



Instituto Politécnico Nacional

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIA
APLICADA Y TECNOLOGÍA AVANZADA

UNIDAD QUERÉTARO
POSGRADO EN TECNOLOGÍA AVANZADA

**OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO TÉRMICO-ALCALINO
EN FUNCIÓN DE LAS TRANSFORMACIONES
INDUCIDAS EN LOS LÍPIDOS DEL MAÍZ EVALUADAS
CON TÉCNICAS ÓPTICAS Y FISICOQUÍMICAS**

TESIS
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN TECNOLOGÍA AVANZADA

PRESENTA
M.C. Berenice Yahuaca Juárez

Directores de Tesis
Dr. Jorge Adalberto Huerta Ruelas
Dr. Héctor Eduardo Martínez Flores



Santiago de Querétaro, Qro., 11 de enero del 2013



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Querétaro siendo las 14:00 horas del día 04 del mes de diciembre del 2012 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICATA-Qro para examinar la tesis titulada:

Optimización del proceso térmico-alcálico en función de las transformaciones inducidas en los lípidos del maíz evaluadas con técnicas ópticas y fisicoquímicas

Presentada por el alumno:

Yahuaca Juárez Berenice
Apellido paterno Apellido materno
Nombre(s)

Con registro:

A	0	9	0	0	7	2
---	---	---	---	---	---	---

aspirante de:

Doctorado en Tecnología Avanzada

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Directores de tesis

Dr. Jorge A. Huerta Ruelas

Dr. Héctor E. Martínez Flores

Dr. Reynaldo C. Pless Eling

Dr. Pedro A. Vázquez Landaverde

Dr. Luis A. Bello Pérez

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

Dr. Jorge A. Huerta Ruelas



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de Querétaro, Qro., el día 5 del mes de diciembre del año 2012, el (la) que suscribe M.C. Berenice Yahuaca Juárez alumno (a) del Programa de Doctorado en Tecnología Avanzada con número de registro A090072, adscrito al Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada, Querétaro, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de Dr. Jorge A. Huerta Ruelas y el Dr. Héctor Eduardo Martínez Flores y cede los derechos del trabajo intitulado **Optimización del proceso térmico-alcálico en función de las transformaciones inducidas en los lípidos del maíz evaluadas con técnicas ópticas y fisicoquímicas** al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección Cerro Blanco No. 141, Col. Colinas del Cimatarío, Santiago de Querétaro, Qro., México. CP 76090, e-mail: jhuertar@ipn.mx y/o yajuabe@yahoo.com.mx. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.


M.C. Berenice Yahuaca Juárez

Bendita labor del científico, bendita su alma inquieta, que le permite, con base en la investigación y a través de las letras, formar palabras, líneas, párrafos, hojas completas manchadas de tinta fresca y olorosa aún, documentos breves y libros grandes, los cuales tienen forma propia, cuerpo, motricidad, alas para volar y penetrar en quien es capaz de leerlos, succionarlos visualmente, olerlos, degustarlos y tocarlos hasta lograr su desnudez total, hasta descubrir sus más íntimos secretos, hasta palpar su corazón latiendo precipitadamente al derramar significados en cada frase.....

DEDICATORIA

A la prueba más viva y latente de mi amor incondicional y compasivo, a mí aliento de vida, a mi mayor y principal satisfacción, mi hijo, *Oscar Jesús*,
“Mi cielo hermoso”

Con amor a *Ma. Eugenia*, mi madre, mujer incansable, de gran ímpetu, mi fortaleza incondicional, promotora del comienzo y la conclusión de este sueño,
“Mis ojos tus ojos”

A mi padre, *Ismael*, hombre entero, sabio, de una dulzura infinita, impulsor de vida, el cobijo de mi espíritu,
“Tú Florecita”

Al ejemplo más fiel de que la amistad es capaz de traspasar la piel hasta llegar a la sangre y adentrarse en el corazón, mi hermana del alma, la Dra. Montserrat Hernández Iturriaga
Mi *Montse*, “Siempre contigo”

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH), al Programa de Mejoramiento del Profesorado (PROMEP) y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por las facilidades otorgadas y el apoyo económico brindado para alcanzar mi meta.

A continuación, en unas breves líneas he de sintetizar mi sentida y sincera gratitud y reconocimiento hacia quienes caminaron junto a mí en este arduo trayecto. Sin ellas, hubiese sido del todo imposible afrontar con éxito la elaboración de este proyecto, en el que tanta ilusión he depositado.

Con especial atención y admiración, quiero dejar constancia de mi agradecimiento a mis asesores, el **Dr. Héctor Eduardo Martínez Flores** y el **Dr. Jorge Adalberto Huerta Ruelas**, a quienes nunca podré corresponder como merecerían, estos años de conocimiento y sabiduría empleados en mi formación y porque además supieron trasmitirme su pasión e ilusión para despertar aún más en mí el gusto y el sentido por la investigación. Por si no fuera suficiente la deuda de gratitud que tengo contraída con ambos, me han distinguido al dirigir este trabajo, honrándome cada día con su personal trato y afecto, además de su inestimable amistad. Gracias de corazón, por ser auténticos maestros de profesión y de vida.

Mi gratitud, para quienes formaron parte de mi Comité de Tesis: **Dr. Pedro A. Vázquez Landaverde**, **Dr. Reynaldo C. Pless Elling** y **Dr. Luis A. Bello Pérez**, por haber trabajado conmigo todo el tiempo necesario con una entrega y dedicación absoluta, sin duda alguna es bastante lo que aun me falta por aprender de Ustedes.

Un gracias sincero al **Dr. Juan de Dios Figueroa Cárdenas**, quien por reiterada ocasión y de forma generosa, volvió a abrirme las puertas de su laboratorio, poniendo a disposición absoluta el equipo y el personal para llevar a cabo la preparación de las harinas de maíz nixtamalizadas.

De forma personal mi reconocimiento al **Dr. Gonzálo Velázquez de la Cruz**, por su ayuda desmedida y desinteresada, por su colaboración y asesoramiento para llevar a buen término este trabajo.

