícula (DTP). Los parámetros de CAAS, IAA, ISA y el perfil de viscosidad son indicadores del grado de cocción de las HMN. La DTP es uno de los parámetros más empleados para clasificar las harinas y establecer su funcionalidad (Gaytán-Martínez *et al.*, 2012).

Las propiedades organolépticas, fisicoquímicas, reológicas y la textura de la masa y la calidad final de las tortillas está en función de dos factores principalmente, el tipo de maíz utilizado y las condiciones del proceso de nixtamalización (Gómez-Aldapa *et al.*, 2013; Vázquez-Carrillo *et al.*, 2015).

Para que se pueda establecer que la tortilla de maíz posee una calidad aceptable tiene que cumplir con ciertas características químicas y físicas que permitan asegurar su aceptación y comercialización entre los consumidores, el factor principal en la aceptación de las tortillas por parte del consumidor es la textura. Inmediatamente después de ser horneadas, las tortillas son suaves y flexibles, fácilmente se pueden enrollar o plegar sin que se agrieten; sin embargo, después de unas horas de ser cocidas empiezan a observarse signos de

endurecimiento, las tortillas se vuelven más firmes y rígidas que fácilmente se romperán al enrollarse (Gaytán-Martínez *et al.*, 2012).

La mayoría de los cambios en la textura de la tortilla que se presentan durante el procesamiento y la vida útil de la tortilla se dan debido a las interacciones del almidón con otros componentes. Durante la cocción ocurre la gelatinización parcial de los gránulos de almidón, estos se dispersan en la tortilla. El proceso de endurecimiento implica la gelatinización y retrogradación de los gránulos de almidón, pérdida de humedad a través del tiempo, además de la interacción de otros componentes en la tortilla. Durante este proceso, las moléculas de almidón se alinean en una estructura cristalina más ordenada, que da como resultado una migaja más dura. Los cristales de amilosa empiezan a agruparse entre ellos lo que conduce a la formación de una red rígida e insoluble de amilosa, de la misma forma, los polímeros de amilopectina se agrupan lentamente y forman una red con las mismas características (Weber, 2008). Para prevenir o retardar el endurecimiento, son adicionadas gomas e hidrocoloides a HMN, también se ha sugerido la adición de pericarpio, lípidos y enzimas directamente a la masa (Vázquez-Carrillo *et al.*, 2015) .

Existen distintas variables que se pueden medir en la tortilla para evaluar la textura de la misma, entre ellas se encuentra la fuerza de ruptura, extensibilidad y rolabilidad, los valores de esos parámetros de calidad son aceptables y se mantienen sin cambios importantes horas después de terminar la cocción, sin embargo, los valores cambian drásticamente a través del tiempo si se almacenan a temperatura ambiente.

#### 2.4 Vida de anaquel en tortillas de maíz

La vida de anaquel puede ser definida como un tiempo finito después de la fabricación y empaque de un alimento, durante el cual esta conserva un nivel de calidad aceptable para el consumidor; dicha definición, usualmente es empleada para describir la durabilidad del producto, la cual hace énfasis en la significancia comercial del término (Nicoli, 2012; Alamprese *et al.*, 2017).

Este período depende de muchas variables, en donde se incluyen tanto el producto como las condiciones ambientales y el empaque. Dentro de las que ejercen mayor peso se encuentran la temperatura, pH, actividad del agua, humedad relativa, radiación (luz), concentración de gases, potencial redox, presión y presencia de iones (Brody, 2003). La

calidad engloba muchos aspectos del alimento, como sus características físicas, químicas, microbiológicas, sensoriales, nutricionales y referentes a inocuidad. En el instante en que alguno de estos parámetros se considera como inaceptable el producto ha llegado al fin de su vida útil (Singh, 2000).

El límite de vida de anaquel y el rápido envejecimiento del producto representan los mayores problemas que afectan la distribución comercial de las tortillas. Después de la cocción de la tortilla su porcentaje de humedad es de aproximadamente de 45 a 50% y su actividad de agua va de 0.94 a 0.98, por lo que esto establece una buena condición para el desarrollo de hongos y levaduras (HL) a temperatura ambiente. Para que la calidad de las tortillas se conserve, los productores tienen varias opciones, una de ellas es consumir el producto inmediatamente después de su cocción, lo que proporciona un producto estable en cuanto a sus propiedades fisicoquímicas e inocuidad por 2 a 3 días, este tiempo es relativamente corto, por lo que se han buscado métodos alternativos con el fin de prevenir el deterioro de la calidad de la tortilla, sobre todo del desarrollo microbiano y la pérdida de la textura característica (Martínez-Flores *et al.*, 2004).

La cantidad de hidróxido de calcio adicionada durante el proceso de nixtamalización es un factor importante en la vida de anaquel y sabor de las tortillas producidas, además de que evita la acidificación de la masa, mejora las características de palatabilidad de la tortilla y es una fuente de calcio. Una alternativa fácil y económica para alargar la vida de anaquel del producto es mantener un pH alcalino ( $> 9$ ), esto se logra mediante el uso de altas concentraciones de hidróxido de calcio. Cuando se usa más de 1.5 % de hidróxido de calcio se obtiene un producto con propiedades indeseables para el consumidor, entre ellos una intensa coloración amarilla y un sabor amargo, característico del hidróxido de calcio (Ordaz-Ortíz y Vázquez-Carrillo, 1997; Vittadini *et al.*, 2004).

Otra opción para conservar el producto es almacenarlo y transportarlo bajo condiciones de refrigeración, lo cual alarga un poco la vida de anaquel (5-6 días); sin embargo, el tiempo es muy corto y no ha sido una opción exitosa, ello debido a que los consumidores prefieren el producto fresco (Martínez-Flores *et al.*, 2004).

#### 2.4.1 Conservadores utilizados en la conservación de tortillas

Los agentes conservadores son sustancias o mezcla de sustancias que previenen, retardan o detienen cualquier alteración causada por microorganismos. La adición de conservadores permite alargar la vida de anaquel de la tortilla, aun cuando las propiedades de la misma sufren ligeros cambios, ya que pueden proveer al alimento de un sabor y/o color indeseable, por lo que son empleados solamente en situaciones necesarias, especialmente cuando el alimento debe ser almacenado por largos periodos de tiempo. El tiempo de extensión de la vida de anaquel al usar conservadores se puede prolongar desde 12 hasta 60 días o más; esto depende del conservador o mezcla de conservadores utilizados, la concentración y la forma de aplicación de los mismos, además de la etapa de la producción en la que son adicionados. Existen otros factores muy importantes para la efectividad de los conservadores, tales como las propiedades fisicoquímicas de la tortilla, cantidad de microorganismos presentes en la misma, seguimiento a las buenas prácticas de manufactura durante su producción, tipo de empaque utilizado, temperatura y humedad relativa durante el almacenamiento, etc. (Martínez-Flores *et al.*, 2004).

Existen varios estudios sobre el uso de diversas sustancias como conservadores en la producción de tortillas, cabe mencionar: epíclorohidrina, ácido policarboxílico y sus anhídridos, geles hidrofílicos inorgánicos, ésteres de ácidos parahidroxibenzoicos, ácidos ascórbicos y sus sales, ácido acético y ácido propiónico. Los conservadores y las cantidades utilizadas de los mismos no deben exceder los límites permitidos por la normatividad mexicana, la cual toma de referencia los establecidos por la Food and Drug Administration de los Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés) (Martínez-Flores *et al.*, 2004; Weiss *et al.*, 2015).

Casi todos los conservadores se basan en ácidos orgánicos y son más efectivos en su forma disociada. Los conservadores son utilizados considerando el pH del producto final. Si el pH es demasiado alto, la tortilla tendrá un color obscuro, una textura jabonosa y los conservadores adicionados no serán efectivos. Debido a la variación de pH entre los diferentes tipos de tortilla (ello en base a su proceso de producción), diferentes conservadores pueden ser utilizados individualmente o en mezclas para mantener la inocuidad y estabilidad de la tortilla. Las tortillas producidas con HMN tienen un valor bajo de pH comparado con



las producidas a partir de masa fresca, esto hace posible el uso de conservadores menos ácidos en las HMN, por ejemplo, una mezcla de propionato de sodio y metil o propil parabeno o sorbato de potasio es menos ácida, pero efectiva (Weber, 2008).

La Tabla 2 muestra los conservadores más utilizados en la industria alimenticia. El propionato de calcio y el sorbato de potasio son usados frecuentemente solos o en mezcla para extender la vida de anaquel de las tortillas mediante la inhibición de hongos y levaduras, ambos conservadores son solubles en agua y son altamente eficientes a valores ácidos de pH (3.5–6.6). El sorbato de potasio actúa inhibiendo diversas enzimas contenidas en la célula del microorganismo, siendo más eficiente para el control de hongos y levaduras, el nivel máximo recomendado de este conservador varía de 0.01 a 0.3% en peso de la HMN. El propionato de calcio es un conservador de amplio espectro, este se acumula en la célula del microorganismo, altera su metabolismo mediante la inhibición enzimática o reduciendo el crecimiento por competencias de sustratos, el nivel máximo recomendado de este conservador es de 0.32% del peso de la HMN (Ordaz-Ortíz y Vázquez-Carrillo, 1997).

Con el objetivo de reducir el pH en la tortilla (alrededor de 5.5-6.0) y así incrementar la eficiencia de la mezcla de propionato de calcio y el sorbato de potasio, estos son mezclados con conservadores ácidos, la mezcla final es adicionada a la HMN o a la masa fresca usadas para la producción de tortillas. Los ácidos mayormente empleados son: cítrico, fumárico, fosfórico, láctico y sórbico. La cantidad de ácido utilizada debe ser la mínima posible, ello es debido a que se podrían alterar las características organolépticas del producto (sabor y color). El ácido fumárico es el ácido más fuerte en lo referente a sabor y acidez entre los ácidos empleados en la industria de alimentos, esto le permite ser dosificado en menos proporción, conduciendo a un ahorro de costos (Weber, 2008).

Tabla 2. Propiedades de conservadores comúnmente empleados en alimentos.

Conservador (ácido orgánico relacionado)	Efectivo contra:			pH efectivo (pK <sub>a</sub> )	Soluble en agua	Vía de eliminación
	Hongos	Levaduras	Bacterias			
Propionato de sodio o calcio (ácido propiónico)	X		X	4.9	X	Orina
Sorbato de potasio (ácido sórbico)	X	X		4.8	X	Orina
Diacetato de sodio (ácido acético)	X		X	4.8	X	Orina
Benzoato de sodio (ácido benzoico)	X	X		4.2	X	Orina
Metil o propil parabeno	X	X	X	4 a 9		Orina

Fuente: Weber (2008).

La NOM-187-SSA1/SCFI-2000 y la NMX-F-046-S-1980 establecen los conservadores que se pueden utilizar en tortilla de maíz y HMN, así como las concentraciones máximas permitidas, dicha información se resume en la Tabla 3.

Tabla 3. Conservadores autorizados en tortillas de maíz nixtamalizado o HMN para preparar tortillas.

Conservador	Concentración (mg/kg HMN)
Sorbato de potasio	2000 (tortilla); 3300 (HMN)
Propionato de Calcio	BPM
Ácido fumárico	BPM

BPM= buenas prácticas de manufactura.

Fuente: NOM-187-SSA1/SCFI-2000.

Flores-Farías *et al.* (2002) analizaron tres HMN comerciales de maíz producidas en México, Maseca (HMN-A), Minsa (HMN-B) y Agroinsa (HMN-C). Los resultados mostraron una amplia variación en la composición de las HMN, detectando en todas las muestras la presencia de aditivos y conservadores. De los conservadores se encontró ácido

propiónico, 0.17% en HMN-A, 0.20% en HMN-B, 0.35% en HMN-C; se detectó sorbato de potasio en HMN-A (0.40%) y ácido fumárico en HMN-C (0.12%).

Martínez-Flores *et al.* (2004) evaluaron el efecto de la adición de diferentes conservadores sobre la vida de anaquel de tortillas de maíz preparadas con masa fresca extruida, se probó propionato de sodio, sorbato de potasio, hidróxido de calcio y propil parabeno, se evaluaron de forma individual y en mezclas, donde se utilizaron diferentes niveles de concentración. Se realizaron análisis del contenido de bacterias mesófilas aerobias (BMA), así como de HL. El menor desarrollo microbiano de BMA y HL se presentó en las tortillas que tenían una mezcla de conservadores. Las tortillas tratadas con 0.30% propionato de sodio, 0.125% de sorbato de potasio y 0.1% de propil parabeno, así como las tratadas con 0.30% de propionato de sodio, 0.125% de sorbato de potasio y 0.1% de ácido fumárico resultaron tener vida de anaquel más larga. La aplicación de estas mezclas arrojó una vida útil de 6 días a 22 °C y de hasta 16 días a 4 °C. La efectividad de las mezclas utilizadas puede deberse al sinergismo entre el propionato de sodio y sorbato de potasio, además del efecto de acidificación establecido por el propil parabeno o el ácido fumárico. La sinergia generada por la combinación de dos o más conservadores junto con el almacenamiento en refrigeración (4 °C), permite inhibir el crecimiento de microorganismos y prolongar la vida de anaquel de la tortilla.

## 2.5 Alternativas tecnológicas al proceso tradicional de nixtamalización

Debido a las desventajas que presenta el uso del PTN, se han hecho múltiples estudios para buscar alternativas tecnológicas. Existen propuestas enfocadas a reducir la cantidad de desechos generados, la cantidad de agua utilizada, reducción de la capacidad contaminante de los desechos generados, mejorar la eficiencia energética, control y automatización del proceso, reducción de costos y tiempo de la producción, etc. Otros estudios se centran en el desarrollo de tecnología para reducir la pérdida de nutrientes del maíz durante el proceso de nixtamalización, mejorar las propiedades fisicoquímicas de los alimentos producidos, aumentar la vida de anaquel de dichos alimentos, etc.

Se han buscado alternativas que pretenden conservar las características sensoriales y nutricionales de la tortilla y al mismo tiempo eliminar o reducir en lo posible la generación de nejayote. Es bien sabido que el uso de sales de calcio (carbonato de calcio, sulfato de

calcio, cloruro de calcio) genera residuos con un nivel menor de contaminación que los generados en el PTN, donde se utiliza hidróxido de calcio (Santiago-Ramos *et al.*, 2015).

Bello-Perez *et al.* (2014) evaluaron el efecto del proceso de nixtamalización utilizando carbonato de calcio (NCC), sobre el contenido de carbohidratos indigeribles y digestibilidad de almidón en tortillas, producidas a partir de HMN. Las tortillas obtenidas por el PTN y NCC mostraron contenidos similares de proteína, minerales, almidón resistente y carbohidratos; además ambos tipos de tortillas tuvieron un bajo índice glucémico. Sin embargo, las tortillas obtenidas por NCC tuvieron mayor contenido de lípidos, fibra dietética total y fibra dietética insoluble. Las tortillas frescas obtenidas por el PTN mostraron un mayor contenido de almidón digerible lentamente (SDS por sus siglas en inglés). Los autores concluyeron que el consumo de tortillas producidas con NCC puede producir efectos positivos en la salud humana.

Rodríguez (2013) evaluó las propiedades fisicoquímicas y nutraceuticas de varias HMN y tortillas producidas mediante un proceso de nixtamalización ecológica (NE). Se evaluaron tres tratamientos con sales de calcio (sulfato de calcio, cloruro de calcio y carbonato de calcio) e hidróxido de calcio como control (usado en el PTN).

La extrusión ha sido una tecnológica que se ha aplicado como alternativa al PTN. Este proceso mecánico de inducción de energía térmica y mecánica, aplica alta presión y temperatura, bajo estas condiciones el alimento se comprime y se genera una masa semisólida, que posteriormente es forzada a pasar por un orificio de determinada geometría (Chaidez-Laguna *et al.*, 2016).

La extrusión tiene la ventaja de que se da una nula generación de efluentes, la mayoría de los nutrientes presentes en el pericarpio y aleurona del maíz son retenidos y los productos resultantes son considerados como de grano entero (Contreras-Jiménez *et al.*, 2014). Corrales-Bañuelos *et al.* (2016) evaluaron el efecto del PTN y el proceso de extrusión sobre el contenido total de carotenoides, así como la actividad antioxidante lipofílica (expresada como ORAC-L) de tortillas. Ambos procesos arrojaron tortillas con valores similares en ambos parámetros; las tortillas obtenidas por el método tradicional retuvieron entre 72-87.6% contenido total de carotenoides y 65.1-78.8% de ORAC-L. Por otro lado, con el método de extrusión se obtuvieron tortillas con valores entre 68.8-79.5% de contenido total

de carotenoides y 60.3-75.5% de ORAC-L. Una de las desventajas de la aplicación de esta tecnología es que la masa no tiene las propiedades reológicas características de la obtenida mediante el proceso tradicional (Contreras-Jiménez *et al.*, 2014).

Janve *et al.* (2013) utilizaron la nixtamalización asistida con ultrasonido, emplearon una densidad de energía acústica de alrededor de 1.85 W/g por 1 h de cocción, seguido de un breve remojo por 1 h. Se evaluó la textura y color del nixtamal, además de la cantidad sólidos perdidos en el nejayote. En los parámetros medidos, la nixtamalización asistida por ultrasonido fue significativamente diferente al PTN (control), arrojó menor tiempo de proceso, mayor suavidad del nixtamal y menor pérdida de sólidos en el nejayote. Los autores establecieron que el uso de ultrasonido fue mejor que el PTN en términos de calidad y tiempos del proceso.

La nixtamalización asistida por microondas es otra alternativa que se ha desarrollado, esta tecnología ofrece ciertas ventajas incluyendo la reducción del tiempo de la cocción, eficiencia energética, ahorro de espacio, control preciso del proceso, productos con alto valor nutricional, menor generación de nejayote, etc. En este método los granos de maíz son mezclados con agua e hidróxido de calcio, son cocidos en un horno de microondas, remojados y después molidos para obtener masa fresca (Pérez-Flores *et al.*, 2011).

Mendez-Albores *et al.* (2014) usaron el calentamiento con microondas para la producción de tortillas elaborados con maíz contaminado con fumonisina. Su objetivo fue comparar la capacidad de esta tecnología con el PTN para eliminar dicha aflatoxina durante el proceso. El calentamiento por microondas no tuvo un efecto significativo para reducir la concentración de fumonisina en la masa a niveles aceptables; sin embargo, en las tortillas se observó una reducción a valores aceptables. Los autores reportaron que las propiedades reológicas de las tortillas obtenidas usando microondas fueron similares a aquellas producidas por el PTN.

El CO es también una alternativa tecnológica aplicada en la producción de HMN, su aplicación en esta área ha demostrado tener importantes beneficios (Gaytán-Martínez *et al.*, 2011; Gaytán-Martínez *et al.*, 2012; Ménera-López *et al.*, 2013). Gaytán-Martínez *et al.* (2012) establecieron que la potencia requerida para obtener HMN con una calidad aceptable mediante el CO es de 1 W/g. Es necesario realizar más estudios con el fin de establecer los

parámetros de operación del CO en la nixtamalización que permitan optimizar el proceso y obtener tortillas con características similares a las obtenidas por el PTN, esto permitiría que el producto sea aceptado por el consumidor, de esta forma el proceso se podría escalar para su aplicación en los diferentes tamaños de industrias (tortillerías, pequeña y mediana empresa, y grandes compañías nacionales) presentes en el sector de la masa y la tortilla, tanto en México como en el extranjero.

## 2.6 Calentamiento óhmico

Recientemente las tecnologías basadas en la aplicación de corriente eléctrica han ganado considerable interés en el procesamiento de alimentos y en bioprocesos, Campos Eléctricos Pulsado (PEC, por sus siglas en inglés) y CO son los métodos más comunes y que mejor ejemplifican este tipo de tecnologías. El CO se basa en el principio de que los alimentos son capaces de resistir el flujo de una corriente eléctrica, fenómeno conocido como efecto *Joule*. Se hace fluir corriente eléctrica alterna a través del alimento, el cual presenta resistencia eléctrica a la circulación de dicha corriente, generándose calor interno en la matriz alimenticia (Bastías *et al.*, 2015).

La cantidad de calor generado depende directamente del flujo de corriente y este a su vez se desarrolla en función de la intensidad del campo, la configuración de los electrodos y la conductividad del alimento tratado; en el CO se da una conversión casi completa de energía eléctrica a calor, el CO se caracteriza por permitir una alta densidad de energía y tiempos de calentamiento cortos. Alimentos con una conductividad eléctrica en el rango de 0.1-10 S/m puede ser tratado térmicamente mediante CO, el alimento es sometido a un campo eléctrico mediante la configuración de dos o más electrodos. La matriz alimenticia está en contacto directo con los electrodos o puede estar acoplada a ellos mediante un medio eléctricamente conductor. Los valores de voltaje aplicados oscilan entre el rango de 400 a 4000 V. Cuando se usa una separación entre los electrodos de 10-50 cm se obtienen intensidades del campo eléctrico en el rango de 20-400 V/cm (Jaeger *et al.*, 2016).

Las velocidades de calentamiento logradas en el proceso dependen de varios factores como: voltaje aplicado, diseño del equipo y propiedades del alimento (conductividad eléctrica de los componentes, viscosidad, capacidad calorífica específica, composición

química, etc.) (Varghese *et al.*, 2012). En la Figura 3 se observa un diagrama del diseño de un calentador óhmico.

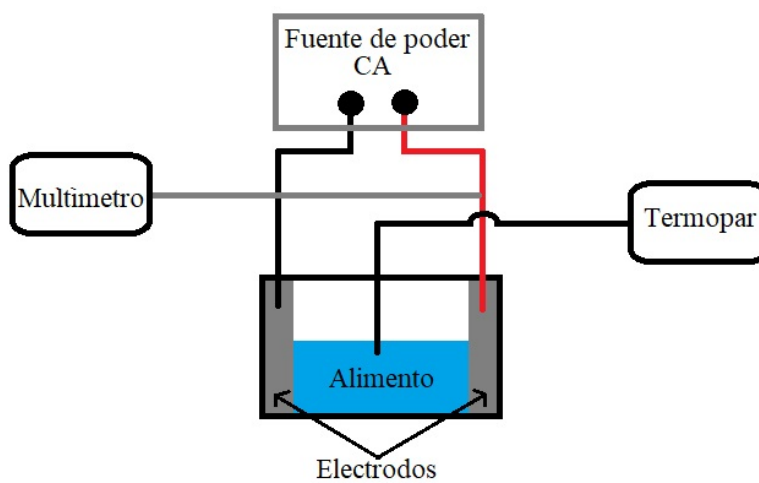


Figura 3. Diagrama de un calentador óhmico.

En esta tecnología la temperatura aumenta sin que se requiera la transferencia de calor a través de interfaces sólido-líquido. Puede utilizarse en productos alimenticios, que contengan electrólitos y agua debido a que permiten el paso de la corriente eléctrica (Khan *et al.*, 2017). Se distingue de otras tecnologías de calentamiento eléctrico por las frecuencias y tipos de onda utilizadas, además de que los electrodos utilizados tienen contacto directo con el alimento (Sarkis *et al.*, 2013; Sakr y Liu, 2014).

Uno de los parámetros más importantes en el proceso de CO es la conductividad eléctrica ( $\sigma$ , con unidades S/m), esta se ve afectada por la temperatura, frecuencia, concentración de electrólitos, tamaño de partícula de los sólidos, gradiente de voltaje aplicado, etc. Cuando la conductividad eléctrica aumenta también lo hace la temperatura, esto es debido a que la viscosidad del alimento disminuye, lo que permite la reducción de la fricción entre los iones, sin embargo, en el CO la temperatura cambia rápidamente, es por ello que es necesario el uso de un control de retroalimentación para ajustar el potencial aplicado durante el calentamiento. La presencia de sustancias iónicas tales como ácidos y sales incrementa la conductividad, por otro lado, la presencia de sustancias no polares tales como lípidos, disminuye la conductividad (Sakr y Liu, 2014).

El gradiente de voltaje utilizado tiene efecto sobre los tiempos de tratamiento en el CO, la generación de calor por unidad de tiempo aumenta cuando el gradiente de voltaje

aumenta, esto es debido a que la resistencia del alimento al paso de corriente a través de él para cualquier potencial aplicado está relacionada con la composición del alimento y su conductividad eléctrica. El tipo de onda y frecuencia del voltaje aplicado afecta el valor de la conductividad eléctrica del alimento y por ende también de todo el proceso de calentamiento; la reducción de la frecuencia de la corriente alterna durante el CO puede dar como resultado una mejor transferencia de masa. El contenido de sólidos totales, viscosidad, acidez y tamaño de partícula del alimento tiene efecto sobre la velocidad de calentamiento, de forma general se establece que en líquidos muy viscosos el calentamiento tiende a ser más rápido que en fluidos poco viscosos, aunque existen algunas excepciones, este conflicto se debe a que la duración del CO depende de la composición química del alimento (Sakr y Liu, 2014).

#### 2.6.1 Ventajas del calentamiento óhmico

En los últimos años, el CO se ha convertido en una alternativa tecnológica para obtener productos potencialmente de mayor calidad en la industria alimenticia, principalmente en el procesamiento aséptico. La ventaja del CO sobre el calentamiento convencional viene de la forma con la que se transfiere el calor, por un lado, en el calentamiento convencional la transferencia de calor ocurre mediante la conducción y convección, siendo la conductividad térmica el principal factor que controla la velocidad de calentamiento; al utilizar este tipo de métodos existe en el alimento un punto frío cerca del centro geométrico, lo que conlleva a serios problemas de calidad en el producto. Por otro lado, en CO la transferencia de calor ocurre debido a la presencia de componentes iónicos en el alimento, mediante el efecto *Joule*, descrito anteriormente, esto permite un calentamiento uniforme con alta eficiencia energética (Kim *et al.*, 2017).

Este método proporciona algunas ventajas con respecto a los métodos de calentamiento convencionales: se cuenta con un calentamiento uniforme del alimento tanto en productos de composición homogénea como heterogénea, se alcanzan altas temperaturas en un corto tiempo, tiene una alta eficiencia energética, bajos costos de inversión y mantenimiento (debido a la ausencia de partes móviles), es un sistema amigable con el medio ambiente, el proceso es técnicamente simple, los tiempos de calentamiento son más cortos, por lo que las propiedades estructurales, nutricionales y sensoriales del alimento no sufren



cambios significativos. En este método de calentamiento el alimento no tiene contacto con superficies calientes, además no existe transferencia de calor residual después de la suspensión de la corriente, así se evita que exista sobrecalentamiento e incrustación del alimento en las superficies y ayuda en gran medida a conservar la integridad del mismo. En el mercado ya existe gran variedad de diseños y capacidades de calentadores óhmicos, esto ha permitido que el proceso se efectúe por lote o de flujo continuo; el uso de nueva tecnología ha permitido poder controlar la entrada de energía y el monitoreo *in situ* de los cambios en los parámetros fundamentales (temperatura, corriente aplicada, voltaje, etc.), además en algunos campos se ha logrado automatizar el proceso, esto posibilita en algunos casos operar el proceso con una baja cantidad de personal. Es claro que el CO es uno de los métodos más eficientes en aplicaciones de calentamiento de alimentos (Jaeger *et al.*, 2016; Tian *et al.*, 2018).

Esta tecnología de calentamiento es efectiva para tratar alimentos con alta viscosidad o aquellos que contengan sólidos insolubles suspendidos, esto es debido a que las fases líquida y sólida pueden tener las mismas velocidades de calentamiento, esto evita el sobrecalentamiento del alimento. En las diferentes aplicaciones del CO se ha observado la mejora de la difusión por electroporación, que es un fenómeno donde se da la formación de poros en la membrana celular, induciendo una mayor transferencia de masa de los componentes líquidos de las células (Wongsa-Ngasri y Sastry, 2016).

Los cortos tiempos de aplicación y las altas temperaturas alcanzadas en el CO, facilitan la destrucción de microorganismos, esto permite reducir los efectos negativos sobre las propiedades sensoriales del alimento y la pérdida de nutrientes en el mismo (Mesías *et al.*, 2016).

#### 2.6.2 Uso del calentamiento óhmico en el procesamiento de alimentos

La importancia del consumo de energía en el proceso de calentamiento en la industria alimenticia hace necesario realizar investigaciones para encontrar nuevos métodos alternativos que permitan ahorrar energía. El CO es una excelente tecnología emergente con gran número de aplicaciones actuales y futuras, esta técnica muestra un gran potencial de desarrollo en diversas áreas de la industria alimenticia, esto es debido a que existe un creciente cambio del calentamiento por lote hacia un proceso continuo con alta temperatura

y cortos tiempo de tratamiento. Esta técnica tiene una gama de aplicaciones, resaltan el secado, escaldado, gelatinización de almidón, pelado de frutas, deshidratación, extracción, evaporación, fermentación, pasteurización, esterilización y descongelamiento (Sakr y Liu, 2014; Ito *et al.* (2014).

Wongsa-Ngasri y Sastry (2016) evaluaron el efecto del uso del CO en el pelado de tomate, ello como búsqueda de una alternativa que sustituya el método tradicional donde se usa hidróxido de sodio a una alta concentración (8.25 g/100 g) y calor (60-100°C), esto provoca que se generen desechos altamente contaminantes debido a su alto pH (más de 13). Los tomates se sometieron a CO en una solución de NaCl bajo varias condiciones de voltaje, temperatura inicial y número de tomates; dando como resultado el pelado con concentraciones de hidróxido de sodio muy reducidas. Las mejores condiciones fueron: 0.01 g/100 ml NaCl con 8060 y 9680 V/m, y 0.03 g/100 ml de NaCl con 6450 y 8060 V/m. Dichas condiciones mostraron un potencial para implementar el pelado por este método, debido a que se requiere un corto tiempo (aproximadamente 1 min).

Pereira *et al.* (2016) evaluaron el efecto de la variación de los parámetros (intensidad del campo eléctrico, temperatura y tiempo de proceso) del CO para la extracción de compuestos bioactivos (antocianinas) de la papa colorada (*Solanum tuberosum* L. var. Vitelotte), con el objetivo de encontrar las mejores condiciones para lograr un proceso factible, de bajo costo y bajo impacto ambiental. Establecieron que la combinación de campos eléctricos con bajos niveles de energía y con elevadas temperaturas es una excelente alternativa para el proceso de extracción, el uso del CO fue muy eficiente, se lograron altos rendimientos con tiempos de tratamiento cortos, consumiendo menor cantidad de energía que el método de calentamiento convencional, además con este método alternativo se evita el uso de disolventes orgánicos, lo que ayuda a disminuir el impacto ambiental.

El CO ha sido utilizado para ayudar a inactivar microorganismos y enzimas, Demirdöven y Baysal (2014) utilizaron este método para la inactivación de la enzima pectín metilesterasa (PME, por sus siglas en ingles) en la producción de jugo de naranja. Sus resultados mostraron una reducción de la actividad de PME mediante el CO, esta actividad fue aproximadamente del 96%, mientras que en el calentamiento convencional fue de

aproximadamente 88.3%, además el producto presentó un mayor contenido total de pectina y ácido ascórbico.

Kim y Kang (2015) estudiaron el efecto del pH en el CO de jugo de naranja, los factores de conductividad eléctrica, velocidad de calentamiento, inactivación de patógenos y aspectos de calidad fueron investigados y comparados con el calentamiento convencional. El pH no afectó la calidad global del jugo de naranja sometido a CO. Ellos concluyeron que tanto el aumento como la reducción del pH pueden considerarse formas eficaces de optimizar la pasteurización del jugo de naranja cuando se usa CO.

Liu *et al.* (2017) examinaron el uso del CO para descongelar atún (*Thunnus maccoyii*) y cómo la conductividad eléctrica afecta dicho proceso. Los valores de conductividad eléctrica de tres músculos de atún (dorsal, lateral y ventral) fueron medidos entre frecuencias de 50 Hz y 20 kHz y temperaturas de -30°C a 20 °C. También se evaluó el efecto de la aplicación de corriente tanto en paralelo como en serie y la presencia de membranas en el músculo de atún sobre la conductividad eléctrica. El empleo de un circuito eléctrico en paralelo y la eliminación de las membranas del músculo causaron que se obtuvieran valores de conductividad eléctrica más altos. El aumento en la frecuencia causó una disminución de la resistencia y un aumento en la velocidad de calentamiento. Mediante el uso de esta tecnología alternativa se logró disminuir el tiempo de descongelamiento de los músculos de atún.

### 2.6.3 Uso del calentamiento óhmico en la nixtamalización

Diversos autores han estudiado el potencial de aplicación del CO en la producción de HMN para la producción de tortillas, se han enfocado en las propiedades fisicoquímicas y nutricionales tanto de HMN como de las tortillas obtenidas.

Morales-Sánchez *et al.* (2010) propuso la invención de un aparato cocedor por CO para producir masa y HMN. El equipo diseñado es de flujo continuo y las etapas del proceso son: molienda del grano entero, mezclado del maíz con agua e hidróxido de calcio, transporte a presión de la mezcla, cocimiento de la mezcla con el calentador óhmico continuo y secado de la mezcla durante su transporte por la tubería. El calentador propuesto tiene una capacidad volumétrica de 250 cm<sup>3</sup>, las medidas internas de la celda de calentamiento son de 25 cm de largo, 5 cm de ancho y 2 cm de alto. La corriente eléctrica alterna es proporcionada por dos

electrodos conectados a una fuente de poder, dichos electrodos son dos placas de acero inoxidable. Dicho calentador óhmico está formado por un controlador de temperatura Watlow equipado con un sensor de temperatura, un multímetro HP para medir la corriente y el voltaje, un controlador de velocidad Baldor para el alimentador y un transformador de voltaje Variac de 60 Hz (Figura 4).

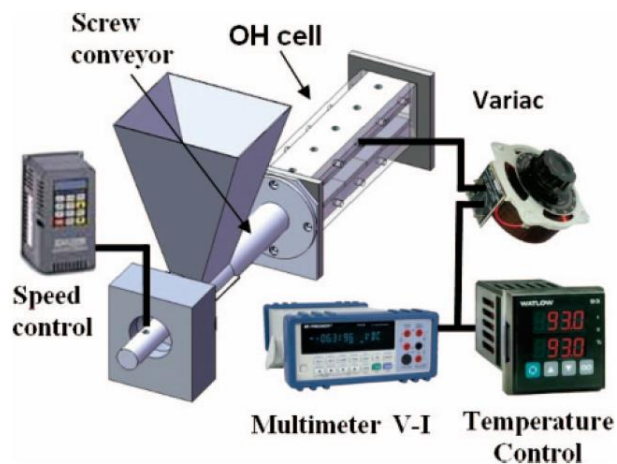


Figura 4. Cocedor óhmico continuo.  
Fuente: Ménera-López *et al.* (2013).

Gaytán-Martínez *et al.* (2011) caracterizaron y compararon las principales propiedades fisicoquímicas, químicas y funcionales de HMN producida mediante el CO (HMN-CO) y PTN (HMN-PTN), además las compararon con una HMN comercial (HMN-C). Para producir las HMN-CO se evaluó el efecto del tamaño de partícula (450, 525 y 600 micras) la humedad (45, 52.5 y 60% P/V) y la temperatura final de procesamiento (70, 80 y 90 °C), se utilizó un equipo diseñado para una producción por lote. Se determinó la composición química, CAAS, IAA e ISA, viscosidad, rendimiento, humedad en las diferentes HMN, además se evaluó la textura y rendimiento en masa y tortilla. Los valores obtenidos de CAAS, IAA e ISA y viscosidad en las muestras de HMN-CO reflejaron diferentes grados de gelatinización, los autores sugieren que es esto se podría controlar variando los valores de temperatura y humedad de proceso. También establecieron que el CO permite producir HMN con diferentes rendimientos, esto en base al grado de gelatinización del almidón, dichos rendimientos son obtenidos sin afectar la textura de la masa y tortilla. Las masas y tortillas obtenidas a partir de HMN-CO mostraron valor de humedad más altos que al usar HMN-PTN, lo cual se reflejó en un mayor rendimiento y mejor textura. El contenido de proteína de las HMN-CO fue superior a las HMN-PTN. El contenido de fibra

en HMN-CO fue superior al compararlo con HMN-PTN y HMN-C. El contenido de calcio de las HMN-CO fue superior al presente en HMN-C. Los autores concluyen que el CO ofrece un enorme potencial para ser utilizado en la producción de HMN.

Gaytán-Martínez *et al.* (2012) evaluaron el efecto del tamaño de partícula (0.5, 0.8 y 1.3 mm), la humedad (53 y 60% P/V) y la temperatura final de procesamiento (80 y 90 °C) sobre las propiedades de masa y tortillas, elaboradas con HMN-CO e hicieron la comparación con muestras de masa y tortilla elaboradas con HMN-PTN. Los resultados mostraron que la humedad y la temperatura final fueron las variables que afectaron la viscosidad de la HMN-CO. Bajo los parámetros de humedad de 53 %H, temperatura de 90 °C y tamaño de partícula de 0.8 mm en el proceso de CO se obtuvieron HMN con características funcionales semejantes a las obtenidas mediante el PTN. Fue comparada la calidad de las tortillas obtenidas por ambos métodos, mediante el uso de HMN-CO se obtuvieron tortillas más suaves y con un rendimiento mayor que las producidas con HMN-PTN, esta diferencia se debe a que el CO permite procesar grano de maíz entero, conservado así el pericarpio y al actuar este último como una goma natural permite aumentar la capacidad de retención y las propiedades texturales del producto. Los autores establecen que el CO tiene un gran potencial para ser usado en el área de la nixtamalización a nivel industrial, debido a las excelentes ventajas que presenta, sobre todo el ser una tecnología amigable con el medio ambiente.

Ménera-López *et al.* (2013) produjeron HMN mediante el uso de un calentador óhmico continuo, se evaluaron los efectos de la humedad (50 y 60% P/V), la temperatura de alimentación (75 y 85 °C), y velocidad de alimentación (10 y 20 rpm) sobre las propiedades fisicoquímicas y texturales de masa y tortilla. Los resultados establecieron que la temperatura es el factor que ejerce mayor efecto en la calidad del producto final, por otro lado, la velocidad de alimentación es un factor que no ejerce efecto significativo, esto último es muy importante ya que esto hace posible obtener HMN de buena calidad, independientemente de la velocidad de la alimentación. Las tortillas obtenidas tuvieron características de calidad similares a las existentes en aquellas producidas a partir de HMN-PTN, mostraron un mejor rendimiento y una textura más suave. Los autores concluyeron que el CO continuo presenta un gran potencial para producir HMN de una forma eficiente a nivel industrial.

Rangel-Hernández (2017) empleó un cocedor óhmico continuo para producir HMN y estudió como las condiciones del procesamiento afectan la calidad nixtamalera, química y nutraceútica. Primeramente, el autor realizó el estudio en un cocedor óhmico por lote para determinar las mejores condiciones de procesamiento y posteriormente transportar dichas condiciones al proceso continuo. El maíz utilizado presentó un tamaño de partícula predominante de 1410  $\mu\text{m}$ , se empleó 0.3 % de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  y una humedad de 55 %. Los factores evaluados fueron: temperatura (85 y 90  $^{\circ}\text{C}$ ), voltaje (120 o 130 V), tiempo de residencia (0, 5, 10 min). Las condiciones elegidas para ser aplicadas en el CO continuo fueron: una velocidad de 5 o 10 rpm, una temperatura de 85  $^{\circ}\text{C}$  y un voltaje de 120 V. Se utilizaron como controles HMN-PTN y HMN-C. La masa presentó propiedades de textura semejantes a HMN-PTN y HMN-C, también mostró un mayor rendimiento. Las tortillas producidas mostraron valores de color y roabilidad semejantes a HMN-PTN, mientras que para los parámetros de fuerza a la tensión (FT) y fuerza al corte (FT) fueron semejantes a HMN-C, aunque HMN-CO permitió obtener tortillas con un mayor rendimiento y una retrogradación menor en comparación con ambos controles. Con respecto a la evaluación química y nutraceútica en las diferentes HMN-CO, con respecto a los controles, se logró mantener el contenido de proteínas, aminoácidos, compuestos fenólicos y a su vez presentó un mayor contenido de fibra dietética total.

Ramírez-Jiménez *et al.* (2019) investigaron los cambios en el perfil fitoquímico de HMN-CO y HMN-PTN. Para el procesamiento de HMN-CO, el maíz fue acondicionado a una humedad del 50% y se empleó una concentración de hidróxido de calcio de 0.30% (P/P) y las condiciones durante el CO fueron: 5 rpm, 85  $^{\circ}\text{C}$ , 120 V y 60 Hz. Con respecto a HMN-PTN, HMN-CO mostró un mayor contenido de compuestos fenólicos totales y flavonoides totales; así mismo HMN-CO presentó una mayor cantidad de compuestos fenólicos unidos y flavonoides libres que HMN-PTN. En el ensayo DPPH se obtuvo una mayor actividad antioxidante en HMN-CO para los compuestos fenólicos ligados, mientras que para los compuestos fenólicos libres no se presentó diferencia significativa con respecto a HMN-PTN. Por otro lado, en el ensayo ABTS se mostró una mayor actividad antioxidante en HMN-CO para los compuestos fenólicos libres mientras que fue menor en los compuestos fenólicos ligados, ello con respecto a HMN-PTN. La presencia de una mayor actividad antioxidante en HMN-CO, es debida a que, durante el CO, a diferencia del PTN, el maíz conserva el

pericarpio, está estructura del maíz es la que contiene una importante cantidad de compuestos fenólicos que a su vez genera un aumento en la actividad antioxidante. Los autores establecen que los compuestos fenólicos ligados son los que mayormente contribuyen en la actividad antioxidante.

## 2.7 Diseño de experimentos y modelo de regresión

Tanto en el área de la investigación como en la industria es frecuente realizar experimentos o pruebas con el objetivo de resolver un problema, realizar mejoras o validar una idea (conjetura, hipótesis). Por ejemplo, hacer cambios en los materiales, métodos o condiciones de operación de un proceso, o en el diseño de un nuevo producto. El diseño de experimentos (DE) es la forma más eficaz de realizar pruebas, con esta herramienta se puede determinar cuáles pruebas se deben efectuar y la manera de realizarlas, con la finalidad de obtener datos que, al analizarlos estadísticamente, aporten información objetiva que ayude a resolver las interrogantes planteadas y así lograr la solución de problemas o alcanzar mejoras.

El DE es una herramienta empleada para investigar los efectos de las variables independientes (factores) sobre una variable dependiente (respuesta). Los experimentos consisten en una serie de corridas, en las cuales se evalúan diferentes niveles de cada uno de los factores seleccionados, en cada una de las corridas se recolectan datos de la variable dependiente. El DE se emplea con el objetivo de establecer las condiciones de un proceso, o los ingredientes del producto que afectan la calidad, para posteriormente identificar la combinación de los niveles de cada uno de los factores que arroja mejores resultados, ello en base a nuestra conveniencia y a nuestra capacidad en la toma de decisiones.

Considerando un DE con una sola variable dependiente y que depende de  $k$  factores, por ejemplo,  $x_1, x_2, \dots, x_k$ . La relación entre dichas variables se puede expresar mediante un modelo matemático llamado modelo de regresión, el cual se ajusta a un conjunto de datos muestrales. Existe una firme relación recíproca entre el diseño de experimentos y el análisis de regresión. Con la finalidad de simplificar la comprensión, interpretación e implementación de los resultados obtenidos de un DE, es importante expresarlos cuantitativamente, este objetivo se logra mediante el uso de modelos de regresión. Un modelo de regresión lineal se puede expresar mediante la ecuación:

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \varepsilon$$

Donde se expresa un modelo de regresión múltiple con dos factores, el modelo describe un plano en el espacio bidimensional  $x_1, x_2$ . El parámetro  $\beta_0$  establece la intersección del plano con el eje de las coordenadas. Mientras que  $\beta_1$  y  $\beta_2$  se definen como los coeficientes de regresión parcial,  $\beta_1$  mide el cambio esperado en  $y$  para cada cambio unitario de  $x_1$  cuando  $x_2$  permanece constante, y  $\beta_2$  mide el cambio esperado en  $y$  para cada cambio unitario de  $x_2$  cuando  $x_1$  permanece constante. De forma general la variable de respuesta  $y$  puede expresarse en relación a  $k$  factores, dicho modelo es llamado modelo de regresión lineal múltiple:

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \cdots \beta_k x_k + \varepsilon$$

A los parámetros  $\beta_j, j = 0, 1, \dots, k$  se les llama coeficientes de regresión. En modelos más complejos muchas veces es necesario la incorporación de uno o varios términos de interacción entre los factores considerados, por ejemplo, el modelo de primer orden con dos factores se establece de la siguiente manera:

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \cdots \beta_{12} x_1 x_2 + \varepsilon$$

Antes de considerar los factores dentro del modelo de regresión, es necesario que dichos factores y las interacciones entre las mismas, tengan un peso significativo sobre la variable independiente, lo cual se puede establecer en el ANOVA resultante del DE, considerando el valor de  $\alpha$  elegido, que generalmente es de 0.05.

Considerando el valor absoluto de los coeficientes de regresión se puede establecer el peso de cada factor o interacción sobre la variable dependiente, a mayor valor de un coeficiente, mayor peso tiene y viceversa. El signo de dichos coeficientes es un indicador del sentido del cambio en la variable independiente, donde su valor puede disminuir o aumentar. Otros criterios a considerar en la calidad del modelo se enuncian a continuación:

- ❖ Para que un modelo de regresión sea aceptable el valor de  $R^2$  debe ser mayor o igual a 0.8 para poder emplearse como un modelo predictivo, si el valor de  $R^2$  se ubica entre el intervalo [0.6 - 0.79] el modelo es explicativo, mientras que si es menor a 0.6 se considera como un modelo inaceptable. Otro criterio a considerar es que los valores de  $R^2$  y  $R^2_{ajustada}$  deben ser cercanos entre sí, la diferencia entre los parámetros no debe ser mayor a 1.0. Si los valores son muy distantes entre sí, esto es un indicador de que el modelo mantiene



factores o interacciones de primer orden o de orden superior no significativas, manipulando así la calidad de dicho modelo, lo cual no es aceptable.

❖ El valor de  $p$  del modelo de regresión debe ser menor al valor de  $\alpha$  elegido para considerarse como un modelo aceptable.

❖ En la gráfica de residuos del modelo de regresión, los valores deben estar distribuidos de una forma aleatoria y no pueden tener alguna tendencia marcada (Montgomery, 2004).

### **3. JUSTIFICACIÓN**

México posee una producción anual de 8.4 millones de toneladas de tortillas, hoy en día la industria de la masa y la tortilla en el país es una actividad económica muy importante, generando 360 mil empleos directos. Se desarrolla en diferentes tamaños de empresas que va desde tortillerías, pequeña y mediana empresa (PyME) y grandes industrias (CEDRSSA, 2014).

Como alternativa ante las múltiples desventajas que presenta el PTN, el uso de CO en la nixtamalización ha permitido obtener HMN y tortillas con una calidad similar o mejor al producto obtenido mediante el PTN. Para poder realizar la transferencia tecnológica de este proceso hacia la industria de la masa y la tortilla, es necesario evaluar la aceptación sensorial de las tortillas obtenidas mediante el CO por los consumidores.

También se requiere alargar la vida de anaquel de las tortillas mediante el uso de conservadores sin afectar su aceptación sensorial. La extensión de la vida de anaquel del producto permite la reducción del desperdicio del producto y aumentar el tiempo de rotación del mismo, aumentando así el beneficio económico para los productores. Logrado este objetivo se puede utilizar el CO para la producción de tortillas a nivel industrial con una vida de anaquel aceptable que permita que el producto pueda ser distribuidas en tiendas de conveniencia, supermercado e incluso ser exportadas al extranjero, donde se tiene alta demanda del producto. Además, es posible implementar este proceso en el extranjero donde existen regulaciones ambientales muy estrictas y no es posible implementar el PTN.

## **4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

### 4.1 Hipótesis

Mediante la adición de una mezcla de conservadores a HMN-CO es posible extender hasta 6 días o más la vida de anaquel de las tortillas.

### 4.2 Objetivos

#### 4.2.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la adición de diferentes mezclas de conservadores a HMN obtenida mediante CO continuo sobre la vida de anaquel de las tortillas producidas y almacenadas a temperatura ambiente.

#### 4.2.2 Objetivos específicos

1. Asegurar la calidad funcional de HMN obtenida mediante CO continuo.
2. Asegurar la calidad funcional de tortillas elaboradas con HMN obtenida mediante CO continuo.
3. Determinar la aceptación sensorial de tortilla obtenida mediante CO continuo.
4. Determinar la aceptación sensorial, en los atributos de olor y sabor, de tortillas elaboradas con HMN obtenida mediante CO y formuladas con cuatro mezclas de conservadores.
5. Seleccionar las mezclas de conservadores que permitan extender la vida de anaquel de tortillas elaboradas con HMN obtenida mediante CO continuo.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1 Materiales

Equipos: Analizador de textura (Lloyd Instruments, modelo TA-PLUS), balanza analítica (OHAUS, modelo CS 2000), Calentador Óhmico Continuo, Centrifuga Universal (Hermle, modelo Zentrifuge Z400), equipo Ro-Tap (Tyler Incorporated, modelo Rx-29), estufa de secado (Felisa, modelo FE-2434), homogeneizador (Stomacher®), incubadoras de precisión (22 y 35 °C), molino de piedras (FUMASA, modelo US-25), molino pulverizador (Pulvex-200), mezcladora (Kitchen Aid, modelo K45SS), potenciómetro (Hanna Instruments, modelo HI 2221), reómetro (Physica Anton Para, modelo MCR-101) secador flash (Tecnología de CINVESTAV-Querétaro), termo baño con agitación, tortilladora manual de rodillos (Tortilladoras González S.A. de C.V), maquina tortilladora (Verduzco).

Material general: Agua purificada comercial, bolsas de polietileno (Ziploc), cajas Petri, coladera de plástico, comal metálico, criba de metal (5 mm), mallas para tamizado (14, 20, 30, 40, 60, 80 y 100), material de laboratorio, parrilla de gas, parrilla eléctrica con agitador magnético, refrigerador, varilla de madera de 2 cm de diámetro.

Reactivos: Agar bilis rojo violeta (BD Bioxon), agar papa dextrosa (BD Bioxon), agua destilada, peptona de caseína (BD Bioxon), ampicilina al 1%, ácido tartárico al 10%.

Materia prima: Maíz de uso comercial (Cosecha 2017, variedad Sinaloa), agua purificada comercial y los siguientes aditivos con calidad de grado alimenticio: hidróxido de calcio (CALIDRA, Quimex 95), propionato de sodio (Pochteca materias primas) sorbato de potasio (Pochteca materias primas) y ácido fumárico (Pochteca materias primas).

### 5.2 Métodos

#### 5.2.1 Obtención de harina de maíz nixtamalizada mediante el proceso tradicional (HMN-PTN)

Antes de procesar el maíz, este se limpió para eliminar materia extraña, así como maíz podrido y/o dañado, se utilizó una criba de metal con una apertura de 5 mm. Una vez limpio, el maíz se colocó en agua (2 L/kg de maíz) y se le adicionó hidróxido de calcio (1.0% P/V; CALIDRA, Quimex 95), la mezcla se sometió a cocción en una vaporera de aluminio por un tiempo de 25 min una vez que se alcance la temperatura de 90 °C, posteriormente se

mantuvo en reposo por 12 h. Después del reposo el agua de cocimiento (nejayote) se separó, el maíz se enjuagó dos veces con agua limpia usando una relación de 2:1 (V/P), ello con la finalidad de eliminar el exceso de hidróxido de calcio y pericarpio desprendido.

Para obtener la masa el maíz nixtamalizado se molió en un molino de piedras (FUMASA, modelo US-25). La masa se secó en un secador tipo flash (Tecnología de CINVESTAV-Querétaro), con una temperatura de entrada y salida de 270 y 40 °C respectivamente, bajo estas condiciones la humedad de la HMN será del 10%, después del secado se molió mediante un molino pulverizador (Pulvex-200) usando una malla de 0.5 mm de apertura. Finalmente, la HMN se guardó en bolsas de polietileno bajo refrigeración a una temperatura de 4 °C, para su posterior uso (Gaytán-Martínez *et al.*, 2012).

#### 5.2.2 Obtención de harina de maíz nixtamalizada mediante calentamiento óhmico (HMN-CO)

Antes de procesar el maíz, este se limpió para eliminar materia extraña, así como maíz podrido y/o dañado, se utilizó una criba de metal con una apertura de malla de 5 mm. El maíz limpio se molió con un molino Nixtamatic. Por cada kg de maíz se le adicionó 550 ml de agua (30 °C) y 3 g de hidróxido de calcio (CALIDRA, Quimex 95). El hidróxido de calcio se disolvió en la mitad del agua necesaria para acondicionar un kg de maíz, la mezcla se homogeneizó durante 10 min en una batidora (Kitchen Aid, modelo K45SS). La mezcla se mantuvo en reposo a 30 °C durante 3 horas.

La mezcla se sometió a cocción en un calentador óhmico continuo patentado por Morales-Sánchez *et al.* (2010). Se aplicó una temperatura de 85 °C y una velocidad de alimentación de 5 rpm, un voltaje de 120 V y una frecuencia de 60 Hz, la temperatura se monitoreó mediante un termopar tipo T que se instaló en el centro del equipo al lado de los termopares.

La masa obtenida fue secada usando un secador tipo flash (Secador Flash Tecnología de CINVESTAV-Querétaro), con una temperatura de entrada y salida de 270 °C y 40 °C respectivamente, bajo estas condiciones la humedad de la masa será de entre 8 a 11%, después del secado la masa se molió mediante un molino pulverizador (Pulvex-200) usando una malla de 0.5 mm de apertura. Finalmente, la HMN se guardó en bolsas de polietileno

bajo refrigeración a una temperatura de 4 °C, para su posterior uso (Gaytán-Martínez *et al.*, 2012; Ménera-López *et al.*, 2013).

### 5.2.3 Caracterización de la distribución del tamaño de partícula del maíz empleado para la producción de HMN-CO

Se determinó la granulometría del maíz molido mediante el molino Nixtamatic. Se empleó un equipo de tamizado Ro-Tap (Tyler Incorporated, modelo Rx-29) y las mallas 14, 20, 30, 40, 60, 80 y 100, se utilizaron 50 g de muestra, el tiempo de tamizado fue de 10 min, después de la separación de fracciones, cada una de ellas fue pesada. La cantidad de muestra retenida en cada una de las mallas se expresó como el porcentaje de retención en cada una de las mallas, considerando el peso de la muestra de maíz empleada, para lo cual se utilizó la siguiente ecuación:

$$\%DTP = \frac{\text{Peso retenido en cada malla (g)}}{\text{Peso inicial de harina (g)}} * 100$$

El análisis se efectuó por triplicado, se reportó el promedio y la desviación estándar (Bedolla y Ronney, 1984).

### 5.2.4 Optimización de la alimentación del maíz durante el calentamiento óhmico

Se midió el rendimiento de masa obtenido durante el proceso durante 1 min, la medición se realizó 5 veces, para 5 lotes de producción, el rendimiento se expresó en g de masa/min. Se realizó un análisis de ANOVA para poder establecer diferencia en el rendimiento entre los diferentes lotes de producción ( $p \leq 0.05$ ). Además, se hizo una prueba de comparación de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

### 5.2.5 Evaluación de la aceptabilidad sensorial de tortilla obtenida mediante HMN-CO

#### 5.2.5.1 Producción de tortillas

Mediante las HMN obtenidas se produjeron tortillas empleando una maquina tortilladora (Verduzco S.A. de C.V.). Se produjeron tortillas a partir de HMN-CO, HMN-PTN y HMN comercial (HMN-C, marca Maseca), 2 kg de cada una de las HMN fueron hidratadas y amasadas hasta obtener masas con características óptimas para poder ser troquelada en la maquina tortilladora.

### 5.2.5.2 Desarrollo de la evaluación sensorial

Se efectuó una evaluación de aceptabilidad sensorial de los 3 tipos de tortillas producidas. Se desarrolló una prueba sensorial hedónica de 9 puntos, donde 9 es lo más gustado y 1 lo menos gustado, se emplearon 55 consumidores (18-60 años). Los atributos evaluados fueron sabor, olor, color, textura, facilidad de enrollado y aceptabilidad general, la boleta empleada se observa en la Figura 5 (Anton *et al.*, 2009).