Al **M.C. Ramón Tello Santillán**, gracias amigo y compañero de trabajo, con quien paso a paso fuimos descubriendo el atractivo mundo de la nixtamalización.

Muy personalmente, correspondo con gran emotividad y cariño a mi tío, el **Dr. Fernando Juárez Aranda**, quien a lo largo de mi vida ha sido mi mayor ejemplo de profesionalismo, rectitud, honestidad y generosidad, emblema de mi entera admiración y respeto.

Finalmente, un extenso y sentido agradecimiento a mis compañeros y amigos de la UMSNH y de CICATA-Qro., quienes indudablemente siempre tuvieron palabras de aliento y motivación hacia mi persona.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	A
AGRADECIMIENTOS	C
ÍNDICE GENERAL	I
ÍNDICE DE FIGURAS	IV
ÍNDICE DE TABLAS.....	VI
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN.....	3
1.1 JUSTIFICACIÓN	4
1.2 HIPÓTESIS.....	6
1.3 OBJETIVOS	6
1.3.1 <i>Objetivo general</i>	6
1.3.2 <i>Objetivos específicos</i>	6
1.4 ESTRUCTURA DE LA TESIS	7
CAPÍTULO 2 ESTADO DEL ARTE	8
2.1 MAÍZ (<i>ZEA MAYS L.</i>)	8
2.1.1 <i>Principales componentes químicos del maíz</i>	10
2.1.2 <i>Importancia nutricional de los ácido grasos poliinsaturados</i>	14
2.2 NIXTAMALIZACIÓN.....	17
2.2.1 <i>Cambios durante la nixtamalización</i>	18
2.2.2 <i>Pérdidas de nutrientes por efecto de la nixtamalización</i>	20
2.2.3 <i>Oxidación de ácidos grasos</i>	24
2.3 GENERALIDADES DE LA OXIDACIÓN DE LOS AG POR EFECTO DE LA NIXTAMALIZACIÓN	29
2.3.1 <i>Técnicas de caracterización de ácidos grasos</i>	30
2.4 METODOLOGÍA PARA CONTROL DE PROCESOS	34
2.4.1 <i>Técnicas de caracterización óptica</i>	35
CAPÍTULO 3 MATERIALES Y MÉTODOS	38
3.1 DESCRIPCIÓN DE LA MATERIA PRIMA	38

3.2	PROCESO DE NIXTAMALIZACIÓN	38
3.2.1	<i>Cocción térmico-alkalina y reposo</i>	39
3.2.2	<i>Lavado del nixtamal, molienda y secado</i>	41
3.3	EXTRACCIÓN DE ACEITE (8).....	43
3.4	DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO	44
3.5	VALORACIÓN DE LA OXIDACIÓN DE LOS LÍPIDOS DEL MAÍZ NIXTAMALIZADO POR MÉTODOS INDIRECTOS	46
3.6	VALORACIÓN DE LA OXIDACIÓN DE LOS LÍPIDOS DEL MAÍZ NIXTAMALIZADO POR MÉTODOS DIRECTOS	49
3.7	CARACTERIZACIÓN EN LÍNEA DEL PROCESO DE NIXTAMALIZACIÓN POR MALLS.....	51
CAPÍTULO 4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	56
4.1	CARACTERIZACIÓN EN LÍNEA POR MALLS DEL PROCESO DE NIXTAMALIZACIÓN	56
4.2	EVALUACIÓN DE LA OXIDACIÓN DEL ACEITE DE HARINAS DE MAÍZ NIXTAMALIZADO POR MÉTODOS INDIRECTOS (2, 3, 7).....	63
4.2.1	<i>Índice de saponificación (IS)</i>	65
4.2.2	<i>Índice de acidez (IA)</i>	67
4.2.3	<i>Índice de peróxidos (IP) (9)</i>	69
4.2.4	<i>Índice de yodo (3)</i>	71
4.2.5	<i>Relación entre variables de respuesta IS, IA e IP</i>	73
4.2.6	<i>Condiciones del tratamiento térmico-alkalino en función de IS, IA e IP</i>	74
4.3	EVALUACIÓN DE LA OXIDACIÓN DEL ACEITE DE MAÍZ NIXTAMALIZADO POR MÉTODOS DIRECTOS	74
4.3.1	<i>Determinación de los coeficientes de extinción K_{232} y K_{270} (Espectroscopía UV/Vis)</i>	74
4.3.2	<i>Determinación por Espectroscopía infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) de la oxidación de los lípidos del maíz nixtamalizado</i>	81
4.3.3	<i>Perfil de AG (Cromatografía de gases, FAMES) (2)</i>	93
4.3.4	<i>Resonancia Magnética Nuclear (RMN)</i>	97
CAPÍTULO 5	CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	107
5.1	CONCLUSIONES.....	107
5.2	PERSPECTIVAS	108
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	110
	PUBLICACIONES	120
	ARTÍCULOS EN REVISTAS JCR.....	120
	ARTÍCULOS EN EXTENSO, MEMORIAS DE CONGRESOS INTERNACIONALES CON REFEREO	120
	ARTÍCULOS EN EXTENSO, MEMORIAS DE CONGRESOS NACIONALES CON REFEREO	120
	ANEXO 1	122