A los panelistas se les proporcionó una breve explicación de forma oral sobre las instrucciones a seguir en la prueba. A cada uno de los panelistas se les proporcionó un set con las 3 muestras a evaluar (calientes), una boleta de respuestas y un vaso con agua como borrador de sabor (para ser usado entre cada una de las muestras). Cabe resaltar que el orden de las muestras en la prueba fue aleatorio y balanceado, empleando los 6 posibles arreglos de orden. Los códigos empleados fueron: 721 (HMN-PTN), 549 (HMN-CO) y 358 (HMN-C). La prueba se realizó en la sala de evaluación sensorial de la Universidad Autónoma de Querétaro; en cabinas individuales, el horario de la evaluación fue de 12:00 a 13:00 h, se realizó en cabinas individuales de color blanco y la luz empleada fue de color blanco. Los datos obtenidos se analizaron mediante la prueba de Kruskal Wallis ( $p \leq 0.05$ ).

Edad: \_\_\_\_\_ Género: \_\_\_\_\_ Folio: \_\_\_\_\_

**INSTRUCCIONES**

Frente a usted se presentan muestras de tortilla. Por favor, observe, enrolle la tortilla como un "TACO" y pruébela. Indique el grado en que le gusta o le disgusta cada atributo para cada muestra, marcando con una "X".

Nivel de aceptación	Sabor			Olor			Color			Textura			Facilidad de enrollado			Aceptabilidad General		
	718	121	431	718	121	431	718	121	431	718	121	431	718	121	431	718	121	431
Me gusta muchísimo																		
Me gusta mucho																		
Me gusta moderadamente																		
Me gusta poco																		
No me gusta ni me disgusta																		
Me disgusta poco																		
Me disgusta moderadamente																		
Me disgusta mucho																		
Me disgusta muchísimo																		

Figura 5. Boleta empleada para la evaluación de la aceptabilidad sensorial de tortilla obtenida mediante HMN-CO.

## 5.2.6 Evaluación de la aceptabilidad sensorial de tortilla obtenida mediante la formulación de HMN-CO con diferentes mezclas de conservadores

### 5.2.6.1 Producción de tortillas

Se produjo un lote de tortillas a partir de cada uno de los tratamientos de HMN-CO establecidos en el diseño experimental (Tabla 4).

Tabla 4. Diseño de experimentos con dos conservadores a dos niveles de concentración (2<sup>2</sup>) empleado en la formulación de HMN-CO.

Factores \ Niveles	Concentración [% (P/P HMN)]	
	Bajo	Alto
Propionato de Sodio	0.20	0.30
Sorbato de Potasio	0.125	0.175

Se procedió de la misma manera que lo establecido en el apartado -5.2.5.1 Producción de tortillas-. 2 kg de HMN-CO fueron empleados para cada formulación, las mezclas de conservadores fueron adicionadas al agua de hidratación de HMN-CO. Las mezclas empleadas se muestran en la Tabla 5. Cabe mencionar que el ácido fumárico se mantuvo constante en 0.10% (P/P HMN) en cada una de los tratamientos.

Tabla 5. Mezclas de conservadores empleados en la formulación de HMN-CO.

Conservador	Concentración [% (P/P HMN)]			
	Mezcla 1 (M1)	Mezcla 2 (M2)	Mezcla 3 (M3)	Mezcla 4 (M4)
Propionato de Sodio	0.20	0.20	0.30	0.30
Sorbato de Potasio	0.125	0.175	0.125	0.175
Ácido Fumárico	0.10	0.10	0.10	0.10

### 5.2.6.2 Desarrollo de la evaluación sensorial

Se efectuó una evaluación de aceptabilidad sensorial de los 4 tratamientos de tortillas producidas (Tabla 5). Se procedió de la misma manera que lo establecido en el apartado -5.2.5.2 Desarrollo de la evaluación sensorial-, con algunas modificaciones que a continuación se mencionan. Los atributos a evaluar fueron olor y sabor; a cada uno de los



panelistas se les proporcionó un set con las 4 muestras a evaluar (calientes) y dos boletas de respuestas, la primera para evaluar olor (Figura 6) y la segunda para el sabor (Figura 7). Cabe resaltar que el orden de las muestras en la prueba fue aleatorio y balanceado, empleando los 24 posibles arreglos de orden. Los códigos empleados fueron: M1 (186), M2 (521), M3 (759) y M4 (347).

Edad: \_\_\_\_\_ Sexo: Mujer (  ) Hombre (  )

**INSTRUCCIONES:**

Se presentan ante Usted cuatro muestras de tortilla de maíz para evaluar el **OLOR**, cada muestra de tortilla tiene un código de tres números que la identifica.

Marque con una "X" el grado de aceptación del **OLOR** para cada muestra.

Nivel de aceptación	521	759	347	186
Me gusta muchísimo				
Me gusta mucho				
Me gusta moderadamente				
Me gusta poco				
No me gusta ni me disgusta				
Me disgusta poco				
Me disgusta moderadamente				
Me disgusta mucho				
Me disgusta muchísimo				

Figura 6. Boleta empleada para la evaluación de la aceptabilidad sensorial de olor en tortilla, obtenida mediante la formulación de HMN-CO con diferentes mezclas de conservadores.

Edad: \_\_\_\_\_

Sexo: hombre ( \_\_ )    mujer ( \_\_ )

**INSTRUCCIONES:**

Se presentan ante Usted cuatro muestras de tortilla de maíz para evaluar el **SABOR**, cada muestra de tortilla tiene un código de tres números que la identifica. Tiene Usted un vaso con agua para que pueda enjuagar su boca entre cada muestra.

Marque con una "X" el grado de aceptación del **SABOR** para cada muestra.

Nivel de aceptación	521	759	347	186
Me gusta muchísimo				
Me gusta mucho				
Me gusta moderadamente				
Me gusta poco				
No me gusta ni me disgusta				
Me disgusta poco				
Me disgusta moderadamente				
Me disgusta mucho				
Me disgusta muchísimo				

Figura 7. Boleta empleada para la evaluación de la aceptabilidad sensorial de olor en tortilla, obtenida mediante la formulación de HMN-CO con diferentes mezclas de conservadores.

### 5.2.7 Caracterización fisicoquímica de HMN-CO y HMN-PTN

Cada uno de los análisis se desarrollaron por triplicado, se reportó el promedio y la desviación estándar.

#### 5.2.7.1 Distribución de tamaño de partícula

Se determinó la granulometría de cada una de las HMN obtenidas, se procedió de la misma manera a lo establecido en el apartado -5.2.3 Caracterización de la distribución del tamaño de partícula del maíz empleado para la producción de HMN-CO-.

#### 5.2.7.2 Índice de absorción de agua e índice de solubilidad de agua

Se determinó de acuerdo a los métodos establecidos por Anderson *et al.* (1969). Se adicionaron 2.5 g de muestra de HMN a tubos de centrifuga anticipadamente tarados, se agregaron 40 ml de agua destinada, después las muestras se sometieron a baño maría a una temperatura de 30 °C durante 30 min bajo agitación constante. Posteriormente las muestras se centrifugaron (Centrifuga Hermle, modelo Z400) a 3000 rpm por 30 min, el sobrenadante obtenido se transfirió a cápsulas de porcelana taradas previamente, las muestras se secaron

en una estufa a 105 °C por 24 h, después de transcurrido el tiempo de secado se pesaron las cápsulas. El peso del residuo de evaporación se obtuvo mediante la diferencia entre el peso inicial de la cápsula y el peso final de la cápsula con el residuo de evaporación. El peso del residuo de centrifugación se calculó mediante la diferencia entre el peso inicial del tubo y el peso final del tubo con el precipitado. Para calcular los gramos de agua absorbida por la HMN se utilizó la siguiente ecuación:

$$IAA = \frac{\text{Peso del residuo de centrifugación (g)}}{\text{Peso seco de la muestra(g)} - \text{Peso del residuo de evaporación}}$$

El valor de ISA se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$\%ISA = \frac{\text{Peso del residuo de evaporación}}{\text{Peso seco de la muestra}} * 100$$

#### 5.2.7.3 Capacidad de absorción de agua subjetiva

Se procedió de acuerdo a lo establecido por Arámbula-Villa *et al.* (2001). Se pesaron 250 g de HMN, mediante una bureta se adicionó agua a la muestra, se homogenizó la mezcla manualmente, se adicionó el agua necesaria hasta alcanzar una consistencia característica de una masa, el parámetro se expresó como L de agua/kg de HMN.

#### 5.2.7.4 Perfil de viscosidad

Este análisis se desarrolló de acuerdo con el método 61-02 de la AACC (2000) con diversos cambios sugeridos por Ménera-López *et al.* (2013). Se pesaron 3 g de cada muestra de HMN, se agregó agua destilada hasta alcanzar un peso final de 21 g, la muestra se homogenizó mediante un agitador a una velocidad de 169 rpm, una temperatura de 50 °C y un tiempo de 2 min. Se utilizó un reómetro (Physica Anton Para, modelo MCR-101), la muestra se calentó hasta 92 °C a una tasa de 5.6 °C/min, manteniendo constante la temperatura por 5 min, posteriormente la muestra se enfrió hasta 50 °C a una tasa de 5.6 °C/min. En este análisis se evaluaron los parámetros de viscosidad máxima (VM) y viscosidad final (VF), expresadas ambas en centipoise (cp).

#### 5.2.7.5 pH

Este parámetro se midió bajo lo establecido por el método 02-52 de la AACC (2000). El análisis se llevó a cabo a temperatura ambiente, se adicionaron 10 g de HMN y 90

ml de agua a un vaso de precipitado, ambos componentes se mezclaron por 15 min con la ayuda de un agitador magnético, posteriormente la mezcla se mantuvo en reposo durante 30 min. El pH del sobrenadante fue medido por triplicado mediante un potenciómetro (Hanna Instruments, modelo HI 2221).

#### 5.2.7.6 Humedad

El contenido de humedad de las HMN fue determinado según lo establecido por el método 44-15 de la AACC (2000), donde 3 g de muestra fueron colocados en una estufa a  $105 \pm 1^\circ\text{C}$  por 12 h. Se empleó una estufa con circulación de aire (Felisa, modelo FE-2434).

#### 5.2.8 Caracterización fisicoquímica de tortillas producidas mediante HMN-CO y HMN-PTN

Cada uno de los análisis se realizó por triplicado, se reportó el promedio y la desviación estándar.

##### 5.2.8.1 Producción de tortillas

Se procedió conforme a lo establecido por Gaytán-Martínez *et al.*, (2012). Se produjeron tortillas a partir de HMN-CO y HMN-PTN. A un peso conocido de cada tipo de HMN se le adicionó la cantidad de agua necesaria para obtener una masa con la consistencia adecuada para ser troquelada. Las tortillas fueron troqueladas con la ayuda de una tortilladora manual de rodillos (Tortilladoras González S.A. de C.V) con un diámetro de 12.5 cm y un espesor de 1.2 mm. Posteriormente se sometieron a cocción usando un comal metálico, a una temperatura de  $270 \pm 10^\circ\text{C}$ , se coció 17 s por la primera cara, después 50 s por la segunda cara para la formación de la capa gruesa y finalmente 17 s adicionales por la primera cara con el fin de lograr el inflado de la tortilla.

##### 5.2.8.2 Inflado de tortilla

Se siguió el procedimiento descrito por Figueroa-Cárdenas *et al.* (2001). El análisis se llevó a cabo durante la cocción, se evaluó la magnitud de la ampolla formada durante el inflado de la tortilla conforme a una escala subjetiva, la cual va de 1 a 3, el valor de 1 representa un inflado completo, 2 un inflado intermedio y 3 ausencia de inflado.

### 5.2.8.3 Rolabilidad

La determinación de este parámetro se determinó de forma subjetiva, mediante el uso de una escala de 6 puntos. Una tortilla se enrolló alrededor una varilla de madera de 2 cm de diámetro y se clasificó bajo la siguiente escala: 1 = sin signos de agrietamiento; 2 = solo agrietamiento del borde; 3 = agrietamiento en el borde y en el centro; 4 = agrietamiento y rompimiento en uno de los lados; 5 = agrietamiento y rompimiento en ambos lados, pero aún enrollable; 6 = no se puede enrollar. Las tortillas fueron consideradas inacceptables cuando la calificación de rolabilidad fue mayor que 3 (Anton *et al.*, 2008; Barros *et al.*, 2010)

### 5.2.8.4 Pérdida de peso en tortillas (PPT)

Se procedió de acuerdo con lo establecido por Arámbula-Villa *et al.* (2001). Se pesaron las tortillas antes y después de la cocción con la ayuda de una balanza (OHAUS, modelo CS 2000). Este parámetro se expresó en porcentaje (P/P) y se calculó mediante la siguiente ecuación (PP: pérdida de peso):

$$\%PP = \frac{(PT_{cruda} - PT_{cocida})}{PT_{cruda}} * 100$$

### 5.2.8.5 Rendimiento de tortilla (RT)

Dicho parámetro se determinó de acuerdo con lo establecido por Arámbula-Villa *et al.* (2001). Para dicho cálculo se consideró primeramente el rendimiento de la masa según lo descrito por Mauricio-Sánchez *et al.* (2009), considerando los valores de CAAS, y se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% RT = \frac{PT_{cruda}}{PT_{cocida}} * RM$$

Siendo, RT: Rendimiento de tortilla (g de tortilla/g de HMN); PT: peso de tortilla; RM: Rendimiento de masa (g masa/g HMN).

### 5.2.8.6 Determinación de textura en tortillas

Se analizó con forme al método descrito por Gaytán-Martínez *et al.* (2012). Se empleó un analizador de textura (Lloyd Instruments, modelo TA-PLUS), se midieron los parámetros de FT y FC.

Para la determinación de FT se cortó una tira de la parte central de la tortilla en forma de probeta (“I”), evitando los bordes. Las dimensiones de la tira fueron de 8.7\*3.7 cm y 8.7\*1.5 cm en la parte delgada de la tira. Se utilizó el accesorio TA-65, este accesorio consta de unas pinzas de sujeción en las que se coloca la muestra y esta es sometida a tensión hasta llegar al rompimiento. El análisis se llevó a cabo a una velocidad de 2 mm/s y una distancia de tensión de 15 mm. Mediante la curva obtenida, se obtuvo la fuerza máxima requerida (N).

Para la evaluación de la FC se usó el accesorio TA-90, la cual es una cuchilla plana con dimensiones de 6.93 cm de ancho y 3 mm de espesor, este accesorio corta la tortilla en forma perpendicular a sus caras. Se emplearon las mismas tiras de tortillas utilizadas en la prueba de extensibilidad, el corte se efectuará en el centro de la “I”, los parámetros de la prueba fueron: velocidad de 2 mm/s y distancia de 15 mm. Se registró la fuerza máxima necesaria para perforar la tortilla (N).

#### 5.2.8.7 Humedad de las tortillas

Este parámetro se determinó en base a lo descrito por el método 44-15 de la AACC (2000). Se pesaron 3 gramos de muestra y se colocaron en una estufa a  $105 \pm 1^\circ\text{C}$  por 12 h. Se empleó una estufa con circulación de aire (Felisa, modelo FE-2434).

#### 5.2.9 Vida de anaquel de tortilla

##### 5.2.9.1 Producción de tortillas

Se procedió de la misma manera a lo establecido en el apartado -5.2.8.1 Producción de tortillas-. Se produjo un lote de tortillas a partir de HMN-CO sin conservadores (control), además de un lote por cada uno de los tratamientos de HMN-CO establecidos en la Tabla 5.

Las cuatro mezclas de conservadores fueron disueltas en el agua de hidratación de las HMN-CO, el agua fue distribuida de forma homogénea, se agregó más agua para formar una masa con la consistencia adecuada para ser troquelada en la tortilladora, se agregó la misma cantidad de agua para cada uno de los tratamientos y el control.

Se elaboraron 24 tortillas para cada uno de los tratamientos descritos en el diseño experimental. Las tortillas se mantuvieron en reposo hasta que alcanzaron la temperatura ambiente ( $25\text{-}30^\circ\text{C}$ ). Las tortillas fueron almacenadas en bolsas de polietileno (Ziploc<sup>®</sup>),

para cada uno de los días de análisis (D0, D3 y D6). Dos paquetes de 3 tortillas fueron almacenados por cada tratamiento para cada uno de los días de análisis, un paquete fue destinado para el análisis fisicoquímico y otro para el análisis microbiológico.

#### 5.2.9.2 Análisis fisicoquímico

Se midió el pH (potenciómetro Hanna Instruments, modelo HI 2221) a los 4 tratamientos de tortillas recién cocidas. Se empleó el método 02-52 de la AACC (2000). Se empleó una suspensión de 10 g de tortilla (base seca) en 90 ml de agua destilada, recién hervida y fría. La muestra fue agitada durante 10 min con un agitador magnético a alta velocidad. Continuando con la agitación se introdujo el potenciómetro y se tomó la lectura. El análisis se realizó por triplicado, se reportó el promedio y la desviación estándar.

#### 5.2.9.3 Análisis microbiológico

Este análisis se determinó a los 0, 3 y 6 días de almacenamiento para cada uno de los tratamientos. Además, también se analizó la HMN-CO empleada en la producción de tortillas. El análisis se realizó por triplicado, se reportó el promedio y la desviación estándar, las unidades empleadas fueron Log UFC/g.

##### 5.2.9.3.1 Preparación de las muestras

Se pesaron asépticamente 10 g de muestra, se colocó en una bolsa de plástico estéril, se adicionaron 90 ml de diluyente de peptona estéril y se homogenizó en Stomacher® durante 1 min, esta se considera la primera dilución, posteriormente, se prepararon las diluciones decimales necesarias para realizar el análisis del contenido de BMA y HL (NOM-110-SSA1-1994).

##### 5.2.9.3.2 Cuantificación de hongos y levaduras

El análisis se realizó por el método de vaciado en placa en agar papa dextrosa, suplementado con ácido tartárico al 10% (14 ml/l de agar). Las placas se incubaron a 22 °C por 5 días (NOM-111-SSA1-1994).

##### 5.2.9.3.3 Cuantificación de bacterias mesófilas aerobias

El análisis se realizó por el método vaciado en placa en agar cuenta estándar; las placas se incubaron a 35 °C por 48 h (NOM-092-SSA1-1994).

#### 5.2.9.3.4 Determinación de la vida de anaquel

El momento en que apareció el hongo visible en cada uno de los tratamientos de tortillas almacenadas (22 °C), fue establecido como el tiempo de falla (días de almacenamiento). La vida de anaquel de cada tratamiento se calculó restándole un día al tiempo de falla, ello por cuestiones de inocuidad. Se dio un seguimiento del contenido de HL y BMA, para monitorear la carga microbiana presente en el tiempo de falla (Martínez-Flores *et al.*, 2004).

#### 5.2.9.3.5 Análisis confirmatorio del análisis microbiológico

Con finalidad de confirmar los resultados obtenidos en el diseño de experimental propuesto, se desarrolló el análisis del contenido microbiológico de tortillas elaboradas con HMN-CO formulada con la mezcla de conservadores que mejor eficiencia tuvo en la inhibición del crecimiento de HL y BMA. Adicionalmente, se evaluó el efecto de dicha mezcla en tortilla obtenida mediante HMN-PTN. También se evaluaron tortillas producidas con HMN-PTN sin la adición de conservadores (control).

Para la preparación de las muestras de tortillas se procedió de igual manera a lo establecido en el apartado -5.2.9.1 Producción de tortillas-. Se realizó el análisis del contenido de HL y BMA en los 3 tratamientos de tortillas a los 0, 3 y 6 días de almacenamiento (22 °C), además también se desarrolló el análisis en el día en que se observó el hongo visible en la superficie de la tortilla. El análisis se realizó por triplicado, se reportó el promedio y la desviación estándar, las unidades empleadas fueron Log UFC/g. Se determinó la vida de anaquel de cada uno de los tratamientos según los criterios establecidos en el apartado -5.2.9.3.4 Determinación de la vida de anaquel-.

Se midió el pH a los 3 tratamientos de tortillas recién cocidas, para ello se procedió según lo establecido en el apartado -5.2.9.2 Análisis fisicoquímico-. El análisis se desarrolló por triplicado, se reportó el promedio y la desviación estándar.

#### 5.2.10 Diseño y análisis estadístico

Los resultados de los parámetros medidos en la caracterización fisicoquímica de ambos tipos de HMN (HMN-CO y HMN-PTN) y las tortillas obtenidas a partir de las mismas, se compararon mediante la prueba de Dunnett ( $p \leq 0.05$ ), tomando como control



HMN-PTN. Se efectuó un ANOVA ( $p \leq 0.05$ ) en el diseño experimental propuesto (Tabla 4), se utilizó la variable dependiente: contenido de HL (Log UFC/g). Se elaboró un ANOVA para cada día de análisis. Se realizó un ANOVA de un factor para cada día de análisis del contenido de BMA, se consideró como factor el tipo de mezcla empleado.

Tanto para HL y BMA se efectuó una comparación de medias mediante la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ), además también se efectuó una prueba de Dunnett ( $p \leq 0.05$ ), tomando como tratamiento control el HMN-CO sin la adición de conservadores. Se emplearon los paquetes estadísticos R (Versión 3.4.1) y Minitab® (Versión 17.1.0.0).

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIONES

6.1 Caracterización de la distribución del tamaño de partícula del maíz empleado para la producción de HMN-CO.

En la Figura 8 se observa la DTP del maíz empleado para la producción de HMN-CO, se muestra el porcentaje promedio retenido en cada una de las mallas. Durante el presente trabajo el molino Nixtamatic® siempre se ajustó a las mismas condiciones.

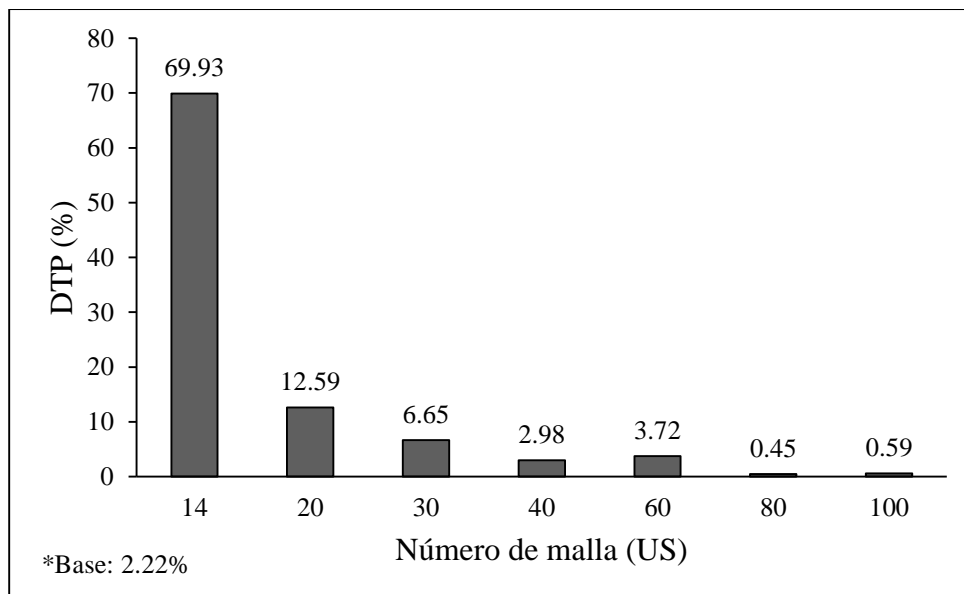


Figura 8. Distribución de tamaño de partícula de maíz molido mediante molino Nixtamatic.

La DTP del maíz es un factor muy importante en las propiedades fisicoquímicas de los productos alimenticios obtenidos, está relacionada directamente con el grado de daño sufrido por el almidón durante la molienda previa al proceso de CO, por ello es importante el tipo de molino que se emplea. En el proceso de molienda el maíz es sometido a daño mecánico alterando la estructura del almidón; dichos cambios en la estructura aumentan cuando la molienda da origen a partículas finas y el daño aumenta aún más cuando el maíz molido es sometido a altas temperaturas y al campo eléctrico presentes durante el CO, aumentando el grado de gelatinización del almidón. En el análisis se puede observar que el 3.3% del maíz molido es retenido en las mallas menores a 250  $\mu\text{m}$  (malla No. 60), mientras que la gran parte de la muestra es retenida en la malla 14 (69.93%), lo que indica que este tipo de molienda representa un bajo daño mecánico para el almidón del maíz. La presencia

de partículas grandes garantiza la existencia de partes del endospermo con gránulos de almidón sin daño mecánico (Rangel, 2017).

La presencia de partículas pequeñas permite obtener HMN con mejores propiedades de absorción de agua y viscosidad. El uso de dicha HMN permite obtener una masa con una mejor cohesividad y adhesividad, logrando obtener tortilla u otros productos nixtamalizados con una textura deseable. Las partículas grandes tienen una menor superficie de contacto entre ellas y con los electrodos de la celda de calentamiento, por lo que alcanzan una menor temperatura y con ello una cocción ineficiente, un fenómeno contrario ocurre en las partículas pequeñas (Carvalho *et al.*, 2010; Ménera-López *et al.*, 2013).

## 6.2 Optimización de la alimentación del maíz durante el calentamiento óhmico

Las condiciones de operación fueron: una velocidad de 5 rpm, temperatura de 85 °C y voltaje de 120 V. En la medición del rendimiento de 5 muestras de 5 diferentes lotes de producción se obtuvieron los resultados mostrados en la Tabla 6.

En el ANOVA efectuado no existió diferencia significativa en el rendimiento entre los lotes de producción ( $p= 0.347$ ), dicho comportamiento se observa en la Figura 9, donde se puede apreciar que los intervalos de los 5 lotes traslapan entre sí.

Tabla 6. Rendimiento de 5 lotes de producción de HMM-CO.

Lote de producción	Rendimiento (g de masa/min)
1	40.49 ± 0.48
2	40.57 ± 0.67
3	40.2 ± 0.81
4	40.18 ± 0.51
5	40.93 ± 0.64

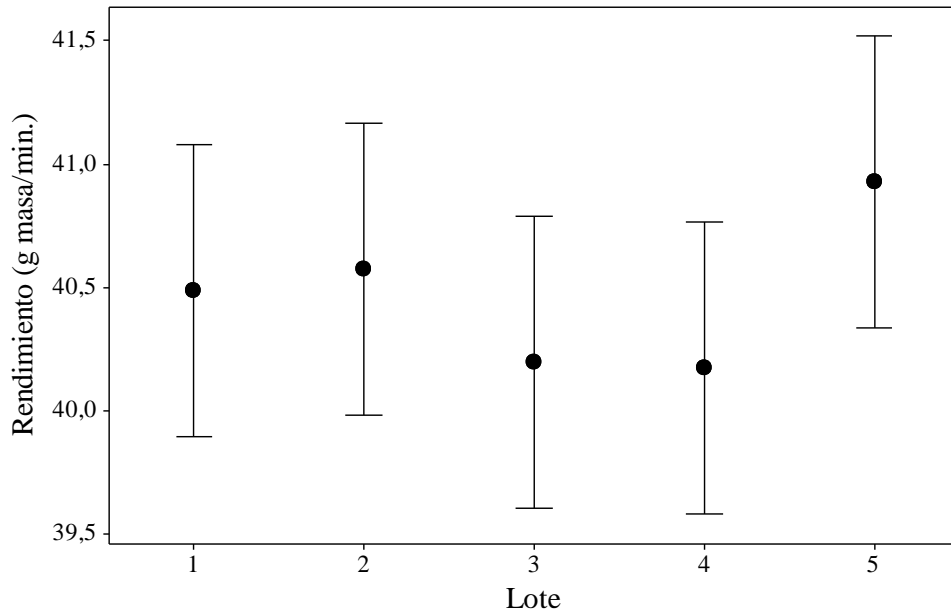
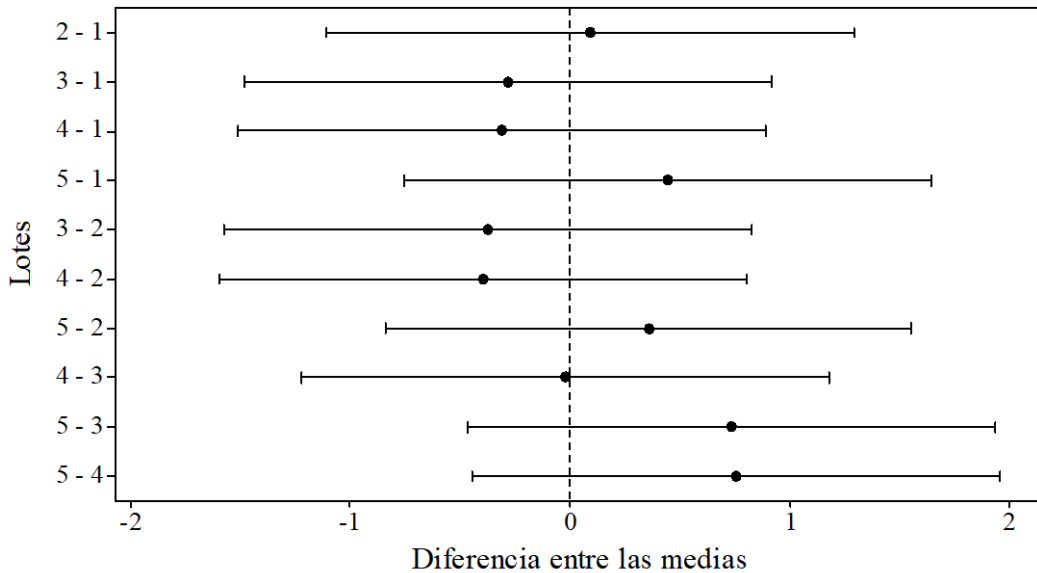


Figura 9. Intervalos del rendimiento de 5 lotes de producción de HMN-CO.

En la prueba de comparación de medias de Tukey no se observa diferencia significativa entre las medias de los 5 lotes de producción ( $p \leq 0.05$ ) (Figura 10).



Si un intervalo no contiene al cero, las medias correspondientes son significativamente diferentes.

Figura 10. Comparación de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) del rendimiento de 5 lotes de producción de HMN-CO.

Con base en los resultados obtenidos, se estableció que el rendimiento de la producción de la masa durante CO es homogéneo. Ello es importante debido a que el tiempo de retención de la mezcla de maíz-agua-hidróxido de calcio en el calentador óhmico, repercute sobre el grado de cocción de la masa obtenida, un menor rendimiento significa que

la mezcla tuvo un tiempo mayor de permanencia en la celda, por lo que la mezcla está sometida por mayor tiempo a las altas temperaturas y al campo eléctrico, lo que conllevan a un mayor grado de cocción que repercute en daños en los componentes del maíz, principalmente en una sobre-gelatinización del almidón. Estos daños dan origen a propiedades fisicoquímicas indeseables en los alimentos nixtamalizados obtenidos a partir de dicho proceso. Por otro lado, debido a la sobre-gelatinización del almidón se altera la viscosidad de la HMN obtenida y también afecta los valores de los parámetros de IAA, ISA y CAAS; los productos obtenidos presentan una pérdida de nutrientes y cambios indeseables en sus propiedades sensoriales, principalmente en textura, sabor y color, con respecto al último atributo, los productos presentan un oscurecimiento no enzimático (Ménera-López *et al.*, 2013; Rangel, 2017).

Debido a que el mecanismo de inactivación de microorganismos en CO es por un lado de naturaleza térmica y por otro eléctrica, el control del tiempo de residencia y la temperatura alcanzada son parámetros importantes para lograr una eficiente inactivación de los microorganismos durante el CO (Lascorz *et al.*, 2016; Cappato *et al.*, 2017; Hradecky *et al.*, 2017).

### 6.3 Evaluación de la aceptabilidad sensorial de tortilla obtenida mediante HMN-CO

Los resultados de la prueba de Kruskal Wallis se muestran en la Tabla 7. Esta prueba permite establecer diferencia entre las medianas de dos o más poblaciones. La hipótesis nula ( $H_0$ ) de este estadístico de prueba es: las medianas de las poblaciones son iguales; mientras que la hipótesis alternativa ( $H_1$ ) es: las medianas de las poblaciones no son todas iguales.

No hubo diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre las tortillas obtenidas empleando HMN-CO y HMN-PTN en color, rolabilidad, textura, aceptabilidad general y sabor, mientras que con HMN-C la hubo en olor y sabor. El tratamiento HMN-CO fue bien evaluado en todos los atributos y en algunos de ellos incluso fue mejor que los controles (sabor). Cabe mencionar que las tortillas obtenidas mediante HMN-C fueron mejor evaluadas en rolabilidad, debido a que contiene gomas que permiten que el producto tenga una mejor suavidad y se pueda enrollar con mayor facilidad, por otro lado, este tratamiento fue el peor evaluado en “olor”, ello se debe a que la marca de HMN empleada contiene múltiples aditivos

en su formulación, lo que le confiere sabores desagradables para el consumidor, debido a las altas concentraciones de aditivos empleadas (Tabla 7). Flores-Farías *et al.* (2002) caracterizaron tres tipos de HMN-C distribuidas en México, establecieron que la marca empleada en el presente estudio contenía diversos aditivos, entre ellos ácido propiónico (0.17%), sorbato de potasio (0.40%), goma guar (0.38%) y el emulsificante estearil-lactato. La incorporación de esta gama de aditivos es con la finalidad de blanquear, retener humedad, dar flexibilidad y mayor vida de anaquel a la tortilla. El uso de altas concentraciones de los diferentes aditivos repercute en la textura, olor, sabor y color de la tortilla (Vázquez-Carrillo *et al.*, 2015).

La concentración de hidróxido de calcio durante el proceso de elaboración de la HMN es un factor muy importante en las características sensoriales de la tortilla obtenida. Le confiere el sabor astringente, aroma a maíz nixtamalizado, color, capacidad para retener el agua, flexibilidad, textura y frescura. Cabe mencionar que mientras en el PTN se agregó el 1% de hidróxido de calcio en el CO solo se agregó 0.3%, la cantidad necesaria para que cumpla su función en el proceso de acuerdo a las condiciones propias del mismo (Vázquez-Carrillo *et al.*, 2015).

Tabla 7. Prueba de Kruskal Wallis para la aceptabilidad sensorial de tortillas obtenidas mediante diferentes tipos de HMN.

Tortilla	Valores de las medianas					
	Color	Olor	Textura	Sabor	Rolabilidad	Aceptabilidad
HMN-C	7.0 <sup>A</sup>	6.0 <sup>B</sup>	6.0 <sup>A</sup>	6.0 <sup>B</sup>	8.0 <sup>A</sup>	7.0 <sup>A</sup>
HMN-CO	7.0 <sup>A</sup>	7.0 <sup>A</sup>	7.0 <sup>A</sup>	7.0 <sup>A</sup>	7.0 <sup>A</sup>	7.0 <sup>A</sup>
HMN-PTN	6.0 <sup>B</sup>	7.0 <sup>A</sup>	5.0 <sup>B</sup>	6.0 <sup>B</sup>	5.0 <sup>B</sup>	6.0 <sup>B</sup>

\*Diferentes letras indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ).

HMN-C: harina de maíz nixtamalizada comercial; HMN-CO: harina de maíz nixtamalizada producida mediante calentamiento óhmico; HMN-PTN: harina de maíz nixtamalizada producida mediante el proceso tradicional.

#### 6.4 Evaluación de la aceptabilidad sensorial de tortilla obtenida mediante la formulación de HMN-CO con diferentes mezclas de conservadores.

Al analizar los datos mediante la prueba de Kruskal Wallis ( $p \leq 0.05$ ) se estableció que no existe diferencia significativa entre los 4 tratamientos de tortillas evaluados para los atributos de olor ( $p = 0.460$ ) y sabor ( $p = 0.514$ ) (Tabla 8). Se esperaba que M3 y M4 al tener

alta concentración de propionato de calcio (0.30%) fueran evaluadas con calificaciones bajas por los consumidores para ambos atributos; sin embargo, no fue así, por lo contrario el atributo de sabor en estos tratamientos fue mejor evaluado, en comparación con M1 y M2, no obstante, esta diferencia no fue significativa en el estadístico de prueba.

Tabla 8. Prueba de Kruskal Wallis para la evaluación del olor y sabor de tortilla, obtenida mediante la formulación de HMN-CO con diferentes mezclas de conservadores.

Mezcla	Formulación** (P/P HMN)	Valores de las medianas*	
		Olor	Sabor
Mezcla 1	0.20% propionato de sodio + 0.125% sorbato de potasio	7.0 <sup>A</sup>	6.0 <sup>A</sup>
Mezcla 2	0.20% propionato de sodio + 0.175% sorbato de potasio	7.0 <sup>A</sup>	6.5 <sup>A</sup>
Mezcla 3	0.30% propionato de sodio + 0.125% sorbato de potasio	7.0 <sup>A</sup>	7.0 <sup>A</sup>
Mezcla 4	0.30% propionato de sodio + 0.175% sorbato de potasio	7.0 <sup>A</sup>	7.0 <sup>A</sup>

\*Diferentes letras indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ )

\*\*El ácido fumárico se mantuvo constante en 0.10% (P/P HMN) para todas las mezclas.

Al no existir diferencia significativa entre los diferentes tratamientos, se tuvo la opción de emplear las cuatro mezclas de conservadores en la formulación de las tortillas para poder extender la vida de anaquel del producto. Se observó un alto nivel de aceptación de los diferentes tratamientos, tanto para olor como sabor, ello es debido a que se emplearon rangos de concentraciones recomendadas para cada uno de los conservadores presentes en las mezclas, siguiendo las buenas prácticas de manufactura y cumpliendo con lo establecido en la NOM-187-SSA1/SCFI-2000.

La reducción del pH mediante la adición de ácidos orgánicos es una herramienta para prevenir el crecimiento de microorganismos en los alimentos, además los conservadores son más efectivos a un bajo pH. El ácido fumárico realiza las funciones mencionadas anteriormente cuando es adicionado en la HMN para tortilla. Es recomendable el cumplimiento de las buenas prácticas de manufactura durante la preparación de las tortillas para evitar adicionar altas concentraciones del conservador, ya que puede afectar la aceptación sensorial del producto, debido a que el ácido fumárico confiere un sabor muy amargo y deja un resabio en el paladar del consumidor. Además, si el valor de pH es muy bajo, la apariencia de la

tortilla es afectada, principalmente por presentar una coloración muy clara y afectar su fácil dorado. Es por ello que en este estudio el ácido fumárico se agregó en una baja concentración en las cuatro mezclas de conservadores estudiadas. La NOM-187-SSA1/SCFI-2000 no establece un límite para el ácido fumárico y el propionato de calcio, solo hace mención a que se deben seguir buenas prácticas de manufactura (Tabla 3) (Ordaz-Ortíz y Vázquez-Carrillo, 1997; Flores-Farías *et al.*, 2002; Martínez-Flores *et al.*, 2004).

### 6.5 Caracterización fisicoquímica de HMN-CO y HMN-PTN

Se observó diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) en la prueba de Dunnett, para cada uno de los parámetros fisicoquímicos evaluados en HMN-PTN y HMN-CO, tomando como control HMN-PTN (Tabla 9).

Tabla 9. Caracterización fisicoquímica de HMN-PTN y HMN-CO, establecimiento de diferencia significativa de las medias mediante la prueba de Dunnett ( $p \leq 0.05$ ).

Parámetro	HMN-PTN	HMN-CO	p (DUNNETT)
DTP*	76.23 ± 0.30	75.73 ± 0.25	0.094
pH	8.85 ± 0.02	7.82 ± 0.03	0.000
% humedad	10.41 ± 0.009	10.14 ± 0.01	0.000
ISA (%)	4.36 ± 0.11	6.27 ± 0.13	0.000
IAA (g de gel/g HMN)	3.69 ± 0.01	3.82 ± 0.01	0.009
CAAS (L agua/kg HMN)	1.11 ± 0.01	1.20 ± 0.01	0.000
Viscosidad Final	3480.5 ± 55.9	1859.0 ± 31.1	0.001
Máxima Viscosidad	1996.0 ± 28.3	995.5 ± 16.3	0.001

\*Porcentaje de muestra que pasó malla N° 60 US.

DTP: distribución del tamaño de partícula; ISA: índice de solubilidad de agua; IAA: índice de absorción de agua; CAAS: capacidad de absorción de agua subjetiva; HMN-PTN: harina de maíz nixtamalizada producida mediante el proceso tradicional; HMN-CO: harina de maíz nixtamalizada producida mediante calentamiento óhmico.

#### 6.5.1 Distribución de tamaño de partícula de HMN-CO y HMN-PTN

La DTP es uno de los parámetros más empleados para clasificar las harinas y establecer su funcionalidad (Gaytán-Martínez *et al.*, 2012). La NMX-F-046-S-1980 establece que el 75% de la muestra debe pasar en un tamiz de 0.250 mm de abertura de malla (tamiz 60 US). Ambos tipos de HMN evaluadas lograron cumplir con la especificación establecida.



Las HMN que presentan un alto porcentaje de partículas finas permiten obtener masas con mayor flexibilidad y cohesividad, además de tortillas suaves con una buena flexibilidad (Sahai *et al.*, 2001; Bedolla y Rooney, 1984).

Según la prueba de Dunnett no hubo diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre el porcentaje de muestra que paso la malla N° 60 (US) para ambos tipos de HMN (Tabla 9). Dicho fenómeno se debe a que se empleó el mismo tipo de malla (0.5 mm de apertura) y velocidad de alimentación en la molienda de ambas HMN (molino Pulvex).

#### 6.5.2 Índice de absorción de agua e índice de solubilidad de agua

IAA refleja la capacidad de la HMN para absorber agua, es un indicador de sus propiedades funcionales, de su rendimiento y de su capacidad para formar geles. IAA también puede ser empleado como una medida de la cantidad de gránulos de almidón gelatinizados completamente o intactos, además como hito de la estabilidad que muestran sus polímeros (amilosa y amilopectina) contra el agua, es el parámetro fisicoquímico más importante de HMN, ya que repercute directamente sobre la calidad de textura de la tortilla obtenida, obteniéndose tortillas con una buena flexibilidad. Sin embargo, una HMN con valores muy altos de IAA tiene alta capacidad para absorber agua y tendencia a humedecerse fácilmente, lo cual es indeseable (Sarifudin y Assiry, 2014; Rani *et al.*, 2018).

En México los valores reportados para IAA en HC se encuentra en el rango de 2.1 a 3.7 g gel/g HMN (Flores-Farías *et al.*, 2002). Milán-Carrillo *et al.* (2004) reportó valores de IAA para HMN-PTN entre 2.52 y 2.87 g gel/g HMN para obtener masa moldeable y troquelable. El valor de IAA fue mayor en HMN-CO que en HMN-PTN (Tabla 9). Ello coincide con lo reportado por Ménera-López *et al.* (2013), su estudio proporcionó valores entre 2.48 y 3.15 g gel/g HMN en HMN-CO, mientras que en HMN-PTN fue de 2.23 g gel/g HMN. El valor de IAA depende de varios factores, tales como: el potencial eléctrico del almidón, su interacción con las moléculas de agua y la cantidad de agua presente. La presencia de altos valores de IAA en HMN-CO es debido al efecto de la electroporación, fenómeno presente en CO y que afecta a la parte superficial de los gránulos de almidón, dicho fenómeno permite tener una mejor interacción entre el almidón y el agua (Ménera-López *et al.*, 2013; Cho *et al.*, 2016; Kanjanapongkul, 2017; Rani *et al.*, 2018).

El ISA refleja la cantidad de sólidos disueltos por el agua mientras la HMN es saturada por un exceso de la misma, describe su grado de cocción y la cantidad de almidón dañado presente. Es un indicador de la buena digestibilidad del almidón, ya que implica el grado de gelatinización y dextrinización, es decir es una medida del grado de conversión del almidón durante el tratamiento térmico, lo cual corresponde a la cantidad de polisacáridos solubles liberados del granulo de almidón. La dextrinización aumenta si el almidón es sometido a un alto cizallamiento y altas temperaturas por un largo periodo de tiempo, como en la nixtamalización por extrusión. Elevados valores de ISA indican una alta solubilidad y un producto pegajoso. ISA se ve afectado por la temperatura del proceso y el tipo de molienda al que se somete el producto (Contreras-Jiménez *et al.*, 2014; Pardhi *et al.*, 2016; Bravo-Núñez y Gómez, 2018; Felker *et al.*, 2018).

El valor de ISA en HMN-CO fue mayor que en HMN-PTN (Tabla 9), dicho comportamiento coincide con lo reportado por Gaytán-Martínez *et al.* (2012) y Ménera-López *et al.* (2013). Ménera-López *et al.* (2013) reportaron valores para HMN-CO entre 9.43 y 11.55% y para HMN-PN de 5.96%, este comportamiento es debido a que el daño causado durante CO es menor al daño causado durante el PTN. El valor de ISA de HMN-CO no es afectada por la velocidad del tornillo, en cambio la temperatura y la humedad del maíz molido si la afectan, cuando HMN-CO se procesa a altas temperaturas se obtienen valores altos de ISA independientemente de la humedad de alimentación y la velocidad del tornillo. En el PTN el daño al almidón es provocado por la fricción presente durante la molienda en el molino de piedras, por otro lado, en el CO el daño es provocado por el campo eléctrico presente y las altas temperaturas alcanzadas, dichos fenómenos rompen los gránulos de almidón, así las grandes cadenas de almidón son fragmentadas en pequeñas cadenas de dextrinas, estas últimas tienen una mayor solubilidad que las primeras. En el rango de tiempo que se presenta la gelatinización del almidón en la celda del calentador óhmico la conductividad eléctrica de la mezcla maíz-agua-hidróxido de calcio disminuye, ello es debido a que los gránulos de almidón aumentan en tamaño, provocando una menor movilidad de las partículas y así la resistencia al paso de la corriente incrementa, dichos fenómenos provocan cambios en la estructura del almidón, afectando así los parámetros de ISA y VM.

### 6.5.3 Capacidad de absorción de agua subjetiva

La CAAS se define como la relación del peso de agua absorbida y el peso de la muestra de HMN empleada, indica la cantidad de agua que absorbe la HMN para producir una masa de consistencia aceptable para la producción de tortillas. Además, es un parámetro de interés económico, ya que un alto valor de CAAS representa un alto rendimiento de la HMN en su conversión a masa. El valor de CAAS se asocia con las propiedades de textura y maquinabilidad de la masa y tortilla. También se relaciona con el tamaño de partícula, el porcentaje de almidón dañado y el grado de gelatinización de la HMN (Platt-Lucero *et al.*, 2013; Contreras-Jiménez *et al.*, 2014; Rodríguez-Martínez *et al.*, 2015; Xie *et al.*, 2018).

El valor de CAAS fue mayor en HMN-CO que en HMN-PTN (Tabla 9), ello es debido a que en el CO el maíz es un proceso donde no se pierde el pericarpio, lo que repercute en que la HMN obtenida contenga una mayor cantidad de gomas que le permite retener una mayor cantidad de agua; mientras que en el PTN el pericarpio es eliminado durante el proceso; otro factor es que el daño al almidón en el CO es menor en comparación con el PTN (Gaytán-Martínez *et al.*, 2012; Ménera-López *et al.*, 2013). Las HMN-C presentan valores entre 1.21 y 1.36 l agua/kg HMN (Flores-Farías *et al.*, 2002). Estos valores son alcanzados debido a que las HMN-C son adicionadas de gomas para poder incrementar la retención de agua y con ello el rendimiento.

### 6.5.4 Perfil de viscosidad

El análisis del perfil de viscosidad es utilizado con el fin de evaluar diferentes parámetros relacionados con las propiedades de pastificado de la HMN. La VM representa el equilibrio entre el granulo de almidón hinchado y la lixiviación del almidón, indica la capacidad de retención de agua del almidón y está relacionada con los parámetros de calidad de la HMN, que se asocia directamente con las condiciones de procesamiento (temperatura, tamaño de partícula, humedad y trabajo mecánico). Una HMN que contenga un alto porcentaje de almidón con su estructura granular conservada presenta altos valores de VM (Wang *et al.*, 2018).

La VF es un parámetro comúnmente utilizado para evaluar las propiedades de pastificado de la HMN e indica su capacidad para formar una pasta viscosa o gel después de la cocción y posterior enfriado, además de su comportamiento durante el almacenamiento.

La HMN presenta una baja viscosidad cuando el almidón sufre un grado elevado de daño (Cozzolino, 2016).

La VM fue mayor en HMN-PTN que en HMN-CO (Tabla 9, Figura 11). Las HMN-PTN presentan VM entre 2000 y 4000 cP, su valor depende del tiempo de cocción, tiempo de reposo y concentración de hidróxido de calcio empleado. Este comportamiento también fue observado por Gaytán-Martínez *et al.* (2012) y Ménera-López *et al.* (2013), dicha diferencia de viscosidades se debe a que los dos procesos de cocción tienen diferente efecto sobre los gránulos de almidón. En el CO se presenta una resistencia eléctrica, debido al paso de corriente alterna a través del alimento, tanto la fase líquida como sólida del alimento son calentados simultáneamente, esto provoca alteraciones estructurales en el almidón, lo que provoca una disminución en la viscosidad. Por otro lado, en el PTN el calor es transferido de la fase líquida a la fase sólida, además la cocción se realiza sobre grano de maíz entero, reduciendo así el daño en la estructura del almidón, sin embargo, esta última sufre daño en el proceso debido a la fricción presente al momento de moler el nixtamal. La electroporación presente en el CO provoca que los gránulos de almidón sean más permeables al agua durante el calentamiento, obteniendo un producto con baja viscosidad. Sin embargo HMN-CO presenta menores valores de viscosidad final (VF) que HMN-PTN (Figura 11), por lo que tiene una mayor estabilidad a la cocción y enfriamiento, así que tiene una menor tendencia a la retrogradación y con ello obtener tortillas más suaves al recalentarlas (Gaytán-Martínez *et al.*, 2012; Ménera-López *et al.*, 2013).

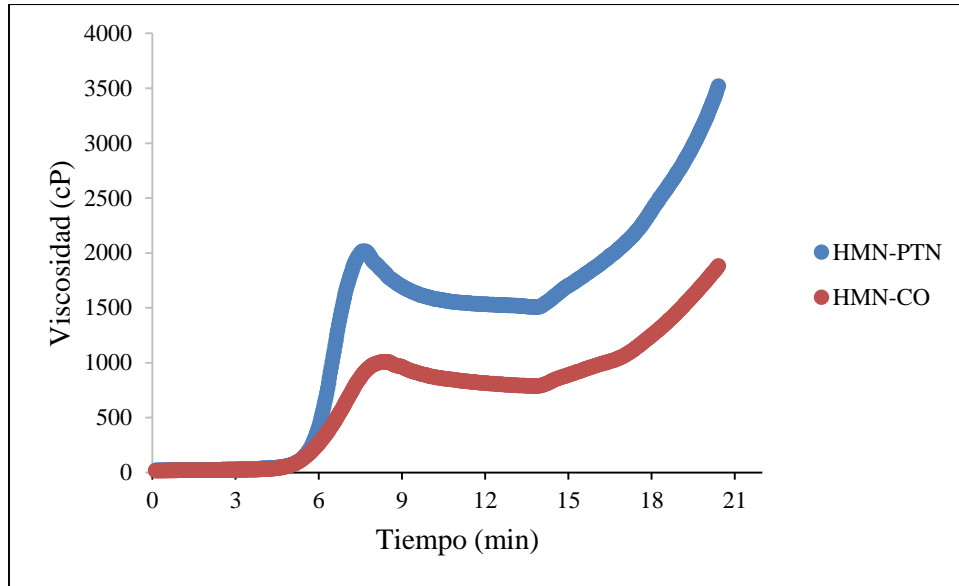


Figura 11. Viscoamilograma de HMN-CO y HMN-PTN.

#### 6.5.5 pH

El pH afecta la disposición de un microorganismo para sobrevivir o multiplicarse en el producto alimenticio. Además, el pH también puede afectar las propiedades sensoriales de la tortilla elaborados a partir de la HMN, principalmente el olor, sabor y color. El valor de pH de las HMN oscilo entre 7 y 8, fue menor en HMN-CO que en HMN-PTN (Tabla 9). Ello se debe principalmente a que en el CO es adicionada una menor cantidad de hidróxido de calcio, lo que provoca que el producto final tenga un menor pH. Este comportamiento del pH en es un factor importante, ya que con la adición del ácido fumárico a HMN-CO para producir tortillas, el valor de pH reduce aún más, acercándose al pH óptimo de eficiencia del propionato de calcio y sorbato de potasio (Martínez-Flores *et al.*, 2004; Ménera-López *et al.*, 2013).

Ramírez-Jiménez *et al.* (2019) no encontraron diferencia significativa en el contenido de cenizas entre HMN-CO y HMN-PTN. En PTN la mayor absorción de calcio se efectúa en las etapas de cocción y de reposo, mientras que en el CO ocurre en la etapa de acondicionamiento posterior a la etapa de cocción, por ello en CO solo se adiciona la cantidad necesaria de hidróxido de calcio (0.3 g por kg de maíz). Este hecho es importante ya que, aunque en el CO se agrega una menor cantidad de hidróxido de calcio que en el PTN, el contenido de calcio en el producto final no tiene diferencia significativa, manteniéndose así una calidad nutricional aceptable en HMN-CO.

### 6.5.6 Humedad

El contenido de humedad de ambas HMN presentó valores dentro de las especificaciones establecidas por las normas NOM-187-SSA1/SCFI-2000 ( $\leq 15.0\%$ ) y NMX-F-046-S-1980 ( $\leq 11.0\%$ ). La vida de anaquel del producto depende directamente de la humedad presente en el mismo, es un parámetro muy importante ya que le confiere a la HMN estabilidad ante el desarrollo microbiano, y posibles cambios fisicoquímicos que alteran su calidad, principalmente la retrogradación. La humedad fue menor en HMN-CO que en HMN-PTN (Tabla 9). Cabe mencionar que ambos tipos de HMN fueron secadas en las mismas condiciones (Secador Flash, Tecnología CINVESTAV) (Weber, 2008).

## 6.6 Caracterización fisicoquímica tortillas producidas mediante HMN-CO y HMN-PTN

### 6.6.1 Inflado de tortilla

El inflado de la tortilla durante su cocción es una característica muy apreciada por los consumidores, y es considerado uno de los parámetros más importantes en la calidad del producto. Es un indicador de la correcta cocción del producto, la formación de la ampolla en la capa delgada de la tortilla se da debido a la evaporación del agua absorbida durante el amasado. El correcto inflado repercute directamente sobre las características de textura de la tortilla, facilita su enrollamiento, además de permitirle conservar esas características aún después del recalentado (Jiménez-Pérez *et al.*, 2015; Ramírez-Moreno *et al.*, 2015; Treviño-Mejía *et al.*, 2016).

Tabla 10. Prueba de Kruskal Wallis para inflado de tortilla y rolabilidad en tortillas elaboradas a partir de HMN-CO y HMN-PTN.

Tortilla	Medianas*	
	Inflado de tortilla	Rolabilidad
HMN-CO	1.00 <sup>A</sup>	1.00 <sup>A</sup>
HMN-PTN	1.00 <sup>A</sup>	2.00 <sup>A</sup>

\*Diferentes letras indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ).

HMN-CO: harina de maíz nixtamalizada producida mediante calentamiento óhmico; HMN-PTN: harina de maíz nixtamalizada producida mediante el proceso tradicional.

Ambos tratamientos de tortillas no mostraron diferencia significativa en sus medianas ( $p = 0.513$ ) para el parámetro de inflado de tortilla (Tabla 10). Se empleó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para comparar los parámetros de inflado de tortillas y

rolabilidad, ello es debido a que, al ser pruebas subjetivas basadas en escalas, los valores obtenidos son de carácter categórico.

#### 6.6.2 Rolabilidad

La prueba subjetiva de rolabilidad a menudo es utilizada para determinar los cambios de textura en la tortilla durante el almacenamiento; este es un método simple, que simula la capacidad de la tortilla para ser enrollada en forma de taco sin llegar a romperse (Santana-Gálvez *et al.*, 2016).

Ambas HMN permitieron obtener tortillas con rolabilidad aceptable, no se rompieron en grado alguno después de su cocción. La humedad de las tortillas es un parámetro altamente relacionado con la rolabilidad, tortillas con humedad por encima del 35% suelen presentar una rolabilidad aceptable.

Mediante el uso HMN-CO las tortillas resultaron ser más suaves, en el triplicado se registraron solo valores de “1” (sin signos de agrietamiento), mientras que las tortillas elaboradas con HMN-PTN fueron evaluadas una vez con el “1” y dos veces con “2” (solo agrietamiento del borde); sin embargo, no se registró diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) para las medianas de ambos tratamientos en la prueba de Kruskal Wallis (Tabla 10).

El hecho de que las tortillas HMN-CO hayan sido más fácilmente enrollables se debe a que durante el CO, a diferencia del PTN, se procesa maíz integral, conservando el pericarpio, el cual tiene carbohidratos que funcionan como gomas, las cuales permiten que la HMN-CO tenga una mayor capacidad de absorción de agua, ello se relaciona directamente a los altos valores de los parámetros de ISA, IAA y CAAS registrados en HMN-CO (Gaytán-Martínez *et al.*, 2012; Ménera-López *et al.*, 2013).