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 3-1. LOTES DE MAÍZ PARA SU COCCIÓN A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE HIDRÓXIDO DE CALCIO Y TIEMPOS DE REPOSO.....	40
FIGURA 3-2. REPOSO DEL MAÍZ COCIDO EN EL AGUA DE COCCIÓN (NEJAYOTE).....	40
FIGURA 3-3. NIXTAMAL LAVADO.....	41
FIGURA 3-4. MOLIENDA DEL NIXTAMAL Y OBTENCIÓN DE MASA.	42
FIGURA 3-5. REDUCCIÓN DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD DE LA MASA.	42
FIGURA 3-6. SECADOR TIPO FLASH–DRYER (A) Y HARINA NIXTAMALIZADAS (B).....	43
FIGURA 3-7 ESPECTRÓMETRO INFRARROJO POR TRANSFORMADA DE FOURIER.....	49
FIGURA 3-8 EQUIPO DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR.....	51
FIGURA 3-9. ESQUEMA DE LA CONFIGURACIÓN DEL SISTEMA ÓPTICO PARA LA TRANSMISIÓN Y MEDICIÓN DE LA DISPERSIÓN DE LA LUZ LÁSER.....	52
FIGURA 3-10. SISTEMA ÓPTICO MALLS PARA EL PROCESO DE NIXTAMALIZACIÓN.	55
FIGURA 4-1. EJEMPLOS DE LAS SEÑALES DE ESPARCIMIENTO OBTENIDAS CON EL ARREGLO DE FOTODIODOS DE: LA SUSPENSIÓN DE 0.5 % AMILOPECTINA/AGUA CALENTADA A: A) 30 °C, B) 70 °C Y LA SUSPENSIÓN DE 0.5 % AMILOPECTINA/0.25 % Ca(OH) ₂ CALENTADA A: C) 30 °C AND D) 70 °C.....	57
FIGURA 4-2. SEÑALES A) PIS (■) Y VARIANZA (□) COMO FUNCIÓN DE LA TEMPERATURA EN LA SUSPENSIÓN 0.5 % AMILOPECTINA-AGUA, B) SEÑAL PIS DURANTE LA SECUENCIA DE CALENTAMIENTO-ENFRIAMIENTO-CALENTAMIENTO DE LA SUSPENSIÓN 0.5 % AMILOPECTINA-AGUA. (■) CALENTAMIENTO (□) ENFRIAMIENTO.....	58
FIGURA 4-3. PIS EN FUNCIÓN DE LA TEMPERATURA (°C) EN UNA SUSPENSIÓN DE Ca(OH) ₂ -AGUA A DIFERENTES CONCENTRACIONES, MEDIDOS TAMBIÉN DURANTE EL ENFRIAMIENTO.	59
FIGURA 4-4. COMPARACIÓN DE LAS SEÑALES DE VARIANZA, PIS, DSC AND RVA EN FUNCIÓN DE LA TEMPERATURA (°C) EN, (■) AMILOPECTINA-AGUA, (□) AMILOPECTINA/Ca(OH) ₂ -AGUA.	60
FIGURA 4-5. PIS Y VARIANZA COMO FUNCIÓN DEL TIEMPO (H) EN LAS MUESTRAS A) CONTROL (AGUA, SUSPENSIÓN DE HIDRÓXIDO DE CALCIO-AGUA Y MAÍZ-AGUA) Y B) NEJAYOTE (0.43 %).	62
FIGURA 4-6. SUPERFICIE DE RESPUESTA DEL ÍNDICE DE SAPONIFICACIÓN EN ACEITE DE HARINA DE MAÍZ NIXTAMALIZADA.....	66
FIGURA 4-7. SUPERFICIE DE RESPUESTA DEL ÍNDICE DE ACIDEZ EN MUESTRAS DE ACEITE DE MAÍZ NIXTAMALIZADO.....	68
FIGURA 4-8 SUPERFICIE DE RESPUESTA DEL ÍNDICE DE PERÓXIDOS EN MUESTRAS DE ACEITE DE MAÍZ NIXTAMALIZADO.....	70
FIGURA 4-9. SUPERFICIE DE RESPUESTA DEL IY EN MUESTRAS DE ACEITE DE MAÍZ NIXTAMALIZADO.	72
FIGURA 4-10. ESPECTROS DE ABSORCIÓN UV/VIS DE LOS ACEITES DE HARINA DE MAÍZ NIXTAMALIZADA. *TRATAMIENTOS DE ACUERDO AL DCC (TABLA 3-2).....	75
FIGURA 4-11. SUPERFICIE DE RESPUESTA DE LOS ACEITES DE MAÍZ PROCESADO POR TRATAMIENTO ALCALINO: A) K ₂₃₂ , B) K ₂₇₀	78

FIGURA 4-12. ESPECTRO DE FT-IR DE ACEITE DE MAÍZ Y LISTADO DE LAS FRECUENCIAS A LAS CUALES SE LOCALIZAN LOS GRUPOS FUNCIONALES (VLACHOS Y COL., 2006).	82
FIGURA 4-13. COMPARACIÓN DEL ESPECTRO DE FTIR ENTRE UN ACEITE DE MAÍZ NIXTAMALIZADO Y EL ACEITE CONTROL.	83
FIGURA 4-14. FTIR A UNA FRECUENCIA DE 3009 cm^{-1} RELACIONADA A LA CONFORMACIÓN <i>CIS</i> DE LAS DOBLES LIGADURAS EN LOS AG POLIINSATURADOS. (* TRATAMIENTOS DE ACUERDO A LA TABLA 3-2).	85
FIGURA 4-15. FTIR A UNA FRECUENCIA DE 1658 cm^{-1} RELACIONADA A -C=C- EN LOS AG POLIINSATURADOS. EL INCISO (9) CORRESPONDE AL PROMEDIO DE LOS PUNTOS CENTRALES. (* TRATAMIENTOS DE ACUERDO A LA TABLA 3-2).	87
FIGURA 4-16. FTIR A UNA FRECUENCIA DE 722 cm^{-1} RELACIONADA AL CH DEL DOBLE ENLACE <i>CIS</i> EN LOS AG POLIINSATURADOS. EL INCISO (9) CORRESPONDE AL PROMEDIO DE LOS PUNTOS CENTRALES. (* TRATAMIENTOS DE ACUERDO A LA TABLA 3-2).....	88
FIGURA 4-17. AMPLIACIÓN DE LOS ESPECTROS FTIR EN LA REGIÓN DE 1725 A 1765 cm^{-1} DE LOS ACEITES DE MAÍZ NIXTAMALIZADOS. EL INCISO (9) CORRESPONDE AL PROMEDIO DE LOS PUNTOS CENTRALES. (* TRATAMIENTOS DE ACUERDO A LA TABLA 3-2).....	89
FIGURA 4-18. FTIR EN UN RANGO DE FRECUENCIA DE 3350 A 3600 cm^{-1}	91
FIGURA 4-19. SUPERFICIE DE RESPUESTA PARA EL CONTENIDO DE A) ÁCIDO LINOLEICO Y B) ÁCIDO OLEICO DE LAS MUESTRAS DE ACEITE DE MAÍZ NIXTAMALIZADO.	96
FIGURA 4-20. ^1H RMN DEL ACEITE DE MAÍZ CONTROL, DESPLAZAMIENTO QUÍMICO DADO EN PPM.....	98
FIGURA 4-21. ÁTOMOS DE HIDRÓGENO DE LAS SEÑALES CARACTERÍSTICAS DE UN ESPECTRO ^1H RMN, EN UNA MOLÉCULA DE ÁCIDO LINOLEICO.....	99
FIGURA 4-22. EXPANSIÓN DE LA REGIÓN ENTRE 2.705 Y 2.825 PPM DEL ESPECTRO ^1H RMN DEL ACEITE DE MAÍZ CONTROL.	101
FIGURA 4-23. SUPERFICIE DE RESPUESTA DEL PORCENTAJE DE DEGRADACIÓN EN LA SEÑAL G CORRESPONDIENTE AL ÁCIDO LINOLEICO EN LAS MUESTRAS DE ACEITE DE MAÍZ NIXTAMALIZADO.	103
FIGURA 4-24. REGIÓN ESPECTRAL ASOCIADA A DIENOS CONJUGADOS. LAS FLECHAS INDICAN LAS SEÑALES DETECTADAS. * NÚMERO DE TRATAMIENTO DE ACUERDO AL DCC (TABLA 3-2).	104
FIGURA 4-25. REGIÓN ESPECTRAL ASOCIADA A HIDROPERÓXIDOS. LAS FLECHAS INDICAN LAS SEÑALES DETECTADAS. * NÚMERO DE TRATAMIENTO DE ACUERDO AL DCC (TABLA 3-2).	105