#### 6.6.3 Pérdida de peso en tortillas

Desde el punto vista comercial, la PPT es un parámetro fundamental, ya que está relacionado con el rendimiento, además de que es un indicador de la capacidad del alimento de retener agua. Si el valor de PPT es reducida, menos del 20%, las tortillas obtenidas tendrán una buena textura (Méndez-Albores *et al.*, 2012).

Se encontró diferencia significativa en PPT entre tortillas obtenidas mediante HMN-CO y HMN-PTN, ello mediante la comparación de medias de Dunnett ( $p \leq 0.05$ )

(Tabla 11). Las tortillas HMN-CO presentan una menor PPT, ello es debido a que HMN-CO tienen una mejor absorción de agua, los valores de CAAS e IAA son evidencia de ello.

Tabla 11. Caracterización fisicoquímica de tortillas producidas a partir de HMN-PTN y HMN-CO, establecimiento de diferencia significativa de las medias mediante la prueba de Dunnett ( $p \leq 0.05$ ).

Parámetro	HMN-PTN	HMN-CO	p (DUNNETT)
PPT (kg tortilla/kg HMN)	19.70 ± 0.16	18.65 ± 0.21	0.002
RT (%)	1.70 ± 0.01	1.84 ± 0.02	0.001
FC (N)	9.43 ± 0.29	7.55 ± 0.29	0.001
FT (N)	1.64 ± 0.07	1.20 ± 0.04	0.001
Humedad (%)	46.77 ± 0.009	49.09 ± 0.01	0.000

PPT: pérdida de peso en tortilla; RT: rendimiento de tortilla; FC: fuerza al corte; FT: fuerza a la tensión; HMN-PTN: harina de maíz nixtamalizada producida mediante el proceso tradicional; HMN-CO: harina de maíz nixtamalizada producida mediante calentamiento óhmico.

Arámbula-Villa *et al.* (2001) reportaron que valores de PPT entre 16 y 20% reflejan tortillas con una textura adecuada, ambos tratamientos de tortillas estuvieron dentro de dicha especificación.

PPT está relacionado con la humedad de la masa y los tiempos y temperaturas de cocción. Existe una relación inversamente proporcional entre PPT y RT, altos valores de PPT dan origen a bajos valores de RT y viceversa. Este parámetro está ligado a la presencia de interacciones entre las macromoléculas de la masa que posibilitan la retención de agua, lo que conlleva a obtener tortillas con una adecuada textura, incluso después de recalentarse (Arámbula-Villa *et al.*, 2001; Gaytán-Martínez *et al.*, 2012; Treviño-Mejía *et al.*, 2016).

#### 6.6.4 Rendimiento de tortilla

El RT es un parámetro importante en la calidad de las tortillas, un alto valor de RT representa un importante beneficio económico para la industria de la masa y tortilla, en sus diferentes tamaños de negocio, desde tortillerías hasta empresas dedicadas a producir tortillas empacadas de larga vida de anaquel. El beneficio viene del hecho de que casi el 50% del peso de la tortilla es contribuido por agua.

Las tortillas obtenidas mediante HMN-CO presentan un mejor RT con respecto a aquellas obtenidas mediante HMN-PTN (Tabla 11). Existe diferencia significativa entre



ambos tratamientos en la prueba de Dunnett ( $p \leq 0.05$ ) tomando como control las tortillas HMN-CO. Un factor que explica dicho comportamiento es el hecho de que el RT se relaciona con CAAS, IAA e ISA de la HMN y con el PPT, HMN-CO presenta valores más altos para IAA y CAAS, por lo que tiene una mayor capacidad de retener el agua integrada durante el amasado.

La interacción de los componentes del HMN permite crear una malla heterogénea con capacidad para reducir la liberación de agua durante la cocción, de esta forma se logran obtener bajos valores de PPT y altos de RT (Gaytán-Martínez *et al.*, 2012).

#### 6.6.5 Determinación de textura de tortillas

Las características texturales de las tortillas están relacionadas con los parámetros de calidad de HMN y la masa, cuando se tienen altos valores de IAA, ISA y CAAS en HMN se obtiene masa moldeable y tortillas fácilmente enrollables y suaves (Jiménez-Pérez *et al.*, 2015).

Las tortillas obtenidas mediante HMN-CO resultaron tener una mejor textura, ya que tuvieron valores menores en los parámetros de FC y FT, se presentó diferencia significativa de ambos parámetros en la prueba de Dunnett ( $p \leq 0.05$ ), con respecto a las tortillas producidas con HMN-PTN (Tabla 11).

La FT es la fuerza necesaria para romper la tortilla mientras es jalada por una fuerza vertical, este parámetro simula la fuerza que realiza el consumidor al romperla con la mano. La distancia hasta la ruptura indica la extensibilidad de la tortilla. Mayores valores de fuerza y distancia corresponden a un producto resistente y con alta extensibilidad (Liu *et al.*, 2017; Arámbula-Villa *et al.*, 2018). La FC es la máxima fuerza requerida para penetrar completamente las tortillas e indica la firmeza de las mismas, simula la acción de los molares cuando el consumidor la mastica. La tortilla debe ser suave, sin embargo cuando tiene un valor de FC muy bajo esta se romperá fácilmente cuando sea llenada con un alimento en forma de taco (Liu *et al.*, 2016; Treviño-Mejía *et al.*, 2016). Figueroa-Cárdenas *et al.* (2001) reportó que tortillas con valores de FC entre 14.2 y 9.19 N muestran una aceptable textura y son fáciles de morder, solamente las tortillas HMN-CO se encuentran dentro de este rango.

Las tortillas elaboradas mediante HMN-CO mostraron una mejor textura debido a que al hecho de que en el CO se emplea maíz integral, conservando el pericarpio, esta estructura del grano contiene carbohidratos (hemicelulosa, celulosa y lignina) que permiten que la tortilla pueda absorber y retener adecuadamente el agua, mejorando así notoriamente su textura. FC y FT se relacionan con los valores de CAAS, ISA e IAA de la HMN, así como %H, rolabilidad y PPT en la tortilla (Gaytán-Martínez *et al.*, 2012; Ménera-López *et al.*, 2013).

#### 6.6.6 Determinación de humedad de tortillas

El contenido de humedad es un factor de vital importancia en la calidad de las tortillas, ya que un alto valor de este parámetro favorece el crecimiento microbiano. El contenido de humedad en las tortillas debe ser suficiente para permitirle ser flexible al recalentarse, tortillas con baja humedad tiene una mala textura, son rígidas y quebradizas. (Arámbula-Villa *et al.*, 2001; Gaytán-Martínez *et al.*, 2012; Vázquez-Carrillo *et al.*, 2015).

Arámbula-Villa *et al.* (2001) establecieron que tortillas con un contenido de humedad entre 42 y 44% presentan una textura aceptable, los valores encontrados en ambos tratamientos fueron mayores a dicha especificación, lo cual asegura una adecuada textura. La humedad de las tortillas HMN-CO resultó ser significativamente mayor que la obtenida por el control HMN-PTN en la prueba de Dunnett ( $p \leq 0.05$ ) (Tabla 11). Este comportamiento es debido a que en el CO el pericarpio se conserva, lo que permite que el hidróxido de calcio hidrolize la hemicelulosa presente en el mismo, liberando gomas solubles. Estas gomas están presentes en HMN-CO lo que permite tener una masa y tortilla con una mayor retención de agua y con ello una mejor textura. La humedad de las tortillas está relacionada directamente con los valores de IAA y CAAS de la HMN.

#### 6.7 Análisis microbiológico

Se realizó la cuantificación del contenido de BMA y HL en muestras de HMN-CO empleadas para la producción de tortillas, además en tortillas recién cocidas (D0) y a los 3 (D3) y 6 días (D6) de almacenamiento a una temperatura de 22 °C.

### 6.7.1 Contenido microbiológico en HMN-CO

Las poblaciones de BMA y HL en HMN-CO se muestran en la Tabla 12. Mediante la prueba de T Student se estableció que las medias de los contenidos de BMA y HL son significativamente menores ( $p \leq 0.05$ ) que los correspondientes valores establecidos por la NOM-247-SSA1-2008. Los resultados obtenidos son evidencia del seguimiento de buenas prácticas de manufactura durante la producción de HMN-CO, además de la eficiencia del CO para obtener un producto alimenticio con una baja carga microbiana.

Tabla 12. Contenido de BMA y HL en HMN-CO.

Indicador microbiológico	Contenido (Log UFC/g)		P <sub>value</sub> (T student)
	Contenido en HMN-CO	NOM-247-SSA1-2008	
BMA	3.62 ± 0.05	4.70	0,000*
HL	1.0 ± 0.00	3.0	0,000**

\*Hipótesis nula: 3.62 = 4.70; Hipótesis alternativa: 3.62 < 4.70.

\*\*Hipótesis nula: 1.00 = 3.0; Hipótesis alternativa: 1.00 < 3.0.

BMA: bacterias mesófilas aerobias; HL: hongos y levaduras; HMN-CO: harina de maíz nixtamalizada producida mediante calentamiento óhmico.

La temperatura de cocimiento en el CO fue de 85 °C, con ello se logró la muerte de gran parte de los microorganismos presentes en la mezcla de maíz-agua-hidróxido de calcio. El mecanismo que permite la inactivación microbiana en esta tecnología es de naturaleza térmica; sin embargo, estudios recientes han establecido que el calentamiento no térmico basado en el campo eléctrico provoca daño celular e inactivación microbiana. El campo eléctrico más el calor generado a temperaturas específicas permite una gran reducción de la carga de microorganismo, además de la inactivación de patógenos transmitidos por alimentos, tales como *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella* Typhimurium, *Listeria Monocytogenes* y *Bacillus cereus*. La aplicación del campo eléctrico causa que la membrana microbiana acumule cargas y forme poros, provocando finalmente la lisis celular. Este fenómeno es conocido como electroporación y favorece que disminuyan los valores D en microorganismos, ayudando a disminuir la carga microbiana y a asegurar la inocuidad del producto, además de retardar la descomposición del alimento, alargando con ello la vida de anaquel del mismo (Achir *et al.*, 2016; Mesías *et al.*, 2016; Ryang *et al.*, 2016; Khan *et al.*, 2017)

Algunas investigaciones han demostrado que mediante el CO los microorganismos pueden ser eliminados a una temperatura menor que la temperatura de muerte térmica, ello es debido al mecanismo de las altas frecuencias presente en este proceso térmico (Cho *et al.*, 2016; Gally *et al.*, 2017; Kim *et al.*, 2017; Tian *et al.*, 2018).

La etapa posterior a la cocción del maíz es el secado, dicho proceso es muy importante, ya que la reducción de la humedad permite que HMN-CO tenga una buena estabilidad ante el crecimiento microbiano. La cocción de las tortillas es otra etapa muy importante para poder obtener un producto con baja carga microbiana y un producto inocuo, reduciendo así el riesgo del consumidor de adquirir una enfermedad transmitida por alimentos (ETA). La sinergia de las 3 etapas mencionadas anteriormente (cocción de maíz, secado de HMN y cocción de tortillas) y el seguimiento de buenas prácticas de manufactura permite obtener tortillas con una vida de anaquel lo más larga posible (Fernández, 2008).

#### 6.7.2 Contenido microbiológicos en tortillas recién cocidas

En la Tabla 13 se observa el contenido de HL de los tratamientos de tortillas producidos mediante HMN-CO formulado con cuatro diferentes tipos de mezclas de conservadores. Cabe mencionar que el contenido de HL en los diferentes tratamientos fue bajo, debido probablemente a que el análisis se realizó inmediatamente después de efectuarse la cocción de la tortilla que alcanza 270 °C durante 84 s, tiempo y temperatura suficientes para reducir la carga microbiana. El ANOVA del contenido de HL en tortillas recién cocidas (D0), estableció que no existe diferencia significativa entre los dos conservadores empleados como factores ( $P_{\text{propionato de calcio}}=1.000$ ;  $P_{\text{sorbato de potasio}}=0.168$ ) sobre la variable de respuesta.

Se realizó prueba de comparación de medias de Tukey y no hubo diferencia significativa entre las cuatro mezclas de conservadores ( $p \leq 0.05$ ). No existió diferencia significativa entre las mezclas y el control en la prueba de Dunnett ( $p \leq 0.05$ ).

En la Figura 12 se observa que para ambos factores (propionato de calcio y sorbato de potasio) los intervalos de los niveles traslapan entre sí, por lo que se establece que no existe diferencia entre ellos. Esto es debido a que al ser tortillas recién elaboradas (cero días de almacenamiento) aún no se tiene desarrollo de microorganismos.

Tabla 13. Valores de pH y contenido de BMA y HL en tortillas recién elaboradas formuladas con cuatro mezclas de conservadores (cero días de almacenamiento).

Mezcla	Formulación* (P/P HMN)	pH	Contenido (Log UFC/g)	
			HL	BMA
Control	NA	7.83 ± 0.02	1.00 ± 0.00	1.36 ± 0.10
Mezcla 1	0.20% propionato de sodio + 0.125% sorbato de potasio	6.94 ± 0.03 <sup>A</sup>	1.00 ± 0.00 <sup>A</sup>	1.42 ± 0.10 <sup>A</sup>
Mezcla 2	0.20% propionato de sodio + 0.175% sorbato de potasio	6.91 ± 0.02 <sup>A</sup>	1.10 ± 0.17 <sup>A</sup>	1.40 ± 0.17 <sup>A</sup>
Mezcla 3	0.30% propionato de sodio + 0.125% sorbato de potasio	6.96 ± 0.02 <sup>A</sup>	1.00 ± 0.00 <sup>A</sup>	1.26 ± 0.24 <sup>A</sup>
Mezcla 4	0.30% propionato de sodio + 0.175% sorbato de potasio	6.98 ± 0.01 <sup>A</sup>	1.00 ± 0.00 <sup>A</sup>	1.10 ± 0.17 <sup>A</sup>

\*Todas las mezclas fueron adicionadas de 0.10% de ácido fumárico.

\*\*Prueba de Tukey: promedios que no comparten la misma letra son significativamente diferente ( $p \leq 0.05$ ).

BMA: bacterias mesófilas aerobias; HL: hongos y levaduras.

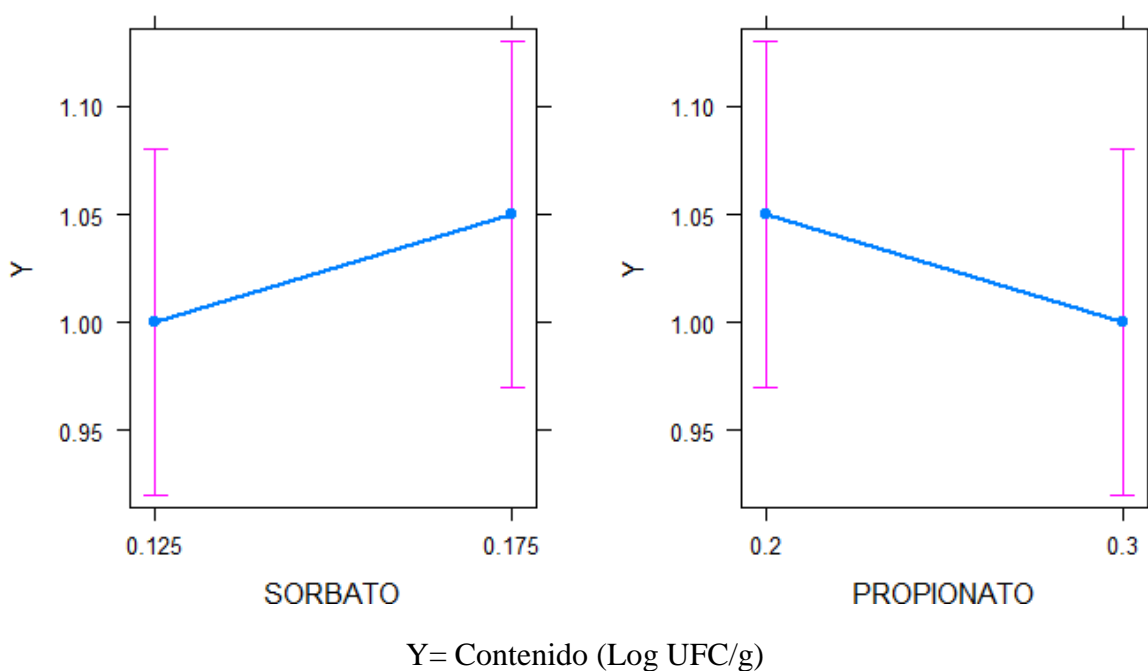


Figura 12. Gráfica de efectos de la adición a HMN-CO de dos conservadores a dos niveles de concentración sobre el crecimiento de HL en tortillas recién elaboradas (cero días de almacenamiento).

El contenido de BMA también fue bajo. Se realizó un ANOVA de un factor ( $p \leq 0.05$ ) considerando como factor el número de mezcla adicionada, no existió diferencia significativa entre las mezclas ( $p = 0.178$ ). En la Figura 13 se observa que los intervalos para

cada una de las cuatro mezclas traslapan entre sí. Se efectuó la prueba de comparación de medias de Tukey y no hubo diferencia significativa entre las mezclas de conservadores ( $p \leq 0.05$ ). También se realizó un análisis de comparación de medias de Dunnet ( $p \leq 0.05$ ), en esta prueba se comparó la media de cada mezcla con respecto a la media del grupo control, tampoco hubo diferencia significativa para las cuatro mezclas ( $p = 0.194$ ). La prueba de Dunnett permite crear intervalos de confianza para las diferencias entre la media de cada nivel de factor y la media de un grupo de control, en este caso el objetivo de usar esta prueba fue comparar el efecto de las diferentes mezclas de conservadores con respecto al control que no fue adicionado con conservadores.

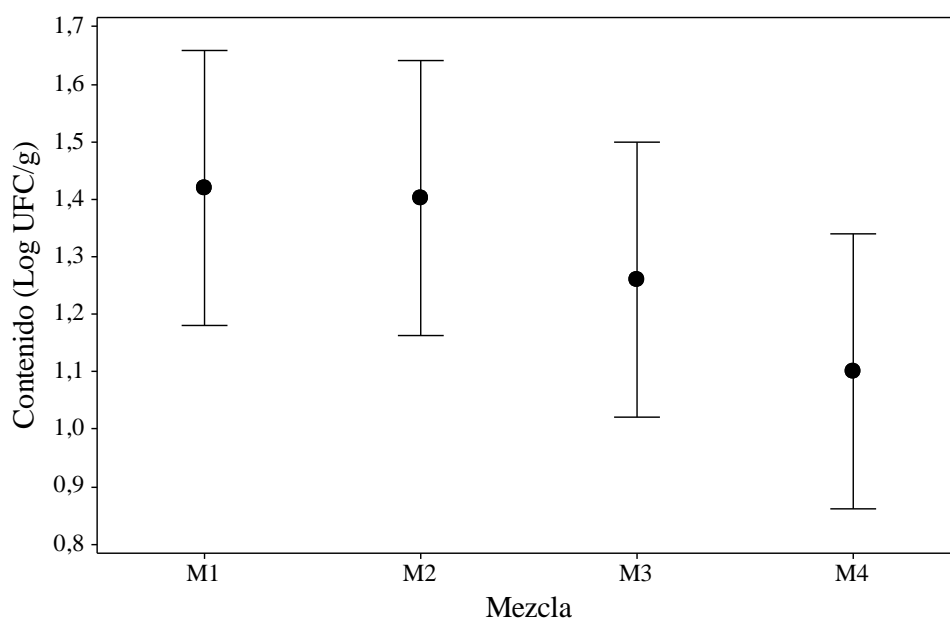


Figura 13. Intervalos del contenido de BMA en tortillas producidas con HMN-CO adicionada de cuatro mezclas de conservadores (cero días de almacenamiento).

El valor de pH de la tortilla es un factor importante para la efectividad de los conservadores presentes en las mezclas. Mientras más bajo este valor, mayor la efectividad de la mezcla, en el presente trabajo se redujo el pH mediante la adición de ácido fumárico, sin embargo, se usó una concentración de 0.10%, si se hubiera adicionado una concentración más alta de este ácido, las características organolépticas del producto hubieran cambiado, posiblemente aumentando el rechazo por parte del consumidor, sobre todo en el atributo de sabor. Los resultados de pH para cada uno de los tratamientos se pueden observar en la Tabla 13; se ejecutó un ANOVA y este estableció que no existe diferencia significativa entre las

cuatro mezclas de conservadores ( $p = 0.059$ ). También se realizó prueba de comparación de medias de Tukey y se observó que no existe diferencia entre las cuatro mezclas de conservadores (Figura 14). También se realizó una comparación de medias de Dunnett y se observó diferencia significativa de las cuatro mezclas con respecto al control (Figura 15) (Weber, 2008; Liu *et al.*, 2014; Wan *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2017).

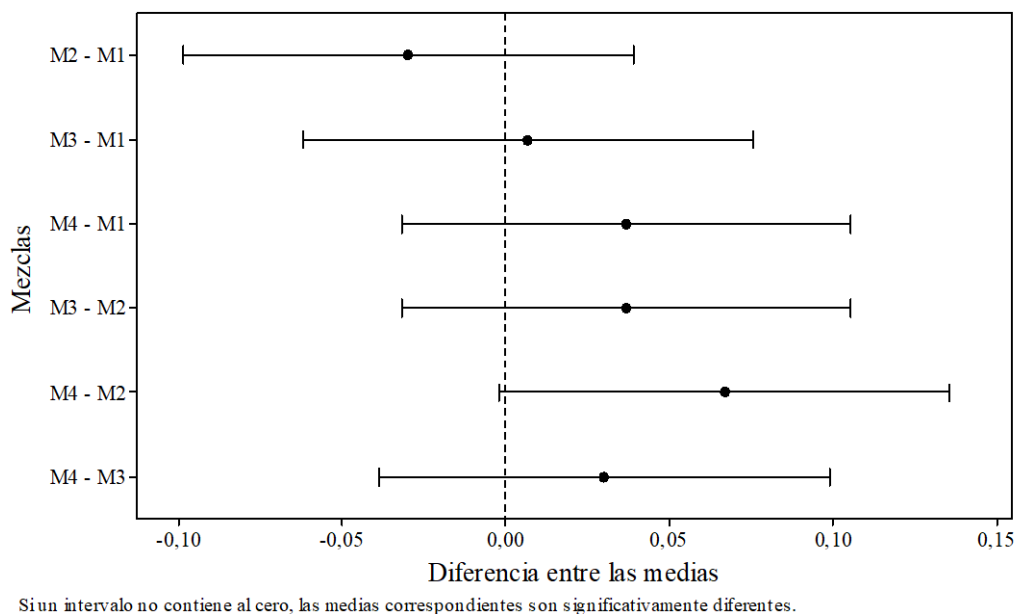


Figura 14. Comparación de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) del pH en tortillas producidas con HMN-CO adicionada de cuatro mezclas de conservadores.

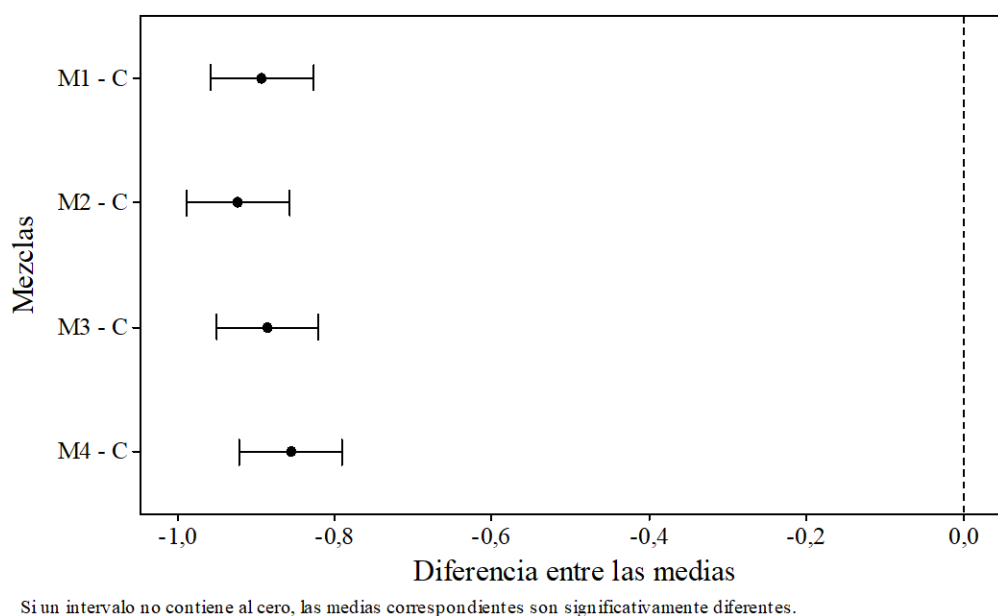


Figura 15. Comparación de medias de Dunnett ( $p \leq 0.05$ ) para el pH de tortillas producidas con HMN-CO adicionada de cuatro mezclas de conservadores.

### 6.7.3 Contenido microbiológico en tortillas almacenadas durante tres días.

Al tercer día de almacenamiento el contenido de HL en las tortillas preparadas con HMN-CO adicionada con las mezclas de conservadores resultaron tener diferencia significativa (Tabla 14).

Tabla 14. Contenido de HL y BMA en tortillas formuladas con cuatro mezclas de conservadores (tres días de almacenamiento).

Mezcla	Contenido (Log UFC/g)		Intervalo de confianza (95%) para HL
	HL	BMA	
Control	6.83 ± 0.05	6.30 ± 0.07	NA
Mezcla 1	5.31 ± 0.05 <sup>A</sup>	4.92 ± 0.03 <sup>A</sup>	5.18 - 5.45
Mezcla 2	5.24 ± 0.05 <sup>A</sup>	4.89 ± 0.04 <sup>A</sup>	5.10 - 5.37
Mezcla 3	4.26 ± 0.02 <sup>B</sup>	3.97 ± 0.06 <sup>B</sup>	4.20 - 4.32
Mezcla 4	4.04 ± 0.04 <sup>C</sup>	3.90 ± 0.09 <sup>B</sup>	3.93 - 4.15

\*Prueba de Tukey: promedios que no comparten la misma letra son significativamente diferente ( $p \leq 0.05$ ).  
BMA: bacterias mesófilas aerobias; HL: hongos y levaduras.

Según los valores de  $p$  y de los coeficientes obtenidos en el ANOVA (Tabla 15), el propionato de calcio es el factor que mayor efecto presenta sobre la variable dependiente, seguido del sorbato de potasio y finalmente la interacción lineal entre ambos factores (propionato de calcio: sorbato de potasio).

Tabla 15. ANOVA del efecto de dos conservadores (con dos niveles) sobre el contenido de HL en tortillas almacenadas durante tres días.

Factor	Valor de $p$	Coefficientes
Constante	0.0000	4.71175
Sorbato de Potasio	0.0005	- 0.07408
Propionato de Calcio	0.0000	- 0.56308
Sorbato:Propionato	0.0258	- 0.03592

El modelo de regresión arrojado presentó un valor de  $R^2$  de 0.9957, un  $R^2$  ajustada de 0.9941, y un valor  $p$  de  $8.065 \cdot 10^{-10}$ ; el modelo es aceptable y se puede emplear como modelo predictivo:



$$Y = 4.71175 - 0.07408[\text{Sorbato}] - 0.56308[\text{Propionato}] - 0.03592[\text{Sorbato: Propionato}]$$

En la Figura 16 se muestra la gráfica de efectos de la interacción de ambos conservadores, cuando el propionato de sodio se encuentra en el nivel bajo (0.2) los intervalos de los niveles del sorbato de potasio traslapan entre sí, ello significa que no existe diferencia significativa entre los niveles sobre la variable de salida; por el contrario, al tener el nivel alto del propionato de sodio (0.3) se observa que los intervalos de los niveles del sorbato de potasio no traslapan entre sí, por lo que existe diferencia significativa sobre la variable dependiente (Figura 16).

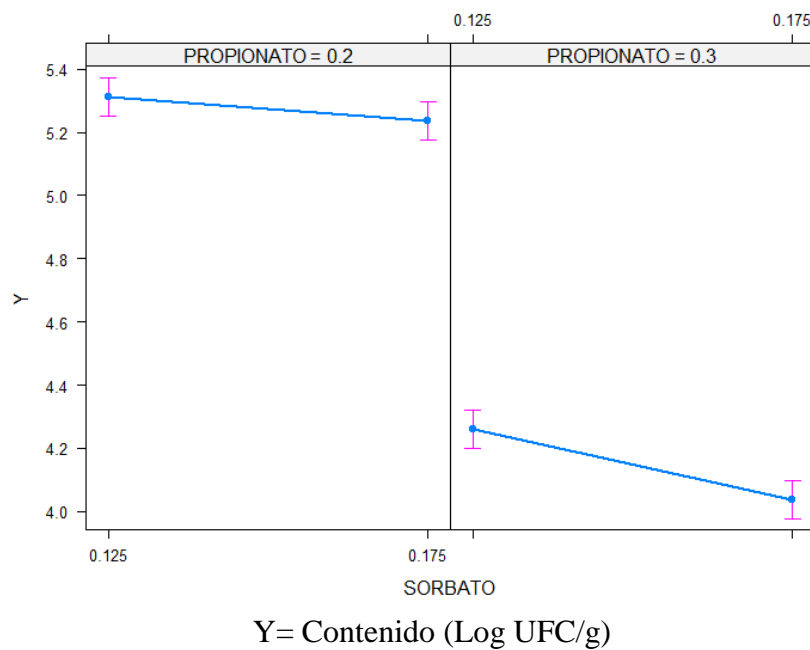
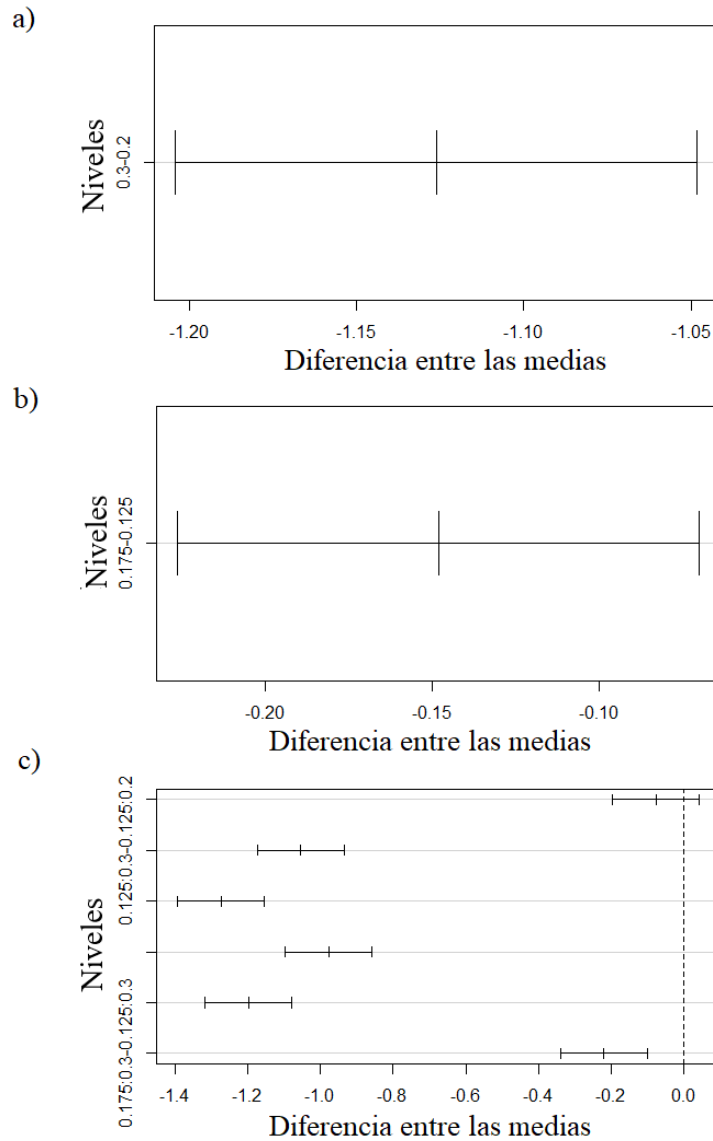


Figura 16. Gráfica de efectos de la adición a HMN-CO de dos conservadores a dos niveles de concentración sobre el contenido de HL en tortillas almacenadas durante tres días.

Mediante la prueba de comparación de medias de Tukey se establece que existe diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre las medias de los niveles para cada uno de los dos factores (Figura 17).

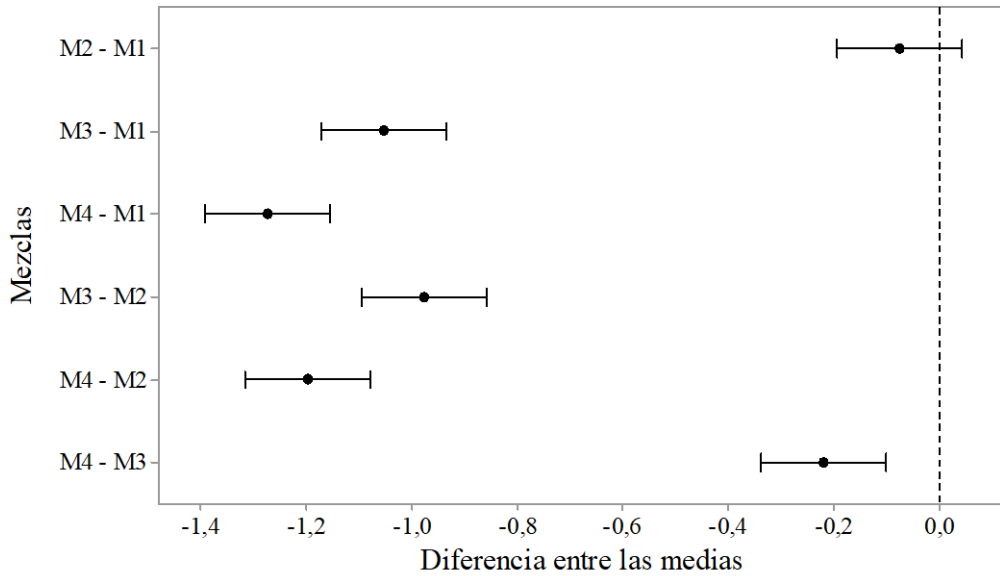
Los intervalos de confianza mostrados en la Tabla 14 establecen que M4 (0.30% propionato de calcio + 0.175% de sorbato de potasio) es la mezcla con mayor efecto sobre la inhibición de HL. Con el contenido de HL también se efectuó un ANOVA de un factor (tipo de mezcla adicionada), existió diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ). La comparación de medias

de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) mostró diferencia significativa entre las medias de M3 y M4 (Figura 18), por lo que se establece que M4 (0.30% propionato de calcio + 0.175% de sorbato de potasio) es la mezcla que mejor inhibe el desarrollo de HL.



Si un intervalo no contiene al cero, las medias correspondientes son significativamente diferentes.  
a) Propionato de sodio, b) sorbato de potasio, c) propionato de sodio\*sorbato de potasio

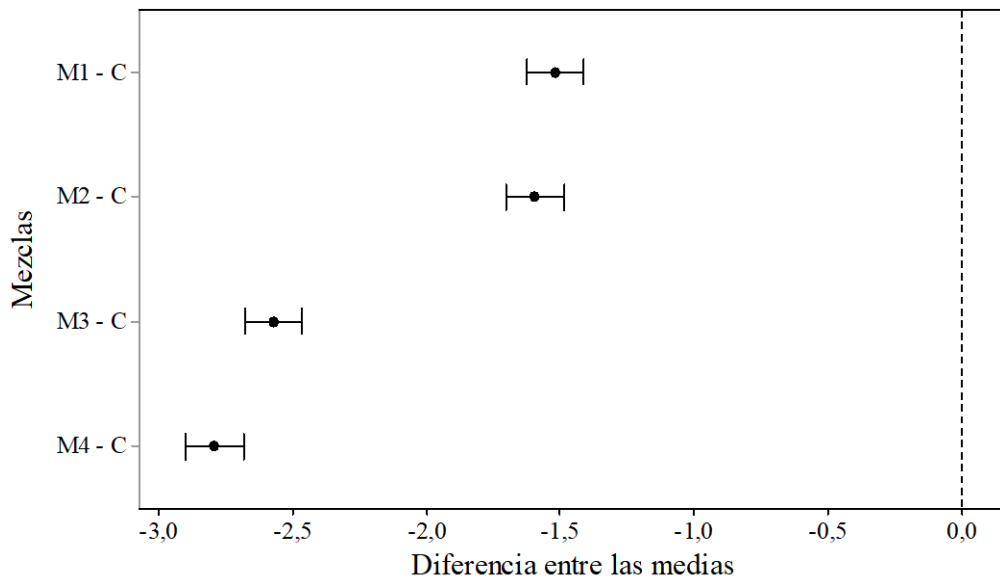
Figura 17. Comparación de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) del efecto de dos conservadores a dos niveles sobre el contenido de HL en tortillas almacenadas durante tres días.



Si un intervalo no contiene al cero, las medias correspondientes son significativamente diferentes.

Figura 18. Comparación de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) del efecto de cuatro mezclas de conservadores sobre el contenido de HL en tortillas almacenadas durante tres días.

Además, se realizó la comparación de medias de Dunnett, todas las mezclas presentaron diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) con respecto al control (Figura 19).



Si un intervalo no contiene al cero, las medias correspondientes son significativamente diferentes.

Figura 19. Comparación de medias de Dunnett ( $p \leq 0.05$ ) del efecto de cuatro mezclas de conservadores sobre el contenido de HL en tortillas almacenadas durante tres días.

En el tratamiento control los hongos fueron visibles en la superficie de la tortilla al cuarto día de almacenamiento. Por razones de inocuidad se estableció que la vida de anaquel del producto es de 3 días, sin la adición de conservadores.

El contenido de BMA en las tortillas en el tercer día de almacenamiento fue más bajo que el de HL. El ANOVA de un factor (tipo de mezcla adicionada) estableció que si existe diferencia entre las mezclas ( $p \leq 0.05$ ). En la Figura 20 se observan los intervalos para cada una de las cuatro mezclas y se aprecia la formación de dos grupos. En el grupo I, M1 (0.20% propionato de calcio + 0.125% de sorbato de potasio) y M2 (0.20% propionato de calcio + 0.175% de sorbato de potasio) traslapan entre sí; en el grupo II, M3 y M4 también traslapan entre sí, mientras que no hay traslape entre ambos grupos; ese mismo comportamiento se observó en la prueba de comparación de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ), cuya gráfica de intervalos se observa en la Figura 21. La diferencia entre ambos grupos se debe a que el grupo II contiene 0.30% de propionato de calcio, observándose un fenómeno muy parecido al observado previamente en el contenido de HL. En base a lo anterior se puede establecer que M3 (0.30% propionato de calcio + 0.125% de sorbato de potasio) y M4 (0.30% propionato de calcio + 0.175% de sorbato de potasio) no presentaron diferencia significativa en la inhibición del crecimiento de BMA en el día 3 de almacenamiento de las tortillas, siendo estos los mejores tratamientos.

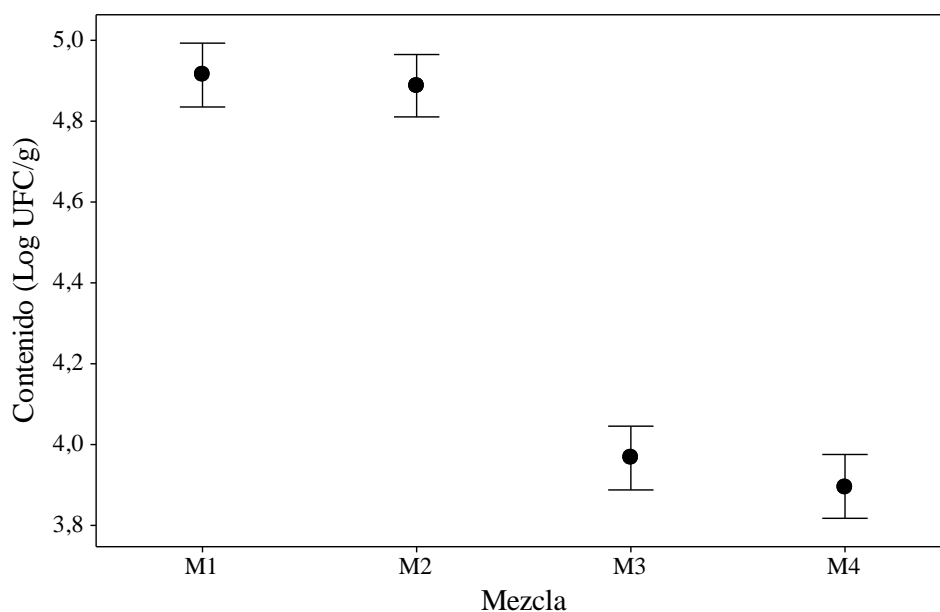
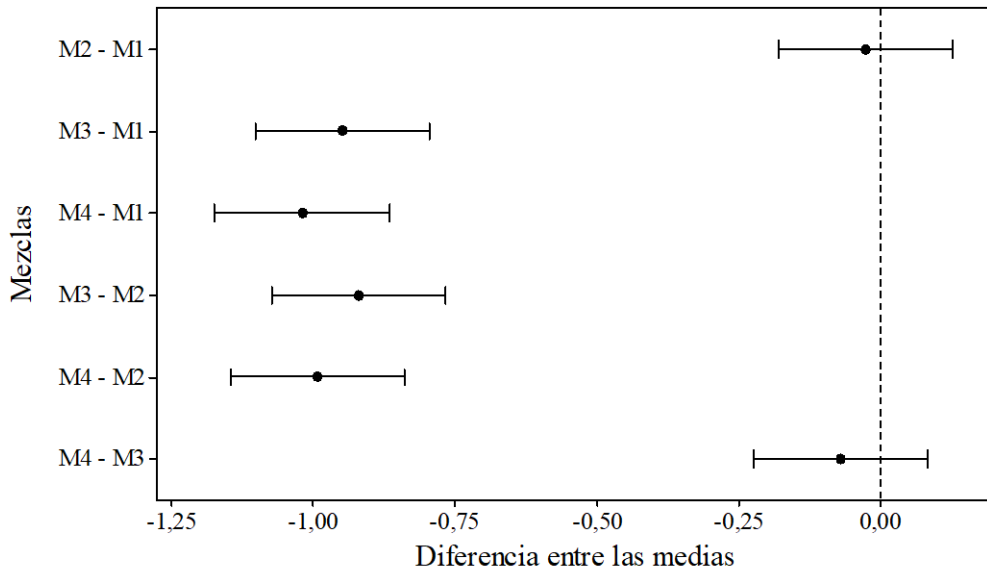


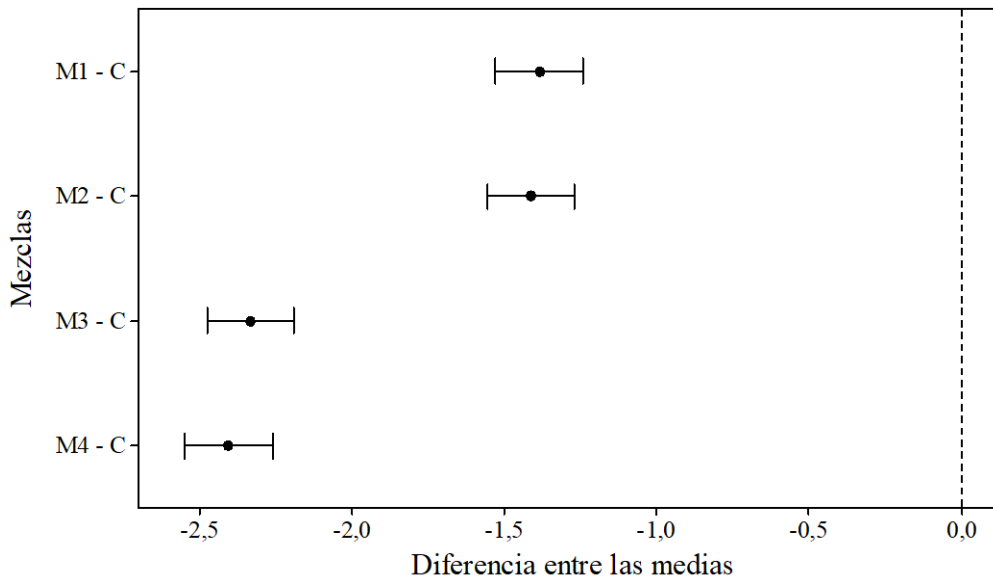
Figura 20. Intervalos del contenido de BMA en tortillas producidas con HMN-CO adicionada de cuatro mezclas de conservadores (tres días de almacenamiento).



Si un intervalo no contiene al cero, las medias correspondientes son significativamente diferentes.

Figura 21. Comparación de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) del efecto de cuatro mezclas de conservadores sobre el contenido de BMA en tortillas almacenadas durante tres días.

También se realizó un análisis de comparación de medias de Dunnett ( $p \leq 0.05$ ), hubo diferencia significativa para las cuatro mezclas ( $p = 0.000$ ) con respecto al control (Figura 22).



Si un intervalo no contiene al cero, las medias correspondientes son significativamente diferentes.

Figura 22. Comparación de medias de Dunnett ( $p \leq 0.05$ ) del efecto de cuatro mezclas de conservadores sobre el contenido de BMA en tortillas almacenadas durante tres días.

#### 6.7.4 Contenido microbiológico en tortillas almacenadas durante seis días.

El contenido de HL en el día 6 de almacenamiento mostró diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) para los dos conservadores (propionato de calcio y sorbato de potasio) empleados como factores (Tabla 16). Al igual que en el día 3, el factor que más afectó en la variable de respuesta es el propionato de sodio, ello en base a los valores de  $p$  y de los coeficientes del modelo de regresión. La interacción lineal entre ambos factores no fue significativa para este modelo (Tabla 17).

Tabla 16. Contenido de HL y BMA en tortillas formuladas de cuatro mezclas de conservadores (6 días de almacenamiento).

Mezcla	Contenido (Log UFC/g)*		Intervalo de confianza (95%) para HL
	HL	BMA	
Control	8.95 ± 0.04	9.02 ± 0.04	NA
Mezcla 1	7.77 ± 0.05 <sup>A</sup>	7.48 ± 0.07 <sup>A</sup>	7.65 – 7.90
Mezcla 2	7.71 ± 0.06 <sup>A</sup>	7.35 ± 0.05 <sup>A</sup>	7.56 – 7.86
Mezcla 3	6.80 ± 0.08 <sup>B</sup>	6.51 ± 0.05 <sup>B</sup>	6.61 – 6.99
Mezcla 4	6.64 ± 0.07 <sup>B</sup>	6.35 ± 0.06 <sup>C</sup>	6.47 – 6.80

\*Prueba de Tukey: promedios que no comparten la misma letra son significativamente diferente ( $p \leq 0.05$ ).  
BMA: bacterias mesófilas aerobias; HL: hongos y levaduras.

Tabla 17. ANOVA del efecto de dos conservadores (con dos niveles) sobre el contenido de HL en tortillas almacenadas durante seis días.

Factor	Valor de $p$	Coefficientes
Constante	0.0000	7.23100
Sorbato de Potasio	0.0172	-0.05567
Propionato de Calcio	0.0000	-0.51117

El modelo de regresión tiene un valor de  $R^2$  de 0.9877, un  $R^2$  ajustada de 0.9850 y un valor  $p$  de  $2.522 \cdot 10^{-9}$ ; dicho modelo es aceptable y se puede emplear como modelo predictivo:

$$Y = 7.2310 - 0.05567[\text{Sorbato}] - 0.51117[\text{Propionato}]$$

En la gráfica de efectos (Figura 23) se observó un comportamiento diferente para el sorbato de potasio en comparación al día 3, donde los intervalos de los dos niveles traslapan entre sí, ello se debe que en día 6 el valor de “p” para este factor tiene un valor mayor, ejerciendo en menor grado efecto sobre la variable de respuesta. Por otro lado, el comportamiento del propionato de calcio es muy parecido al que se presentó en el día 3.

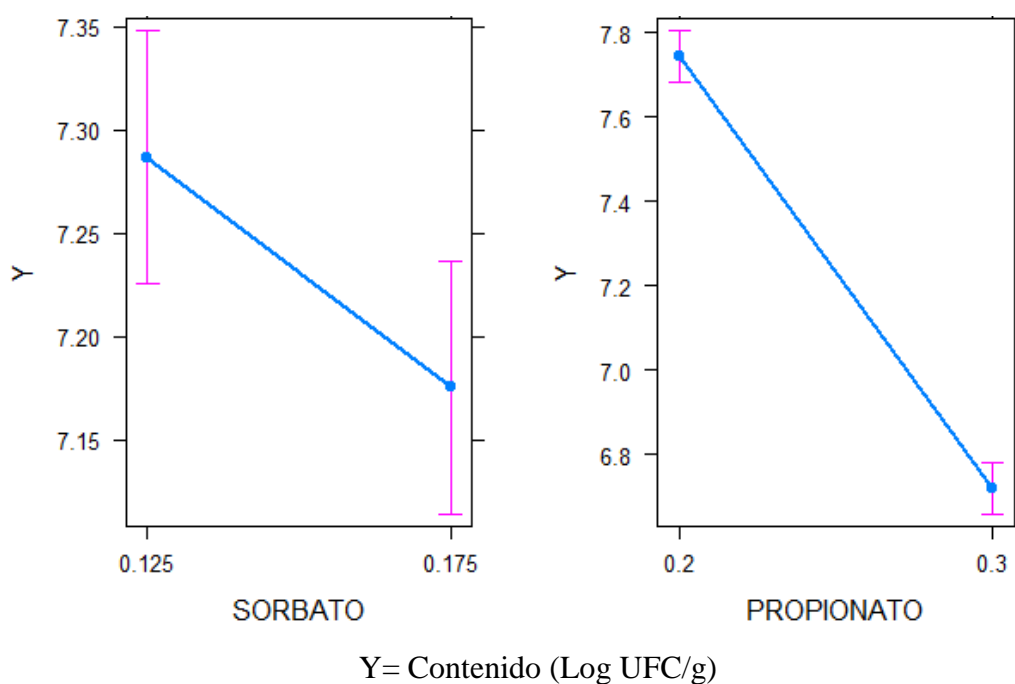
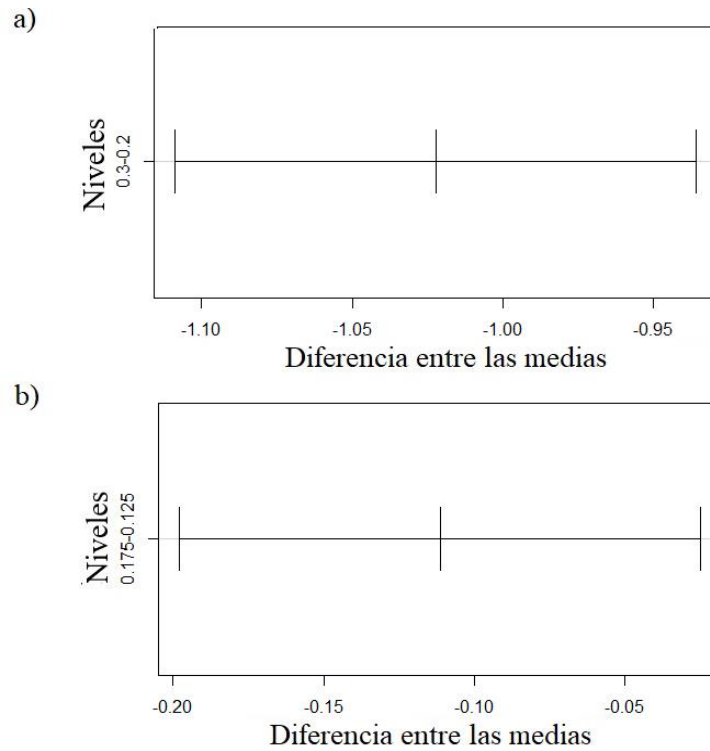


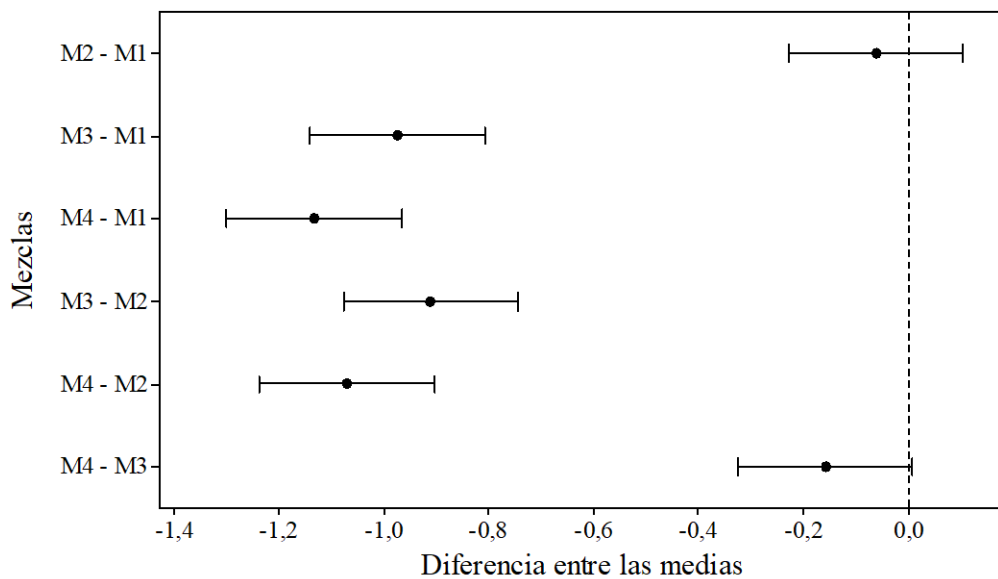
Figura 23. Gráfica de efectos de la adición a HMN-CO de dos conservadores a dos niveles de concentración sobre el contenido de HL en tortillas almacenadas durante seis días.

Mediante la prueba de comparación de medias de Tukey se estableció que no existe diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre las medias de los niveles para cada factor (Figura 24). Los intervalos de confianza mostrados en la Tabla 16 establecen que M4 (0.30% propionato de calcio + 0.175% de sorbato de potasio) es la mejor en la inhibición del crecimiento de HL.



Si un intervalo no contiene al cero, las medias correspondientes son significativamente diferentes.  
 a) Propionato de sodio, b) sorbato de potasio

Figura 24. Comparación de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) del efecto de dos conservadores a dos niveles sobre el contenido de HL en tortillas almacenadas durante seis días.



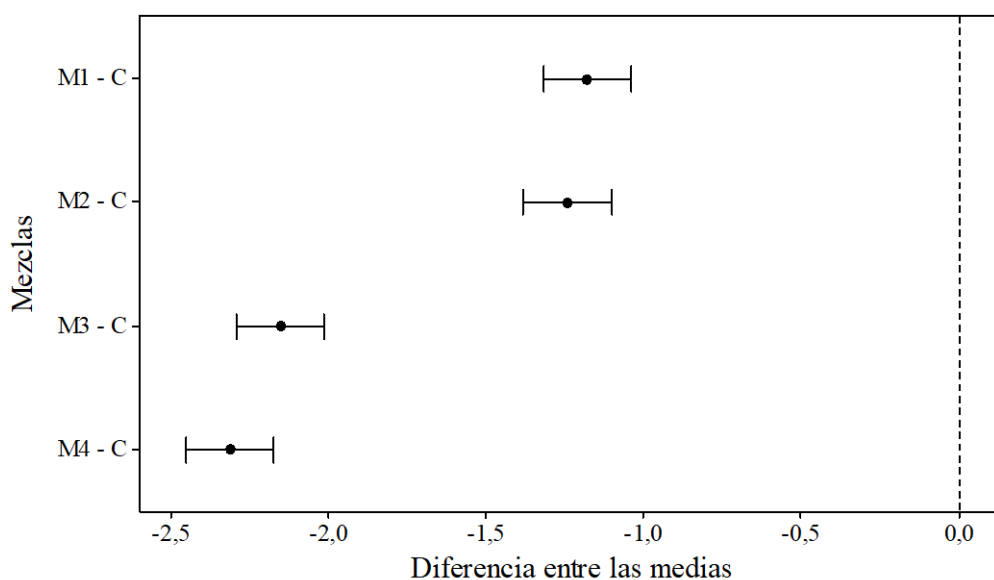
Si un intervalo no contiene al cero, las medias correspondientes son significativamente diferentes.

Figura 25. Comparación de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) del efecto de cuatro mezclas de conservadores sobre el contenido de HL en tortillas almacenadas durante seis días.