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 2-1. CLASIFICACIÓN BOTÁNICA DEL MAÍZ (FAO, 1993).....	8
TABLA 2-2. COMPOSICIÓN QUÍMICA PROXIMAL DE LAS PARTES PRINCIPALES DEL GRANO DE MAÍZ (%) (FAO, 1993).....	10
TABLA 2-3. CONTENIDO DE AG DEL ACEITE DE DIVERSAS VARIETADES DE MAÍZ (%) (FAO, 1993).....	12
TABLA 2-4. ÁCIDOS GRASOS SATURADOS EN DIFERENTES ACEITES (JOHNSON Y SAIKIA, 2009).....	13
TABLA 2-5. ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS EN ALGUNAS GRASAS Y ACEITES COMESTIBLES (JOHNSON Y SAIKIA, 2009).....	15
TABLA 3-1. RELACIÓN ENTRE EL ÍNDICE DE FLOTACIÓN DE GRANOS DE MAÍZ Y EL TIEMPO DE COCCIÓN TÉRMICO-ALCALINA	39
TABLA 3-2. ARREGLO EXPERIMENTAL USADO PARA LAS DIFERENTES COMBINACIONES DE NIXTAMALIZACIÓN: CONCENTRACIÓN DE HIDRÓXIDO DE CALCIO Y TIEMPO DE REPOSO.	45
TABLA 4-1. VARIABLES DE RESPUESTA OBTENIDOS EN EL ACEITE DE MAÍZ NIXTAMALIZADO PARA LOS 13 TRATAMIENTOS DE ACUERDO AL ARREGLO EXPERIMENTAL (TABLA 3-2).....	63
TABLA 4-2. COEFICIENTES DE REGRESIÓN Y ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LAS VARIABLES DE RESPUESTA IS, IA, IP, IY	64
TABLA 4-3. MATRIZ DE DISEÑO, COMBINACIÓN DE LAS VARIABLES EN LAS MUESTRAS EXPERIMENTALES Y VARIABLES DE RESPUESTA.	76
TABLA 4-4. ÁREA BAJO LA CURVA A 3009 cm^{-1} , 1658 cm^{-1} DE LOS 13 TRATAMIENTOS DE ACEITE DE MAÍZ NIXTAMALIZADO Y EL CONTROL.	86
TABLA 4-5. PERFIL DE AG DE LAS MUESTRAS DE ACEITE DE MAÍZ NIXTAMALIZADO PARA LOS 13 TRATAMIENTOS DE ACUERDO AL ARREGLO EXPERIMENTAL (TABLA 3-2).....	94
TABLA 4-6. GRUPOS FUNCIONALES DE ACUERDO A LAS SEÑALES DEL ESPECTRO ^1H RMN DEL ACEITE DE MAÍZ CONTROL (GUILLÉN Y GOICOECHEA, 2009).....	99
TABLA 4-7. PORCENTAJE DE DISMINUCIÓN DE LA SEÑAL G (FIGURA 4-20) ATRIBUIDA A LOS PROTONES METILÉNICOS EN LA POSICIÓN A EN REFERENCIA A DOS DOBLES ENLACES (ÁCIDO LINOLEICO).....	102