Con el contenido de HL también se realizó un ANOVA de un factor (tipo de mezcla adicionada), siendo este el tipo de mezcla de conservadores adicionada, existió diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ). También se efectuó una comparación de medias de Tukey y se observó que no existe diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) en las medias de M3 (0.30% propionato de calcio + 0.125% de sorbato de potasio) y M4 (0.30% propionato de calcio + 0.175% de sorbato de potasio) (Figura 25).

La comparación de medias de Dunnett mostró que todas las mezclas presentaron diferencias significativas ( $p=0.0000$ ) con respecto al control (Figura 26).



Si un intervalo no contiene al cero, las medias correspondientes son significativamente diferente.

Figura 26. Comparación de medias de Dunnett ( $p \leq 0.05$ ) del efecto de cuatro mezclas de conservadores sobre el contenido de HL en tortillas almacenadas durante seis días.

Las poblaciones de BMA en el día 6 de almacenamiento, al igual que en el día 3, fueron más bajas en comparación con los registrados para HL. El ANOVA de un factor (tipo de mezcla adicionada) estableció que si existe diferencia entre las mezclas ( $p \leq 0.05$ ). En la Figura 27 se observan los intervalos para cada una de las cuatro mezclas. Los intervalos de M1 y M2 traslapan entre sí, mientras que M3 y M4 están separados de M1-M2 y además no traslapan entre sí. Ese comportamiento se reafirma en la prueba de comparación de medias de Tukey en donde no existió diferencia entre todas las combinaciones de comparación entre las medias de las mezclas, a excepción de M2-M1 (Figura 28).

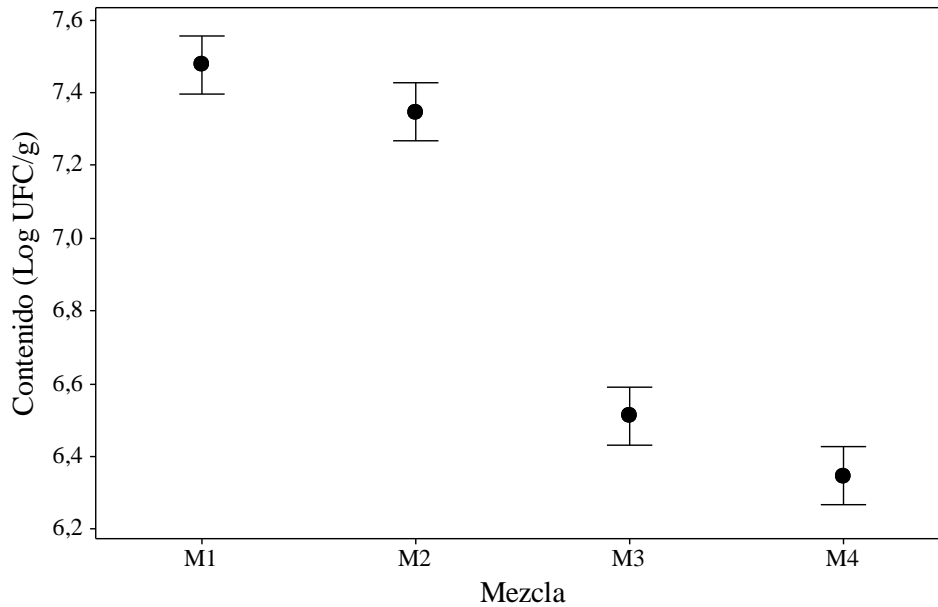


Figura 27. Intervalos del contenido de BMA en tortillas producidas con HMN-CO adicionada de cuatro mezclas de conservadores (seis días de almacenamiento).

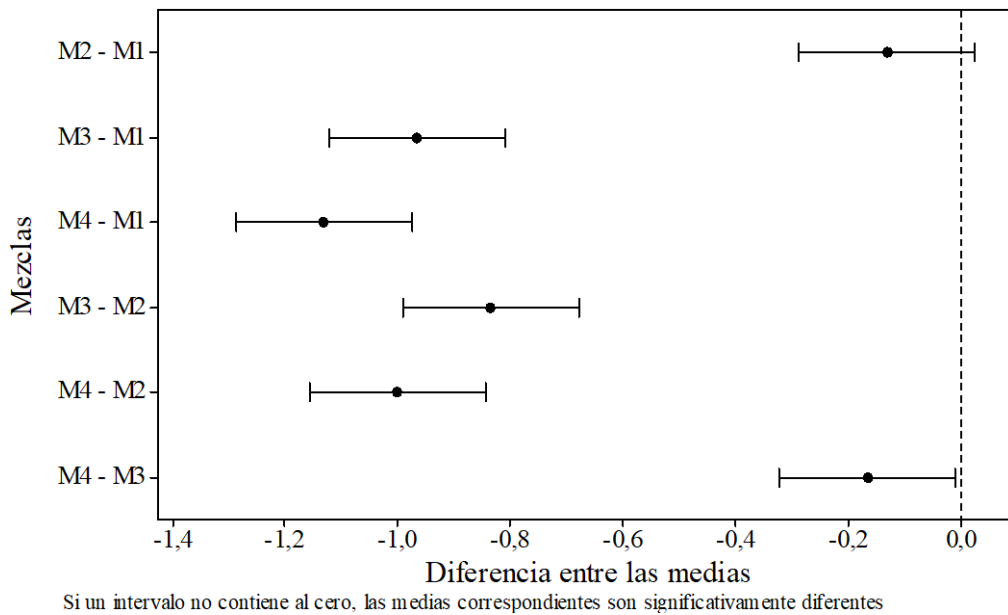
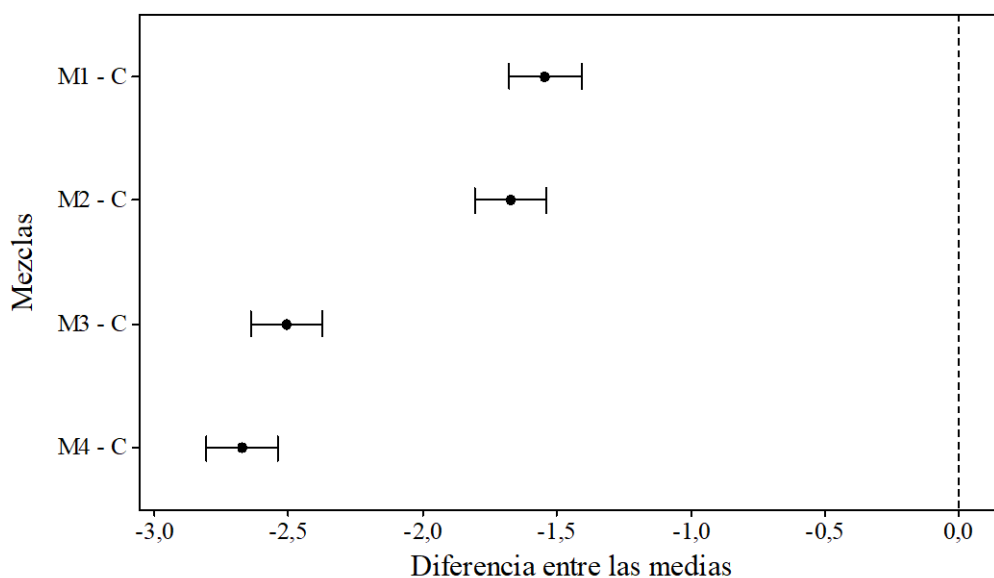


Figura 28. Comparación de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) del efecto de cuatro mezclas de conservadores sobre el contenido de BMA en tortillas almacenadas durante seis días.

En base a la información obtenida se estableció que M4 (0.30% propionato de calcio + 0.175% de sorbato de potasio) es la que mejor inhibe el desarrollo de BMA en tortillas, después de 6 días de almacenamiento.

La prueba de Dunnett mostró diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) para las cuatro mezclas con respecto al control (Figura 29).



Si un intervalo no contiene al cero, las medias correspondientes son significativamente diferentes.

Figura 29. Comparación de medias de Dunnett ( $p \leq 0.05$ ) del efecto del efecto de cuatro mezclas de conservadores sobre el contenido de BMA en tortillas almacenadas durante seis días.

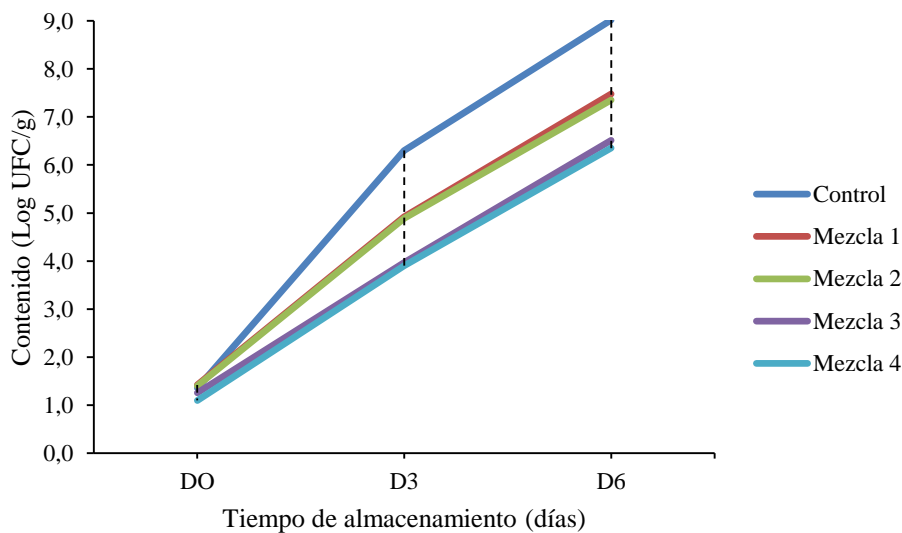


Figura 30. Curva de crecimiento de BMA a través del tiempo de almacenamiento en tortillas formuladas con cuatro mezclas de conservadores.

En la Figura 30 se observa el efecto de las mezclas de conservadores sobre el crecimiento de BMA a través del tiempo de almacenamiento. M4 (0.30% propionato de calcio + 0.175% de sorbato de potasio) fue la que mejor redujo la tasa de crecimiento.

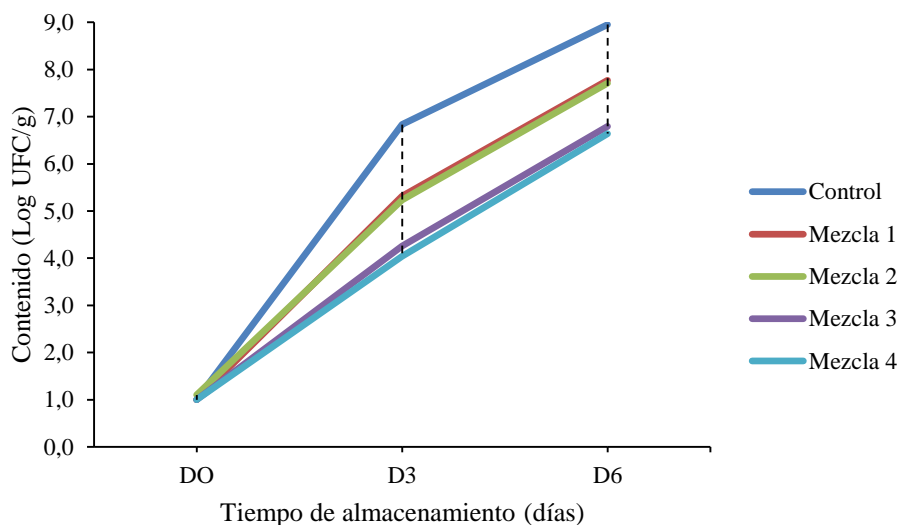


Figura 31. Curva de crecimiento de HL a través del tiempo de almacenamiento en tortillas formuladas con cuatro mezclas de conservadores.

En la Figura 31 se observa el efecto de las diferentes mezclas sobre el crecimiento de HL a través del tiempo de almacenamiento, se observa que en M4 (0.30% propionato de calcio + 0.175% de sorbato de potasio) la tasa de crecimiento es menor.

#### 6.7.5 Vida de anaquel de tortillas

Para M1 y M2 el hongo fue visible en la superficie de la tortilla en el día 6, por tanto, la vida de anaquel del producto se considera fue de 5 días a 22 °C (simulando la temperatura ambiente). Mientras que para M3 y M4 el hongo visible se observó en el día 7 y se estableció una vida de anaquel de 6 días (Tabla 18). Martínez-Flores *et al.* (2004) estableció una vida de anaquel de 6 días para tortillas producidas con HMN elaborada mediante extrusión, y empleando en la formulación los mismos conservadores que en el presente trabajo (22 °C de almacenamiento); sin embargo, como se mencionó previamente es necesario restarle al menos un día a dicha vida de anaquel, ya que para el día 6 el hongo era visible y dicho producto ya no es inocuo para su consumo.

Los tratamientos M3 y M4 fueron las que tuvieron una mejor efectividad para la inhibición del crecimiento microbiano a través del tiempo, tanto para HL como para BMA. Esto se debe a que estas dos mezclas contienen el nivel alto de concentración del propionato de calcio (0.30%); la formulación con estas mezclas permite alcanzar una vida de anaquel de 6 días. Sin embargo, en base a los resultados obtenidos en el estudio, principalmente los

intervalos de confianza y la comparación de medias de Tukey, se puede establecer que M4 (0.30% propionato de calcio + 0.175% de sorbato de potasio) es la mezcla que mejor efecto tiene en la inhibición del desarrollo microbiano, tanto para HL y BMA. Se establece que es recomendable utilizar dicha mezcla en la formulación de la HMN-CO para la producción de tortillas.

Tabla 18. Vida de anaquel de tortillas elaboradas a partir de HMN-CO formulada con diferentes mezclas de conservadores.

Mezcla	Formulación* (P/P HMN)	Tiempo de falla (días)	Vida de anaquel (días)
Control	NA	4	3
Mezcla 1	0.20% propionato de sodio + 0.125% sorbato de potasio	6	5
Mezcla 2	0.20% propionato de sodio + 0.175% sorbato de potasio	6	5
Mezcla 3	0.30% propionato de sodio + 0.125% sorbato de potasio	7	6
Mezcla 4	0.30% propionato de sodio + 0.175% sorbato de potasio	7	6

Los tratamientos M3 y M4 fueron las que tuvieron una mejor efectividad para la inhibición del crecimiento microbiano a través del tiempo, tanto para HL como para BMA. Esto se debe a que estas dos mezclas contienen el nivel alto de concentración del propionato de calcio (0.30%); la formulación con estas mezclas permite alcanzar una vida de anaquel de 6 días. Sin embargo, en base a los resultados obtenidos en el estudio, principalmente los intervalos de confianza y la comparación de medias de Tukey, se puede establecer que M4 (0.30% propionato de calcio + 0.175% de sorbato de potasio) es la mezcla que mejor efecto tiene en la inhibición del desarrollo microbiano, tanto para HL y BMA. Se establece que es recomendable utilizar dicha mezcla en la formulación de la HMN-CO para la producción de tortillas.

Es importante mencionar el efecto sinérgico que generan los conservadores para poder aumentar su capacidad de inhibición de crecimiento de HL y BMA. El sorbato de potasio actúa inhibiendo diversas enzimas contenidas en las células de los microorganismos,

siendo más eficiente para el control de hongos y levaduras. Mientras que el propionato de calcio es un conservador de amplio espectro; este se acumula en la célula del microorganismo, alterando su metabolismo mediante la inhibición enzimática o reduciendo el crecimiento por competencias de substratos. El ácido fumárico disminuye el pH de la matriz alimentaria para que los otros dos conservadores puedan tener una mejor efectividad (Alam *et al.*, 2014; Chaleshtori *et al.*, 2018; Mohammadzadeh-Aghdash *et al.*, 2018).

#### 6.7.6 Análisis confirmatorio del análisis microbiológico.

Al igual que en el diseño experimental efectuado (Tabla 13), en el día 0 del experimento de confirmación se observaron bajas poblaciones para BMA y HL (Tabla 19), debido probablemente a la eliminación de los microorganismos en la etapa de cocción de la tortilla. Los valores de pH en tortilla formulada con M4 de conservadores en el diseño experimental ( $6.98 \pm 0.01$ ) y en el experimento de confirmación ( $6.93 \pm 0.02$ ) fueron muy cercanos entre sí, lo cual es un indicador de la reproducibilidad de la formulación de las HMN con la mezcla de conservadores elegida (0.30% propionato de sodio + 0.175% sorbato de potasio + 0.10 ácido fumárico) para la producción de las tortillas.

Tabla 19. Valores de pH y contenido de HL y BMA en tortillas recién elaboradas a partir de HMN-CO y HMN-PTN formuladas con la mezcla 4 de conservadores (cero días de almacenamiento).

Tratamiento	Formulación (P/P HMN)	pH	Contenido (Log UFC/g)	
			HL	BMA
HMN-CO	0.30% propionato de sodio + 0.175% sorbato de potasio + 0.10% ácido fumárico.	$6.93 \pm 0.02$	$1.00 \pm 0.00$	$1.20 \pm 0.17$
HMN-PTN		$7.71 \pm 0.02$	$1.20 \pm 0.17$	$1.36 \pm 0.10$
HMN-PTN (control)	NA	$8.62 \pm 0.03$	$1.10 \pm 0.17$	$1.42 \pm 0.10$

HMN-CO: harina de maíz nixtamalizada producida mediante calentamiento óhmico; HMN-PTN: harina de maíz nixtamalizada producida mediante el proceso tradicional; HMN-PTN (control): harina de maíz nixtamalizada producida mediante el proceso tradicional sin adición de conservadores.

Los valores de pH entre las tortillas elaboradas con HMN-CO y HMN-PTN formuladas con M4 de conservadores mostraron una diferencia de 0.78 unidades, siendo mayor en HMN-PTN, ello es debido a que como se mencionó anteriormente en el PTN se

emplea una mayor cantidad de hidróxido de calcio que en el CO. Al comparar el pH del tratamiento de HMN-PTN con su control se observa una diferencia de 0.91 unidades, siendo mayor en el control; dicha diferencia es debida al efecto de la adición de ácido fumárico en la formulación.

Al comparar los controles de ambos tipos de HMN, se aprecia que el pH del control HMN-PTN fue mayor (8.62, Tabla 19) al control HMN-CO (7.83, Tabla 13). En los tratamientos elaborados con HMN-PTN al tener un pH mayor, este se alejó del rango de pH óptimo de los conservadores presentes en la mezcla adicionada, por lo tuvo una menor efectividad ante la inhibición del desarrollo microbiano en el producto.

En la Tabla 20 se puede observar que en el día 3 de almacenamiento para el tratamiento HMN-CO existen poblaciones similares a los del diseño experimental (Tabla 14) para ambos indicadores microbiológicos, siendo menores en el experimento de confirmación. Al comparar los tratamientos HMN-CO y HMN-PTN se aprecian valores mayores en HMN-PTN tanto para HL y BMA. En el día 3 se observó la aparición de hongo visible en las tortillas control (HMN-PTN), por lo que se estableció como el tiempo de falla, y se detuvo el análisis de dicho tratamiento.

Tabla 20. Contenido de HL y BMA en tortillas elaboradas a partir de HMN-CO y HMN-PTN formuladas con la mezcla 4 de conservadores (tres días de almacenamiento).

Tratamiento	Formulación (P/P HMN)	Contenido (Log UFC/g)	
		HL	BMA
HMN-CO	0.30% propionato de sodio + 0.175% sorbato de potasio + 0.10% ácido fumárico.	3.86 ± 0.04	3.73 ± 0.05
HMN-PTN		4.42 ± 0.06	4.18 ± 0.07
HMN-PTN (control)	NA	7.47 ± 0.06	6.95 ± 0.04

HMN-CO: harina de maíz nixtamalizada producida mediante calentamiento óhmico; HMN-PTN: harina de maíz nixtamalizada producida mediante el proceso tradicional; HMN-PTN (control): harina de maíz nixtamalizada producida mediante el proceso tradicional sin adición de conservadores.

En el día 6 de almacenamiento las tortillas elaboradas con el tratamiento HMN-CO presentaron poblaciones de HL y BMA similares a los tratamientos de tortillas analizados durante el diseño experimental (Tabla 16). En el experimento de confirmación (Tabla 21) se observan poblaciones mayores en el tratamiento HMN-PTN para ambos indicadores microbiológicos, en relación a lo observado en el tratamiento HMN-CO. En el día 6 en el

tratamiento HMN-PTN se apreció un hongo visible sobre la superficie de las tortillas, por lo que se estableció como el tiempo de falla de dicho tratamiento, terminando así su análisis.

Tabla 21. Contenido de HL y BMA en tortillas elaboradas a partir de HMN-CO y HMN-PTN formuladas con la mezcla 4 de conservadores (seis días de almacenamiento).

Tratamiento	Formulación (P/P HMN)	Contenido (Log UFC/g)	
		HL	BMA
HMN-CO	0.30% propionato de sodio + 0.175% sorbato de potasio + 0.10% ácido fumárico.	6.47 ± 0.06	6.20 ± 0.07
HMN-PTN		7.39 ± 0.06	7.01 ± 0.05

BMA: bacterias mesófilas aerobias; HL: hongos y levaduras; HMN-CO: harina de maíz nixtamalizada producida mediante calentamiento óhmico; HMN-PTN: harina de maíz nixtamalizada producida mediante el proceso tradicional

Se analizó el contenido microbiológico del tratamiento HMN-CO en el tiempo de falla (Tabla 22), el contenido de ambos indicadores microbiológicos se aproximó a los valores presentes en el tiempo de falla del análisis donde se evaluaron las cuatro mezclas de conservadores.

Tabla 22. Contenido de HL y BMA en tortillas elaboradas a partir de HMN-CO formuladas con la mezcla 4 de conservadores (siete días de almacenamiento).

Tratamiento	Formulación (P/P HMN)	Contenido (Log UFC/g)	
		HL	BMA
HMN-CO	0.30% propionato de sodio + 0.175% sorbato de potasio + 0.10% ácido fumárico.	7.21 ± 0.04	6.88 ± 0.06

BMA: bacterias mesófilas aerobias; HL: hongos y levaduras; HMN-CO: harina de maíz nixtamalizada producida mediante calentamiento óhmico.

En la Tabla 23 se pueden observar los tiempos de falla y vida de anaquel de los 3 tratamientos, con dicha información se estableció que la vida de anaquel para las tortillas elaboradas a partir de HMN-CO formulada con M4 (0.30% propionato de sodio + 0.175% sorbato de potasio + 0.10 ácido fumárico) corresponde con lo establecido en el diseño experimental (Tabla 18), siendo en ambos casos de 6 días, logrando así confirmar el resultado obtenido. En el caso del tratamiento HMN-PTN se obtuvo una vida de anaquel de 5 días, en el caso del control fue de 2 días, en ambos casos 1 día menos que el tratamiento correspondiente empleando HMN-CO (Tabla 18). Como ya se mencionó anteriormente el



comportamiento de los resultados se deben a la diferencia de pH entre los tratamientos elaborados con HMN-CO y HMN-PTN.

Tabla 23. Vida de anaquel de tortillas elaboradas a partir de HMN-CO y HMN-PTN formuladas con la mezcla 4 de conservadores (experimento de confirmación).

Tratamiento	Formulación* (P/P HMN)	Tiempo de falla (días)	Vida de anaquel (días)
HMN-CO	0.30% propionato de sodio + 0.175% sorbato de potasio	7	6
HMN-PTN		6	5
HMN-PTN (control)	NA	3	2

HMN-CO: harina de maíz nixtamalizada producida mediante calentamiento óhmico; HMN-PTN: harina de maíz nixtamalizada producida mediante el proceso tradicional; HMN-PTN (control): harina de maíz nixtamalizada producida mediante el proceso tradicional sin adición de conservadores.

## 7. CONCLUSIONES

Mediante el CO fue posible obtener HMN con propiedades fisicoquímicas aceptables para ser empleadas en la producción de tortillas; con respecto a HMN-PT, HMN-CO presenta una mejor absorción de agua, solubilidad y rendimiento. Así mismo, las tortillas obtenidas presentan una mejor textura, absorción de agua, estabilidad ante el desarrollo microbiano y rendimiento, esto último es una ventaja desde la perspectiva económica.

Las tortillas obtenidas mediante HMN-CO mostraron una alta aceptación sensorial por parte de los consumidores en los atributos evaluados: sabor, olor, color, textura, rolabilidad y aceptabilidad general. Estableciéndose así un importante beneficio que sustenta el escalamiento del CO a nivel industrial.

Con la adición a HMN-CO de la mezcla de conservadores formada por: 0.30% propionato de sodio, 0.175% sorbato de potasio, 0.10% ácido fumárico, es posible alargar la vida de anaquel de las tortillas hasta por 6 días (22 °C de almacenamiento). Las tortillas obtenidas mediante dicha formulación presentan una alta aceptación sensorial por parte de los consumidores en los atributos de olor y sabor. Ello se debe a que las concentraciones de los conservadores empleados en las mezclas evaluadas son bajas, así se logra alterar lo menos posible las características sensoriales de la tortilla. Para un futuro escalamiento industrial, es factible emplear la formulación elegida para extender la vida de anaquel de las tortillas, ello representa una importante ventaja económica para los productores de la masa y la tortilla.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- AACC. 2000. Approved methods of the American Association of Cereal Chemists (10th Ed.) American Association of Cereal Chemists, Minneapolis, MN.
- Achir, N., C. Dhuique-Mayer, T. Hadjal, K. Madani, J. P. Pain, and M. Dornier. 2016. Pasteurization of citrus juices with ohmic heating to preserve the carotenoid profile. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 33:397–404.
- Acosta-Estrada, B. A., S. O. Serna-Saldívar, and J. A. Gutiérrez-Urbe. 2015. Chemopreventive effects of feruloyl putrescines from wastewater (Nejayote) of lime-cooked white maize (*Zea mays*). *J. Cereal Sci.* 64:23–28.
- Alam, S., H. U. Shah, M. Afzal, and N. Magan. 2014. Influence of calcium propionate, water activity and storage time on mold incidence and aflatoxins production in broiler starter feed. *Anim. Feed Sci. Technol.* 188:137–144.
- Alamprese, C., C. Cappa, S. Ratti, S. Limbo, M. Signorelli, D. Fessas, and M. Lucisano. 2017. Shelf life extension of whole-wheat breadsticks: Formulation and packaging strategies. *Food Chem.* 230:532–539.
- Cornejo-Villegas, M. A., E. Gutiérrez-Cortez, I. Rojas-Molina, A. Del Real-López, M. L. Zambrano-Zaragoza, V. Martínez-Vega, and M. E. Rodríguez-García. 2013. Physicochemical, morphological, and pasting properties of nixtamalized flours from quality protein maize and its particle distribution. *LWT - Food Sci. Technol.* 53:81–87.
- Anton, A. A., O. M. Lukow, R. G. Fulcher, and S. D. Arntfield. 2009. Shelf stability and sensory properties of flour tortillas fortified with pinto bean (*Phaseolus vulgaris* L.) flour: Effects of hydrocolloid addition. *LWT - Food Sci. Technol.* 42:23–29.
- Anton, A. A., K. A. Ross, O. M. Lukow, R. G. Fulcher, and S. D. Arntfield. 2008. Influence of added bean flour (*Phaseolus vulgaris* L.) on some physical and nutritional properties of wheat flour tortillas. *Food Chem.* 109:33–41.
- Arámbula-Villa, G., M. G. Figueroa-Rivera, R. Rendón-Villalobos, M. Mendoza-Elos, J. D. Figueroa-Cárdenas, R. Castanedo-Pérez, and F. Rodríguez-González. 2018. Chemical acetylation of nixtamalized maize flour and structural, rheological and physicochemical properties of flour, dough and tortillas. *J. Food Sci. Technol.* 55:1065–1073.

- Arámbula-Villa, G., J. González-Hernández, and C. A. Ordorica-Falomir. 2001. Physicochemical, structural and textural properties of tortillas from extruded instant corn flour supplemented with various types of corn lipids. *J. Cereal Sci.* 33:245–252.
- Barros, F., J. N. Alviola, and L. W. Rooney. 2010. Comparison of quality of refined and whole wheat tortillas. *J. Cereal Sci.* 51:50–56.
- Bastías, J. M., J. Moreno, C. Pia, J. Reyes, R. Quevedo, and O. Muñoz. 2015. Effect of ohmic heating on texture, microbial load, and cadmium and lead content of Chilean blue mussel (*Mytilus chilensis*). *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 30:98–102.
- Bello-Perez, L. A., P. C. Flores-Silva, E. Agama-Acevedo, J. D. Figueroa-Cárdenas, J. A. Lopez-Valenzuela, and O. H. Campanella. 2014. Effect of the nixtamalization with calcium carbonate on the indigestible carbohydrate content and starch digestibility of corn tortilla. *J. Cereal Sci.* 60:421–425.
- Bravo-Núñez, Á., and M. Gómez. 2018. Physicochemical properties of native and extruded maize flours in the presence of animal proteins. *J. Food Eng.* 243:49–56.
- Bressani, R., M. Breuner and M.A. Ortiz. 1989. Contenido de fibra ácido- y neutrodetergente y de minerales menores en maíz y su tortilla. *Arch. Latinoam. Nutr.* 39: 382-391.
- Brody, A. L. 2003. Predicting Packaged. Food Shelf Life. *Food Technology* 57:100-102.
- Cappato, L. P., M. V. S. Ferreira, J. T. Guimaraes, J. B. Portela, A. L. R. Costa, M. Q. Freitas, R. L. Cunha, C. A. F. Oliveira, G. D. Mercali, L. D. F. Marzack, and A. G. Cruz. 2017. Ohmic heating in dairy processing: Relevant aspects for safety and quality. *Trends Food Sci. Technol.* 62:104–112.
- Cargill de México. 2005. Manifestación de impacto ambiental, modalidad particular. Proyecto “Iguana” planta de procesamiento de maíz blanco para harina nixtamalizada. <http://sinat.semarnat.gob.mx/dgiraDocs/documentos/hgo/estudios/2005/13HI2005H0005.pdf>. (Accessed 12 September 2017).
- Carvalho, C. W. P., C. Y. Takeiti, C. I. Onwulata, and L. O. Pordesimo. 2010. Relative effect of particle size on the physical properties of corn meal extrudates: Effect of particle size on the extrusion of corn meal. *J. Food Eng.* 98:103–109.
- Castro-Muñoz, R., and J. Yáñez-Fernández. 2015. Valorization of Nixtamalization wastewaters (Nejayote) by integrated membrane process. *Food Bioprod. Process.* 95:7–18.

- Castro-Muñoz, R., V. Fíla, and E. Durán-Páramo. 2017. A Review of the Primary By-product (Nejayote) of the Nixtamalization During Maize Processing: Potential Reuses. *Waste and Biomass Valorization*. 10:13-22.
- CEDRSSA. 2014. Consumo, distribución y producción de alimentos: el caso del complejo maíz-tortilla. <http://www.cedrssa.gob.mx/?idnot=186>. (Accessed 1 August 2017).
- Chaidez-Laguna, L. D., P. Torres-Chavez, B. Ramírez-Wong, E. Marquez-Ríos, A. R. Islas-Rubio, and E. Carvajal-Millan. 2016. Corn proteins solubility changes during extrusion and traditional nixtamalization for tortilla processing: A study using size exclusion chromatography. *J. Cereal Sci.* 69:351–357.
- Chaleshtori, F. S., A. Arian, and R. S. Chaleshtori. 2018. Assessment of sodium benzoate and potassium sorbate preservatives in some products in Kashan, Iran with estimation of human health risk. *Food Chem. Toxicol.* 120:634–638.
- Chávez-Santoscoy, R. A., J. A. Gutiérrez-Urbe, S. O. Serna-Saldivar, and E. Perez-Carrillo. 2016. Production of maize tortillas and cookies from nixtamalized flour enriched with anthocyanins, flavonoids and saponins extracted from black bean (*Phaseolus vulgaris*) seed coats. *Food Chem.* 192:90–97.
- Cho, W. Il, J. Y. Yi, and M. S. Chung. 2016. Pasteurization of fermented red pepper paste by ohmic heating. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 34:180–186.
- Contreras-Jiménez, B., E. Morales-Sánchez, M. L. Reyes-Vega, and M. Gaytán-Martínez. 2014. Propiedades funcionales de harinas de maíz nixtamalizado obtenidas por extrusión a baja temperatura. *CYTA - J. Food.* 12:263–270.
- Corrales-Bañuelos, A. B., E. O. Cuevas-Rodríguez, J. A. Gutiérrez-Urbe, E. M. Milán-Noris, C. Reyes-Moreno, J. Milán-Carrillo, and S. Mora-Rochín. 2016. Carotenoid composition and antioxidant activity of tortillas elaborated from pigmented maize landrace by traditional nixtamalization or lime cooking extrusion process. *J. Cereal Sci.* 69:64–70.
- Cozzolino, D. 2016. The use of the rapid visco analyser (RVA) in breeding and selection of cereals. *J. Cereal Sci.* 70:282–290.
- Cuellar, M. 2014. Desarrollo, evaluación nutrimental y nutraceutica de una botana horneada a partir de harina de maíz (*Zea mays* L.) nixtamalizado y frijol común (*Phaseolus*

- vulgaris* L.) cocido. Tesis de grado: Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Autónoma de Querétaro, QRO.
- Demirdöven, A., and T. Baysal. 2014. Optimization of ohmic heating applications for pectin methylesterase inactivation in orange juice. *J. Food Sci. Technol.* 51:1817–1826.
- FAO. 1993. El maíz en la nutrición humana. <http://www.fao.org/docrep/T0395S/T0395S00.htm>. (Accessed 22 August 2017).
- FAO. 2014. Statistics Division. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>. (Accessed 22 August 2017).
- Figueroa-Cárdenas, J. D., M. G. Acero-Godínez, N. L. Vasco-Méndez, A. Lozano-Guzmán, L. M. Flores-Acosta, and J. González-Hernández. 2001. Fortificación y evaluación de tortillas de nixtamal. *Arch. Latinoam. Nutr.* 51:293–302.
- Felker, F. C., J. A. Kenar, J. A. Byars, M. Singh, and S. X. Liu. 2018. Comparison of properties of raw pulse flours with those of jet-cooked, drum-dried flours. *LWT - Food Sci. Technol.* 96:648–656.
- Fernández-Escartín, E. 2000. Microbiología e inocuidad microbiana de los alimentos. Ed. Universidad Autónoma de Querétaro, QRO.
- Flores-Farías, R., F. Martínez-Bustos, and Y. Salinas-Moreno and E. Ríos. 2002. Characterization of commercial nixtamalized maize flours. *Agrociencia.* 36:557-567.
- Martínez-Flores, H. E., M. Gaytán-Martínez, J. D. Figueroa-Cárdenas, F. Martínez-Bustos, M. L. Reyes-Vega, and A. Rodríguez-Vidal. 2004. Effect of some preservatives on shelf-life of corn tortillas obtained from extruded masa. *Agrociencia.* 38:285-292.
- Gally, T., O. Rouaud, V. Jury, M. Havet, A. Ogé, and A. Le-Bail. 2017. Proofing of bread dough assisted by ohmic heating. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 39:55–62.
- García-Depraect, O., J. Gómez-Romero, E. León-Becerril, and A. López-López. 2017. A novel biohydrogen production process: Co-digestion of vinasse and Nejayote as complex raw substrates using a robust inoculum. *Int. J. Hydrogen Energy.* 42:5820–5831.
- García-Díaz, S., C. Hernández-Jaimes, H. B. Escalona-Buendía, L. A. Bello-Pérez, E. J. Vernon-Carter, and J. Álvarez-Ramírez. 2016. Effects of CaCO<sub>3</sub> treatment on the morphology, crystallinity, rheology and hydrolysis of gelatinized maize starch dispersions. *Food Chem.* 207:139–147.

- García-Zamora, J. L., M. Sánchez-González, J. A. Lozano, J. Jáuregui, T. Zayas, V. Santacruz, F. Hernández, and E. Torres. 2015. Enzymatic treatment of wastewater from the corn tortilla industry using chitosan as an adsorbent reduces the chemical oxygen demand and ferulic acid content. *Process Biochem.* 50:125–133.
- Gaytán-Martínez, M., J. D. Figueroa-Cárdenas, E. Morales-Sánchez., P. A. Vázquez-Landaverde, and H. E. Martínez-Flores. 2011. Physicochemical properties of masa and corn tortilla made by ohmic heating. *African Journal of Biotechnology.* 10:16028-16036.
- Gaytán-Martínez, M., J. D. Figueroa-Cárdenas, P. A. Vázquez-Landaverde, E. Morales-Sánchez., H. E. Martínez-Flores, and M. L. Reyes-Vega. 2012. Physicochemical, functional, and chemical characterization of nixtamalized corn flour obtained by ohmic heating and traditional process. *CyTA - Journal of Food.* 10:182-195.
- Giménez, A., A. Gagliardi, and G. Ares. 2017. Estimation of failure criteria in multivariate sensory shelf life testing using survival analysis. *Food Res. Int.* 99:542–549.
- De Girolamo, A., V. M. T. Lattanzio, R. Schena, A. Visconti, and M. Pascale. 2016. Effect of alkaline cooking of maize on the content of fumonisins B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> and their hydrolysed forms. *Food Chem.* 192:1083–1089.
- Gómez-Aldapa, C. A., E. Rangel-Vargas, A. M. Cruz Gálvez, A. D. Román-Gutiérrez, and J. Castro-Rosas. 2013. Presence of coliform bacteria, fecal coliforms, *Escherichia coli* and *Salmonella* on corn tortillas in central Mexico. *Food Control.* 32:31–34.
- Hoseney, R. C. 1991. *Principios de Ciencia y Tecnología de los Cereales*. Ed. Acribia, Zaragoza.
- Hoyos-Leyva, J. D., L. A. Bello-Pérez, J. Álvarez-Ramírez, and E. Agama-Acevedo. 2017. Structural characterization of aroid starches by means of chromatographic techniques. *Food Hydrocoll.* 69:97–102.
- Hradecky, J., E. Kludská, B. Belkova, M. Wagner, and J. Hajslova. 2017. Ohmic heating: A promising technology to reduce furan formation in sterilized vegetable and vegetable/meat baby foods. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 43:1–6.
- Ito, R., M. Fukuoka, and N. Hamada-Sato. 2014. Innovative food processing technology using ohmic heating and aseptic packaging for meat. *Meat Sci.* 96:675–681.

- Jaeger, H., A. Roth, S. Toepfl, T. Holzhauser, K. H. Engel, D. Knorr, R. F. Vogel, N. Bandick, S. Kulling, V. Heinz, and P. Steinberg. 2016. Opinion on the use of ohmic heating for the treatment of foods. *Trends Food Sci. Technol.* 55:84–97.
- Janve, B., W. Yang, A. Kozman, C. Sims, A. Teixeira, M. A. Gunderson, and T. M. Rababah. 2013. Enhancement of Corn Nixtamalization by Power Ultrasound. *Food Bioprocess Technol.* 6:1269–1280.
- Jiménez-Pérez, C., G. Ramírez-Romero, and S. H. Morán-Bañuelos. 2015. Instant flour from red and blue nixtamalized maize: Production and textural properties of tortilla. *J. Food Process. Preserv.* 39:38–46.
- Kanjanapongkul, K. 2017. Rice cooking using ohmic heating: Determination of electrical conductivity, water diffusion and cooking energy. *J. Food Eng.* 192:1–10.
- Khan, I., C. N. Tango, S. Miskeen, B. H. Lee, and D. H. Oh. 2017. Hurdle technology: A novel approach for enhanced food quality and safety – A review. *Food Control.* 73:1426–1444.
- Kim, S. S., W. Choi, and D. H. Kang. 2017. Application of low frequency pulsed ohmic heating for inactivation of foodborne pathogens and MS-2 phage in buffered peptone water and tomato juice. *Food Microbiol.* 63:22–27.
- Kim, S. S., and D. H. Kang. 2015. Comparison of pH effects on ohmic heating and conventional heating for inactivation of *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium and *Listeria monocytogenes* in orange juice. *LWT - Food Sci. Technol.* 64:860–866.
- Lascorz, D., E. Torella, J. G. Lyng, and C. Arroyo. 2016. The potential of ohmic heating as an alternative to steam for heat processing shrimps. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 37:329–335.
- Liu, K., X. Wang, and M. Young. 2014. Effect of bentonite/potassium sorbate coatings on the quality of mangos in storage at ambient temperature. *J. Food Eng.* 137:16–22.
- Liu, T., G. G. Hou, M. Cardin, L. Marquart, and A. Dubat. 2017. Quality attributes of whole-wheat flour tortillas with sprouted whole-wheat flour substitution. *LWT - Food Sci. Technol.* 77:1–7.



- Liu, T., G. G. Hou, B. Lee, L. Marquart, and A. Dubat. 2016. Effects of particle size on the quality attributes of reconstituted whole-wheat flour and tortillas made from it. *J. Cereal Sci.* 71:145–152.
- Mauricio-Sánchez, R. A., J. D. Figueroa-Cárdenas, S. Taba, M. L. Reyes-Vega, F. Rincón-Sánchez and A. Mendoza-Galván. 2004. Characterization of maize accessions by grain and tortilla quality traits. *Rev. Fitotec. Mex.* 27:213-222.
- Mariscal-Moreno, R. M., J. D. Figueroa-Cárdenas, D. Santiago-Ramos, G. A. Villa, S. J. Sandoval, P. Rayas-Duarte, J. J. Véles-Medina, and H. E. Martínez-Flores. 2015. The effect of different nixtamalization processes on some physicochemical properties, nutritional composition and glycemic index. *J. Cereal Sci.* 65:140–146.
- Méndez-Albores, A., D. A. Cárdenas-Rodríguez, and A. Vázquez-Duran. 2014. Efficacy of Microwave-Heating during Alkaline Processing of Fumonisin-Contaminated Maize. *Iran. J. Public Health.* 43:147–155.
- Méndez-Albores, A., R. A. Martínez-Morquecho, E. Moreno-Martínez, and A. Vázquez-Durán. 2012. Technological properties of maize tortillas produced by microwave nixtamalization with variable alkalinity. *African J. Biotechnol.* 11:15178–15187.
- Ménera-López, I., M. Gaytán-Martínez, M. L. Reyes-Vega, E. Morales-Sánchez, and J. D. Figueroa-Cárdenas-. 2013. Physico-chemical properties and quality assessment of corn flour processed by a continuous ohmic heating system and traditional nixtamalization. *CYTA - J. Food.* 11:8–14.
- Mesías, M., M. Wagner, S. George, and F. J. Morales. 2016. Impact of conventional sterilization and ohmic heating on the amino acid profile in vegetable baby foods. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 34:24–28.
- 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. *Plants Foods for Human Nutrition* 59:35-44.
- Mohammadzadeh-Aghdash, H., Y. Sohrabi, A. Mohammadi, D. Shanebandi, P. Dehghan, and J. E. Nazhad-Dolatabadi. 2018. Safety assessment of sodium acetate, sodium diacetate and potassium sorbate food additives. *Food Chem.* 257:211–215.
- Montgomery, D. 2004. *Diseño y análisis de experimentos*. 2nd edición. Limusa-Wiley, NY.

- Morales, J. C., and R. A. Garcia-Zepeda. 2017. Effect of Different Corn Processing Techniques in the Nutritional Composition of Nixtamalized Corn Tortillas *Journal of Nutrition & Food Sciences*. 7:1-7.
- Morales-Sánchez, E., J. D. Figueroa-Cárdenas, and M. Gaytán-Martínez. 2010. Proceso y aparato cocedor de calentamiento óhmico continuo para obtener masa y harina de maíz nixtamalizado y productos derivados. Patente Mexicana: MX/a/2010/004151.
- Nicoli, M. 2012. An Introduction to Food Shelf Life: Definitions, Basic Concepts, and Regulatory Aspects. In *Shelf life assessment of food*. CRC Press, Boca Raton, FL. p. 1-16.
- NMX-F-046-S-1980. 1980. Harina de maíz nixtamalizado Norma Mexicana. Dirección General de Normas. <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-046-S-1980.PDF>. (Accessed 6 february 2019).
- NOM-111-SSA1-1994. 1994. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. Secretaria de Salud. <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/111ssa14.html>. (Accessed 6 february 2019).
- NOM-187-SSA1/SCF1-2002. 2002. Masa, tortillas, tostadas y harinas preparadas para su elaboración y establecimientos donde se procesan. Especificaciones sanitarias. Información comercial. Métodos de prueba. Secretaria de Salud. <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/187ssa1scfi02.html>. (Accessed 6 february 2019).
- NOM-092-SSA1-1994. 1994. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. Secretaria de Salud. <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/092ssa14.html>. (Accessed 6 february 2019).
- NOM-247-SSA1-2008. 2008. Cereales, harinas de cereales, sémolas o semolinas. Alimentos a base de: cereales, semillas comestibles, de harinas, sémolas o semolinas o sus mezclas. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales. Métodos de prueba. Secretaria de Salud. [http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/NOMcereales\\_12434.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/NOMcereales_12434.pdf). (Accessed 6 february 2019).
- NOM-110-SSA1-1994. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Secretaria de Salud.

- <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/110ssa14.html>. (Accessed 6 february 2019).
- Ordaz-Ortiz, J. J., and M. G. Vázquez-Carrillo. 1997. Shelf-life and sensorial evaluation of corn tortillas, made with preservatives and texture conditioners. *Arch. Latinoam. Nutr.* 47:372-376.
- Pardhi, S. D., B. Singh, G. A. Nayik, and B. N. Dar. 2016. Evaluation of functional properties of extruded snacks developed from brown rice grits by using response surface methodology. *J. Saudi Soc. Agric. Sci.* 20:1:11.
- Pereira, R. N., R. M. Rodríguez, Z. Genisheva, H. Oliveira, V. de Freitas, J. A. Teixeira, and A. A. Vicente. 2016. Effects of ohmic heating on extraction of food-grade phytochemicals from colored potato. *LWT - Food Sci. Technol.* 74:493–503.
- Pérez-Flores, G. C., E. Moreno-Martínez, and A. Méndez-Albores. 2011. Effect of Microwave Heating during Alkaline-Cooking of Aflatoxin Contaminated Maize. *J. Food Sci.* 76:48–52.
- Platt-Lucero, L. C., B. Ramírez-Wong, P. I. Torres-Chávez, J. López-Cervantes, D. I. Sánchez-Machado, E. Carvajal-Millan, F. Martínez-Bustos, A. Quintero-Ramos, and I. Morales-Rosas. 2013. Effect of xylanase on extruded nixtamalized corn flour and tortilla: Physicochemical and rheological characteristics. *J. Food Process Eng.* 36:179–186.
- Ramírez-Jiménez, A. K., J. Rangel-Hernández, and E. Morales-Sánchez, G. Loarca-Piña and M. Gaytán-Martínez. 2019. Changes on the phytochemicals profile of instant corn flours obtained by traditional nixtamalization and ohmic heating process. *Food Chem.* 276:57–62.
- Ramírez-Moreno, E., M. Córdoba-Díaz, M. C. Sánchez-Mata, C. D. Marqués, and I. Goñi. 2015. The addition of cladodes (*Opuntia ficus indica* L. Miller) to instant maize flour improves physicochemical and nutritional properties of maize tortillas. *LWT - Food Sci. Technol.* 62:675–681.
- Rangel-Hernández, J. 2017. Efecto de las condiciones de procesamiento en la calidad nixtamalera, química y nutraceútica de harinas nixtamalizadas por un proceso de calentamiento óhmico continuo. Tesis de grado: Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Autónoma de Querétaro, QRO.

- Rani, P., A. Kumar, S. R. Purohit, and P. S. Rao. 2018. Impact of fermentation and extrusion processing on physicochemical, sensory and bioactive properties of rice-black gram mixed flour. *LWT - Food Sci. Technol.* 89:155–163.
- Reyes-Moreno, C., A. E. Ayala-Rodríguez, J. Milán-Carrillo, S. Mora-Rochín, J. A. López-Valenzuela, A. Valdez-Ortiz, O. Paredes-López, and R. Gutiérrez-Dorado. 2013. Production of nixtamalized flour and tortillas from amarantin transgenic maize lime-cooked in a thermoplastic extruder. *J. Cereal Sci.* 58:465–471.
- Rodríguez, L. 2013. Evaluación de propiedades fisicoquímicas y nutraceuticas de harina y tortilla elaboradas con un proceso de nixtamalización ecológica. Tesis de grado: Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Autónoma de Querétaro, QRO.
- Rodríguez-Martínez, N. A., M. G. Salazar-García, B. Ramírez-Wong, A. R. Islas-Rubio, L. C. Platt-Lucero, I. Morales-Rosas, R. Marquez-Melendez, and F. Martínez-Bustos. 2015. Effect of Malting and Nixtamalization Processes on the Physicochemical Properties of Instant Extruded Corn Flour and Tortilla Quality. *Plant Foods Hum. Nutr.* 70:275–280.
- Ryang, J. H., N. H. Kim, B. S. Lee, C. T. Kim, and M. S. Rhee. 2016. Destruction of *Bacillus cereus* spores in a thick soy bean paste (doenjang) by continuous ohmic heating with five sequential electrodes. *Lett. Appl. Microbiol.* 63:66–73.
- Sahai, D., J. P. Mua, I. Surjewan, M. O. Buendia, M. Rowe, and D. S. Jackson. 2001. Alkaline processing (nixtamalization) of white Mexican corn hybrids for tortilla production: Significance of corn physicochemical characteristics and process conditions. *Cereal Chem.* 78:116–120.
- Sakr, M., and S. Liu. 2014. A comprehensive review on applications of ohmic heating (OH). *Renew. Sustain. Energy Rev.* 39:262–269.
- Santana-Gálvez, J., E. Pérez-Carrillo, H. H. Velázquez-Reyes, L. Cisneros-Zevallos, and D. A. Jacobo-Velázquez. 2016. Application of wounding stress to produce a nutraceutical-rich carrot powder ingredient and its incorporation to nixtamalized corn flour tortillas. *J. Funct. Foods.* 27:655–666.
- Santiago-Ramos, D., J. D. Figueroa-Cárdenas, J. J. Véles-Medina, R. M. Mariscal-Moreno, R. Reynoso-Camacho, M. Ramos-Gómez, M. Gaytán-Martínez, and E. Morales-

- Sánchez. 2015. Resistant starch formation in tortillas from an ecological nixtamalization process. *Cereal Chem.* 92:185–192.
- Santos, E. M., A. Quintanar-Guzmán, J. Solorza-Feria, I. Sánchez-Ortega, J. A. Rodríguez, and Y. J. Wang. 2014. Thermal and rheological properties of masa from nixtamalized corn subjected to a sequential protein extraction. *J. Cereal Sci.* 60:490–496.
- Sarifudin, A., and A. M. Assiry. 2014. Some physicochemical properties of dextrin produced by extrusion process. *J. Saudi Soc. Agric. Sci.* 13:100–106.
- Sarkis, J. R., G. D. Mercali, I. C. Tessaro, and L. D. F. Marczak. 2013. Evaluation of key parameters during construction and operation of an ohmic heating apparatus. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 18:145–154.
- Serna-Saldívar, S. O., and C. A. Amaya-Guerra. 2008. El papel de la tortilla nixtamalizada en la nutrición y la alimentación. In: *Nixtamalización del maíz a la tortilla: aspectos nutrimentales y toxicológicos*. Universidad Autónoma de Querétaro, QRO. p. 105–151.
- Singh, R. P. 2000. Scientific principles of shelf-life evaluation. In: *Shelf-Life Evaluation of Foods*. Springer US, NY. p. 3-22.
- Statista. (2019). Worldwide production of grain 2017/18. <https://www.statista.com/statistics/263977/world-grain-production-by-type/>.(Accessed 6 february 2019).
- Tian, X., Q. Yu, L. Shao, X. Li, and R. Dai. 2018. Sublethal injury and recovery of *Escherichia coli* O157:H7 after ohmic heating. *Food Control.* 94:85–92.
- Treviño-Mejía, D., D. A. Luna-Vital, M. Gaytán-Martínez, S. Mendoza, and G. Loarca-Piña. 2016. Fortification of Commercial Nixtamalized Maize (*Zea mays* L.) with Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Increased the Nutritional and Nutraceutical Content of Tortillas without Modifying Sensory Properties. *J. Food Qual.* 39:569–579.
- Valderrama-Bravo, C., Y. López-Ramírez, S. Jiménez-Ambriz, A. Oaxaca-Luna, A. Domínguez-Pacheco, C. Hernández-Aguilar, and E. Moreno-Martínez. 2015. Changes in chemical, viscoelastic, and textural properties of nixtamalized dough with nejayote. *LWT - Food Sci. Technol.* 61:496–502.
- Vamadevan, V., E. Bertoft, D. V. Soldatov, and K. Seetharaman. 2013. Impact on molecular organization of amylopectin in starch granules upon annealing. *Carbohydr. Polym.* 98:1045–1055.

- Varghese, K. S., M. C. Pandey, K. Radhakrishna, and A. S. Bawa. 2012. Technology, applications and modelling of ohmic heating: a review. *J. Food Sci. Technol.* 51:2304–2317.
- Vázquez-Carrillo, M. G., D. Santiago-Ramos, M. Gaytán-Martínez, E. Morales-Sánchez, and M. de J. Guerrero-Herrera. 2015. High oil content maize: Physical, thermal and rheological properties of grain, masa, and tortillas. *LWT - Food Sci. Technol.* 60:156–161.
- Vega-Rojas, L. J., M. Contreras-Padilla, N. Rincón-Londoño, A. Del Real-López, R. M. Lima-García, N. Palacios-Rojas, and M. E. Rodríguez-García. 2016. The Effect of Maize Grain Size on the Physicochemical Properties of Isolated Starch, Crude Maize Flour and Nixtamalized Maize Flours. *Agric. Sci.* 7:114–125.
- Vega-Rojas, L. J., I. Rojas-Molina, E. Gutiérrez-Cortez, N. Rincón-Londoño, A. A. Acosta-Osorio, A. Del Real-López, and M. E. Rodríguez-García. 2017. Physicochemical properties of nixtamalized corn flours with and without germ. *Food Chem.* 220:490–497.
- Vittadini, E., E. Clubbs, T. H. Shellhammer, and Y. Vodovotz. 2004. Effect of high pressure processing and addition of glycerol and salt on the properties of water in corn tortillas. *J. Cereal Sci.* 39:109–117.
- Wan, C., S. Chen, L. Wen, D. J. Lee, and X. Liu. 2015. Formation of bacterial aerobic granules: Role of propionate. *Bioresour. Technol.* 197:489–494.
- Wang, C., J. Yang, X. Zhu, Y. Lu, Y. Xue, and Z. Lu. 2017. Effects of Salmonella bacteriophage, nisin and potassium sorbate and their combination on safety and shelf life of fresh chilled pork. *Food Control.* 73:869–877.
- Wang, L., J. Xu, X. Fan, Q. Wang, P. Wang, J. Yuan, Y. Yu, Y. Zhang, and L. Cui. 2018. Characterization of branched limit dextrin and impact on corn starch pasting properties. *Food Hydrocoll.* 79:55–62.
- Watson, S. A. 2003. Structure and composition. In: *Corn: chemistry and technology*. American Association of Cereal Chemists, St Paul, MN. p. 53-82.
- Webber, R. 2008. Shelf life extension of corn tortilla. Tesis de grado: Master Science. Kansas State University, KS.

- Weiss, J., M. Loeffler, and N. Terjung. 2015. The antimicrobial paradox: Why preservatives loose activity in foods. *Curr. Opin. Food Sci.* 4:69–75.
- Wongsa-NGasri, P., and S. K. Sastry. 2016. Tomato peeling by ohmic heating: Effects of lye-salt combinations and post-treatments on weight loss, peeling quality and firmness. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 34:148–153.
- Xie, W.-Q., K.-X. Yu, and Y.-X. Gong. 2018. Measurement of water absorption capacity in wheat flour by a headspace gas chromatographic technique. *J. Sep. Sci.* 41.

## ANEXOS

### **Productos obtenidos.**

Los resultados obtenidos durante el presente proyecto de tesis permitieron obtener los siguientes productos:

- ❖ Publicación del review en la revista Trends in Food Science and Technology (Volumen 85, marzo 2019, páginas: 34-43) con título: “Alternative technologies to the traditional nixtamalization process: Review”
- ❖ Presentación de póster en el 11° Coloquio de Investigación y Posgrado de la Facultad de Ingeniería (Santiago de Querétaro, Querétaro, 22-24 de noviembre de 2017) con título: “Extensión de la vida de anaquel de tortillas elaboradas con harina de maíz nixtamalizada obtenida por calentamiento óhmico utilizando conservadores”.
- ❖ Presentación oral de artículo científico en el 12° Coloquio de Investigación y Posgrado de la Facultad de Ingeniería (Santiago de Querétaro, Querétaro, 21-23 de noviembre de 2018) con título: “Efecto de la adición de mezclas de conservadores sobre la vida de anaquel de tortilla producida con harina de maíz nixtamalizada obtenida por calentamiento óhmico”.