RESUMEN

La susceptibilidad a las reacciones de oxidación de los ácidos grasos (AG) del maíz durante el proceso térmico-alkalino (nixtamalización) está en función del grado de insaturación de los AG. En la oxidación se forman hidroperóxidos que originan aldehídos, cetonas, alcoholes, lactonas, e hidrocarburos. Para definir las condiciones del proceso térmico-alkalino en función del menor deterioro por oxidación de los AG del maíz, es necesario analizar los AG de interés y los productos de su deterioro, además de caracterizar el proceso con un sistema que identifique la etapa del proceso en la que se están efectuando dichas transformaciones. El objetivo de la presente tesis fue evaluar el efecto del tratamiento térmico-alkalino en relación a los cambios estructurales y bioquímicos de los lípidos del maíz, usando técnicas ópticas y fisicoquímicas. Se realizó el monitoreo en tiempo real de la nixtamalización a través de la caracterización del nejayote mediante la técnica óptica luz láser esparcida multiángulo (MALLS). Se efectuó la determinación del grado de oxidación del aceite de las harinas de maíz nixtamalizadas usando un diseño central compuesto, los factores de estudio fueron hidróxido de calcio (0.75, 1.5, 2.25 %) y tiempo de reposo (8, 12 y 16 h). El aceite se obtuvo por extracción directa con hexano. Las variables de respuesta se clasificaron en: a) Métodos indirectos: índices de, peróxidos (IP), saponificación (IS), yodo (IY), acidez (IA), y b) Métodos directos: coeficientes de extinción específica (K_{232} y K_{270}), espectroscopía infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR), ácidos grasos metil esterificados (FAMES) y resonancia magnética nuclear (^1H -RMN). Los resultados obtenidos por MALLS identificaron que la etapa crítica en la nixtamalización es la cocción, el reposo no muestra un cambio sustancial en los parámetros ópticos; sin embargo, no se descarta que se lleve a cabo una modificación en los componentes físicos y químicos del grano, entre ellos los AG. En la evaluación de la oxidación, los parámetros analizados sugieren que el proceso térmico-alkalino induce un deterioro oxidativo, particularmente a tiempos de reposo prolongados. La variable de mayor evidencia de que la estabilidad oxidativa del aceite de harinas de maíz nixtamalizado por el proceso térmico-alkalino es afectada fue el IP confirmado por K_{270} , FTIR y ^1H -RMN. En conclusión, el uso de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ a concentraciones menores o iguales a 0.75 % y tiempos de reposo inferiores a 12 h son indicadas para conseguir una mayor estabilidad oxidativa en el aceite de maíz cuando es expuesto al proceso térmico-alkalino.

Palabras clave: Nixtamalización, ácidos grasos, estabilidad oxidativa, MALLS, nejayote.

ABSTRACT

Susceptibility to the oxidation reactions of the fatty acids (FA) of maize during the thermal-alkaline process (nixtamalization) is defined by the degree of unsaturation of the FA. In the oxidation, hydroperoxides are formed which give rise to aldehydes, ketones, alcohols, lactones and hydrocarbons. In order to define nixtamalization conditions conducive to the lowest extent of oxidative FA damage, it is necessary to assay for the FA and their degradation products, and to characterize the process through a system that identifies the stage of the process in which these transformations occur. The purpose of this work was to evaluate the effect of the thermal-alkaline treatment in terms of the structural and biochemical changes in the maize lipids using physicochemical and optical techniques. We monitored the nixtamalization process in real time by characterizing the nejayote by multiangle laser light scattering (MALLS). The determination of the degree of oxidation of the nixtamalized corn flour oil was studied applying a central composite design. The study factors were calcium hydroxide (0.75, 1.5, 2.25 %) and steep time (8, 12 y 16 h). The oil was obtained by direct hexane extraction. The response variables were classified in: a) Indirect methods: peroxides index (PI), saponification index (SI), acid index (AI), iodine value (IV), and b) Direct methods: extinction coefficients at 232 nm and 270 nm (K_{232} y K_{270}), infrared spectroscopy fourier transform (FTIR), esterified fatty acid methyl (FAMES) and nuclear magnetic resonance (^1H -RMN). The results obtained by MALLS on nejayote identified that the critical stage in the nixtamalization process was the cooking, while the steep time did not denote any significant changes in the optical parameters, however, it is possible that at this stage changes in the physical and chemical components, including the FA, may originate. Regarding the oxidation analysis, the results indicate that the parameters analyzed in the corn oil suggest that the thermal-alkaline process induces an oxidative degradation, especially with prolonged steep times. The variable that showed most clearly that the oxidative stability of nixtamalized corn-oil flour was affected by the thermal-alkaline process was PI, as confirmed by K_{270} , FTIR y ^1H -RMN. In conclusion, the use of $\text{Ca}(\text{OH})_2$ at concentrations less than or equal to 0.75 % and steep time less than 12 hrs are indicated to achieve greater stability in corn oil when exposed to nixtamalization.

Key words: Nixtamalization, fatty acids, oxidative stability, MALLS, nejayote.

CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN

Del peso total del grano de maíz, el germen contribuye con el 5.5 % de aceite, compuesto por 85.7 % de ácidos grasos insaturados, como el ácido monoinsaturado oleico (Omega 9) (25.2 %) y los ácidos poliinsaturados linoleico (59.7 %) y linolénico (0.8 %) (Omega 6 y 3, respectivamente). Los ácidos linoleico y linolénico son esenciales para el ser humano. En la nixtamalización, el porcentaje de ácidos grasos (AG) disminuye debido a causas como: saponificación, pérdida de una porción del germen y oxidación, alterándose la cantidad y la calidad nutricional del producto final. El grado de insaturación de los AG define la susceptibilidad a reacciones de oxidación (JoeMin y col., 2007), a través de las cuales se forman compuestos primarios (peróxidos e hidroperóxidos) que dan origen a compuestos secundarios (aldehídos, cetonas, alcoholes, lactonas, e hidrocarburos, entre otros) (Chaiyasit y col., 2007). El conocimiento sobre las transformaciones de los lípidos en el nixtamal y en las harinas de maíz nixtamalizadas, sustentaría el hecho de que tales productos y sus derivados pueden ser una fuente no sólo de proteínas, calcio y energía, sino también de ácidos grasos esenciales (AGE), principalmente el Omega 6. Existen diversos métodos para evaluar el efecto de la nixtamalización sobre la estabilidad oxidativa del aceite de maíz. Los métodos indirectos contemplan los índices de yodo, de saponificación, de peróxidos y de acidez; entre los métodos directos están la cromatografía de gases por el perfil de AG (FAMES: Fatty Acids Methyl Esterified), resonancia magnética nuclear ($^1\text{H-RMN}$), y los métodos ópticos como UV/Vis y espectroscopía infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR).

La nixtamalización trae como consecuencia pérdidas de componentes físicos y químicos del grano de maíz, las cuales se incrementan con el tiempo de cocción, la concentración de hidróxido de calcio y el tiempo de reposo. La proporción de materia seca en el agua de cocimiento del maíz (nejayote) es de 8.5 a 12.5 %, constituida por fragmentos de pericarpio, almidón, proteínas, germen (AG) e hidróxido de calcio (Gutiérrez-Uribe y col., 2010). Por lo anterior, la cantidad y el tipo de compuestos que se depositan en el nejayote a lo largo del proceso, son indicativos directos de las pérdidas de nutrientes, e indirectos de las transformaciones deseables o no, ocurridas en el maíz durante la nixtamalización, pudiendo relacionarse a su vez directamente con el tiempo de cocción y el tiempo de reposo óptimos del grano de maíz durante la

nixtamalización. En este sentido, existen técnicas por monitoreo óptico en tiempo real para identificar los eventos ocurridos en un proceso particular (Mendoza-Sánchez y col., 2005; y Qing y col., 2007), convirtiéndose en una herramienta útil para caracterizar, por ejemplo, el proceso térmico-alkalino mediante el análisis del nejayote. La espectroscopía por esparcimiento multi-ángulo de la luz láser (MALLS) mide la cantidad de luz que se dispersa al pasar un haz de luz a través de un medio que contiene partículas en suspensión (Benitez y col., 2007). El grado de esparcimiento es determinado principalmente por la relación entre el tamaño de las partículas y la longitud de onda, y por la diferencia en el índice de refracción entre las partículas y el líquido circundante (Benitez y col., 2007). Fundamentado en lo anterior, la técnica MALLS puede implementarse en tiempo real para caracterizar las variables del proceso de nixtamalización a través del nejayote.

1.1 Justificación

El maíz es el cultivo más importante de la agricultura mexicana, no sólo por la relevancia que en materia de alimentación representa para la población, sino también por sus múltiples usos como materia prima en la industria, ya sea como insumo directo o los subproductos de éste. En materia de alimentación, las tortillas de maíz y sus derivados, continúan siendo la base de la alimentación en México y en algunas regiones de América Central. El mercado de tortilla de maíz y botanas se ha extendido a América del Norte y Europa (Martínez-Bustos y col., 2001; Méndez-Montealvo y col., 2008), el consumo per cápita de productos nixtamalizados en México, incluida la tortilla, es de 300 g sobre una base diaria (Ruiz-Gutiérrez y col., 2010). En México, el consumo de productos de maíz nixtamalizado individualmente o combinado con otros productos alimenticios ha ido en incremento, particularmente debido a sus atributos nutricionales y sensoriales (Ruiz-Gutiérrez y col., 2010). El proceso mediante el cual se obtienen dichos productos es la nixtamalización, que tradicionalmente involucra: cocimiento alcalino, reposo, lavado y molienda de los granos de maíz para producir masa. La masa es moldeada para formar la tortilla y esta es cocida a ≈ 250 °C (Rendón-Villalobos y col., 2009). Aun cuando la popularidad de los productos nixtamalizados va en aumento, son pocos los cambios que se han hecho en el proceso tradicional de nixtamalización, estos cambios en general están en función de la mejora de la calidad

sensorial del producto terminado (Milán-Carrillo y col., 2004), y de la transformación de sus componentes mayoritarios, principalmente el almidón.

Diversas investigaciones han mostrado la funcionalidad de los principales componentes químicos del maíz cuando es transformado por el proceso térmico-alkalino. Se ha mencionado que las alteraciones en la cristalinidad del almidón por la cocción y la posterior reasociación de la amilopectina durante la etapa de reposo, son los responsables de las propiedades reológicas de la masa. Los cambios en solubilidad y distribución del peso molecular de las fracciones proteicas durante el tratamiento térmico-alkalino del maíz han sido documentados (Ortega y col., 1986; Vivas y col., 1987), así como también las condiciones del proceso para facilitar la remoción del pericarpio durante la cocción térmico-alkalina y posterior reposo (Bressani y col., 1958; Gómez y col., 1989; Serna-Saldivar y col., 1993). En referencia a la fibra durante la nixtamalización, estudios indican que el maíz sin procesar contiene alrededor de 12 % de fibra dietética y después del tratamiento térmico-alkalino de 8 a 10 % (Martínez-Flores y col., 2002). Los estudios anteriores han contribuido a una mejor comprensión de la nixtamalización, sin embargo, no se ha hecho énfasis en la importancia de componentes liberados durante la hidrólisis alcalina con respecto a los lípidos localizados en el germen y el efecto que el proceso tiene sobre la calidad de los productos finales, como masa, tortillas y derivados.

Debido al alto consumo de maíz nixtamalizado en México y otras regiones, el nixtamal puede ser un vehículo de ingesta que contribuya con un porcentaje de AGE en la dieta, particularmente de ácido linoleico (Omega 6). Sin embargo, durante el tratamiento térmico-alkalino se producen transformaciones químicas en los lípidos, por lo que la calidad nutricional, en términos de AGE, puede afectarse. El grado de deterioro de los AG de interés nutricional está relacionado con las condiciones del proceso de nixtamalización como temperatura de cocción, concentración de la solución alcalina, y los tiempos de cocción y de reposo del maíz.

Para el establecimiento de las condiciones del proceso de nixtamalización en función del menor deterioro de los AG del maíz, es necesario además de efectuar el análisis de los AG de interés y de los compuestos producto del deterioro de ellos, caracterizar el proceso usando como herramienta, un sistema que identifique la etapa del proceso en la que se están efectuando dichas transformaciones.

1.2 Hipótesis

El tratamiento térmico-alkalino altera a los lípidos del maíz disminuyendo su valor nutricional, por lo que el conocimiento sobre las transformaciones de los lípidos del maíz nixtamalizado a diferentes condiciones de proceso y la caracterización en línea del nejayote, permitirán optimizar el proceso térmico-alkalino en función del menor deterioro de los lípidos.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Evaluar el efecto del tratamiento térmico-alkalino en relación a los cambios estructurales y bioquímicos de los lípidos del maíz usando técnicas ópticas y fisicoquímicas.

1.3.2 Objetivos específicos

- a) Evaluación de las transformaciones estructurales y bioquímicas ocurridas en los lípidos del maíz a diferentes condiciones de nixtamalización.
- b) Caracterización en línea por monitoreo óptico no invasivo del nejayote.
- c) Evaluación óptica de los lípidos procedentes del nixtamal elaborado a distintas condiciones de proceso.
- d) Determinación del perfil de AG del aceite procedente del nixtamal.
- e) Establecer las condiciones del proceso de nixtamalización a las cuales se minimicen las transformaciones oxidativas en los lípidos del maíz.

1.4 Estructura de la tesis

El presente documento se encuentra estructurado por cinco Capítulos, referencias bibliográficas, listado de las publicaciones derivadas de la investigación y anexos.

El Capítulo 1 enmarca la introducción que expone de forma general la importancia que reviste la nixtamalización y las transformaciones que ésta induce en los lípidos del maíz, así como la justificación del trabajo de investigación en términos de la optimización del proceso de nixtamalización en función del menor deterioro oxidativo de los AG. En otro apartado de este capítulo se presentan la hipótesis y los objetivos del proyecto en general y los específicos que delimitan el alcance de la investigación.

Dentro del Capítulo 2 se establece el estado del arte donde se analiza la importancia que tiene el maíz en la actualidad en materia de alimentación, la relevancia de sus componentes químicos a nivel nutricional, particularmente los AGE y el efecto que las condiciones de nixtamalización tienen sobre la susceptibilidad de éstos a la oxidación, modificando la calidad nutricional del nixtamal y sus derivados.

El Capítulo 3 se refiere a materiales y métodos, donde se desglosan por un lado, las características de la materia prima, el diseño estadístico de experimentos, la metodología seleccionada para la nixtamalización del maíz, la extracción del aceite por cada tratamiento y el sistema para monitoreo óptico en tiempo real del nejayote, y por otro lado, se describen los métodos de análisis utilizados para cada variable de respuesta así como su fundamento, finalmente se especifica la forma en que se realizó el análisis estadístico de los resultados obtenidos. El Capítulo 4 corresponde a la presentación de resultados y su discusión. En lo que se refiere al Capítulo 5 se establecen la conclusión y las perspectivas futuras.

En último lugar, se presentan tres apartados, el primero incluye las referencias bibliográficas que sustentan la información vertida en la presente tesis, el segundo contiene el listado de las publicaciones derivadas de los resultados obtenidos, entre ellas se destacan los artículos en revistas JCR, artículos en extenso, memorias de congresos nacionales e internacionales con refereo y en tercero se presenta el ANEXO 1 que incluye el artículo publicado en la revista Food Analytical Methods y el ANEXO 2 referente al artículo aceptado en la revista Plant Foods for Human Nutrition.

CAPÍTULO 2 ESTADO DEL ARTE

2.1 Maíz (*Zea mays* L.)

México es el cuarto productor de maíz en el mundo con un 3 % de la producción total. El primer lugar lo ocupa Estados Unidos (40 %), seguido por China (19 %) y Brasil (6 %). México tiene un consumo de maíz per cápita promedio de 349 g/día (Campo Mexicano, 2011), superado sólo por Lesotho y Malawi (FAO, 2009). El maíz (*Zea mays* L.) representa el cultivo agrícola más importante en México (González-Rojas y col., 2011) desde el punto de vista alimentario, industrial, social y político.

Características del cultivo

El maíz es una planta anual dotada de un sistema radicular fibroso. En la Tabla 2-1 se presenta la clasificación botánica del maíz.

Tabla 2-1. Clasificación Botánica del maíz (FAO, 1993).

Reino	<i>Plantae</i>
Clase	Angiosperma
Subclase	Monocotiledónea
Orden	Cereales
Familia	Gramíneas (<i>Gramineae</i>)
Nombre científico (género y especie)	<i>Zea mays</i> L.
Nombre común	Maíz

Estructuralmente, el grano está formado de cuatro partes principales: pericarpio, endospermo, germen y pedicelo. El peso total del grano corresponde a un 5 % de pericarpio, 83 % de endospermo (con un alto porcentaje de almidón), 11 % de germen, donde se concentra la grasa

cruda (33 %) (FAO, 1993). El pedicelo o capa terminal es la continuación del pericarpio y permite la unión del grano con el olote; representa menos del 0.5 % del grano (Paredes-López y col., 2009). Las partes estructurales del grano, la distribución de su composición química y su valor nutritivo, tienen relevancia cuando el maíz se procesa para consumo; a este respecto, y desde la perspectiva nutricional, es importante el contenido de AG.

Producción de maíz por variedad

El cultivo de maíz en México se caracteriza por la producción de una diversidad de variedades, por lo que es posible generar diversos productos finales entre los que destaca la tortilla (Campo Mexicano, 2011). Por lo general, en México se cultivan dos variedades: blanco y amarillo o forrajero. El maíz blanco es exclusivo para alimentación humana, en virtud de su alto contenido nutricional; en tanto que el maíz amarillo se destina al procesamiento industrial y a la alimentación animal. Los principales estados productores de maíz blanco son: Sinaloa (23 %), Jalisco (13 %); Michoacán, Chiapas y Guerrero contribuyen con el 7 % cada uno, Estado de México y Guanajuato con 6 % en cada caso; Veracruz, 5 % y Puebla con 4 % (Campo Mexicano, 2011). En varios estados de la República Mexicana el cultivo de maíz constituye el sustento directo de la población, de tal forma que se destina más del 50 % de la producción nacional al consumo humano de maíz blanco en forma de tortilla, elaborada a partir de masa de nixtamal o de harina de maíz nixtamalizada.

El uso de cada variedad depende de las características y calidad del grano, entre las que se incluyen rendimiento, propiedades físicas, químicas y tecnológicas, estas últimas se refieren a la estabilidad durante el almacenamiento, eficiencia de conversión a productos y cómo éstos son afectados por las condiciones de procesamiento, así como las características de aceptabilidad del consumidor (Rangel-Meza y col., 2004). Los tipos de granos de maíz cristalinos, semicristalinos, dentados y semidentados poseen características agronómicas que pueden tener una función importante en el uso de variedades, la industria para nixtamalización prefiere granos con endospermo duro (granos cristalinos) (Martínez-Herrera y Lachance, 2006; y Méndez-Montealvo y col., 2005) particularmente debido a su reducida pérdida de sólidos a lo largo del proceso

(Sefa-Deddeh y col., 2004), este atributo se define como la relación existente entre el endospermo duro y suave, el endospermo duro exhibe un contenido elevado de proteína, densidad y subsecuente fuerza (Paulsen y col., 2003).

2.1.1 Principales componentes químicos del maíz

Debido a su gran diversidad genética, a sus condiciones ambientales y de siembra, los maíces difieren en su composición química y por tanto en sus propiedades y uso final (Méndez-Montealvo y col., 2005; Paredes-López y col., 2009). La composición química tras la elaboración de productos de maíz para consumo, es un aspecto importante considerando el valor nutritivo y la calidad del producto terminado, en ella influyen la estructura física del grano, factores genéticos y ambientales, la elaboración y otros eslabones de la cadena alimenticia (FAO, 1993). Las partes principales del grano de maíz difieren considerablemente en su composición química (Tabla 2-2).

Tabla 2-2. Composición química proximal de las partes principales del grano de maíz (%) (FAO, 1993).

Componente químico	Pericarpio	Endospermo	Germen
Proteínas	3.7	8.0	18.4
Extracto etéreo	1.0	0.8	33.2
Fibra cruda	86.7	2.7	8.8
Cenizas	0.8	0.3	10.5
Almidón	7.3	87.6	8.3
Azúcar	0.34	0.62	10.8

Almidón, Proteínas, Fibra dietética y Cenizas

Los cereales están constituidos básicamente por almidón, el cual corresponde al 72-73 % del peso del grano de maíz y es almacenado principalmente en el endospermo y en una menor proporción en el germen y el pericarpio (Yáñez-Ortega, 2005). Otros hidratos de carbono son azúcares sencillos en forma de glucosa, sacarosa y fructosa, en cantidades que varían del 1 al 3 % del grano. La concentración de proteínas en el maíz varía entre 8-11 % con respecto al peso del grano, se encuentran localizadas en su mayoría en el germen y endospermo y se consideran de bajo nivel nutricional dado su bajo contenido de aminoácidos esenciales (FAO, 1993). El contenido de proteína varía de acuerdo al tipo de grano, es mayor en los granos del tipo dentado y semidentado que en los cristalinos y semicristalinos (Méndez-Montealvo y col., 2005). Los cereales son una fuente de fibra dietética, ésta se encuentra en el pericarpio, la piloriza, las paredes celulares del endospermo y, en menor cantidad, en las paredes del germen (FAO, 1993). La cantidad de cenizas varía entre 1.1 y 1.7 %, el germen es relativamente rico en minerales proporcionando cerca del 78 % de todos los minerales del grano (Méndez-Montealvo y col., 2005).

Lípidos

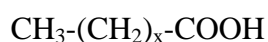
En general, los lípidos representan en promedio el 3-7 % del peso del grano entero, del cual el 83 % proviene del germen (Plascencia-González, 1998; Paredes-López y col., 2009). Los lípidos del maíz se encuentran principalmente como triglicéridos de AG (Plascencia-González, 1998). El aceite de maíz tiene un bajo nivel de ácidos grasos saturados (AGS): ácido palmítico (11 %) y esteárico (2 %). En cambio, contiene niveles relativamente altos de ácidos grasos insaturados (AGI) entre los que destacan el ácido oleico (25 – 35 %) que es monoinsaturado y ácido linoleico (50-60 %) y ácido linolénico (0.7 %) considerados poliinsaturados (Dupont y col., 1990, FAO, 1993). El ácido linoleico es un AGE en la nutrición humana y forma parte de un grupo de compuestos bioactivos asociados a los lípidos, todos ellos relacionados con nutrición y salud (Paredes-López y col., 2009). En la Tabla 2-3 se presenta el contenido de AG del aceite de diversas variedades de maíz (%).

Tabla 2-3. Contenido de AG del aceite de diversas variedades de maíz (%) (FAO, 1993).

Variedad de maíz	C16:0 Palmítico	C18:0 Esteárico	C18:1 Oleico	C18:2 Linoleico	C18:3 Linolénico
MPC Nutricia	15.71	3.12	36.45	43.83	0.42
Azotea	12.89	2.62	35.63	48.85	-
Xetzac	11.75	3.54	40.07	44.65	-
Blanco tropical	15.49	2.40	34.64	47.47	-
Santa Apolonia	11.45	3.12	38.02	47.44	-

Clasificación de los ácidos grasos

Los triglicéridos están compuestos predominantemente por AG en forma de ésteres de glicerol. Los AG predominantes son cadenas de carbonos saturados e insaturados, con un cierto número de átomos de carbono y un grupo carboxilo. A continuación se presenta la estructura general de un AGS (Johnson y Saikia, 2009):



Los AG en los aceites y grasas comestibles son clasificados de acuerdo a su grado de saturación en:

Ácidos grasos saturados

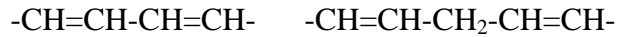
Se consideran AGS (Tabla 2-4) a aquellos que en su estructura contienen sólo enlaces sencillos carbono-carbono y no dobles ligaduras como es el caso de los ácidos grasos insaturados. Los AGS son poco reactivos químicamente.

Tabla 2-4. Ácidos grasos saturados en diferentes aceites (Johnson y Saikia, 2009).

Nombre sistemático	Nombre común	No. de átomos de carbono	Punto de fusión °C	Fuente
Butanoico	Butírico	4	-7.9	Grasa
Hexanoico	Caproico	6	-3.4	Grasa
Octanoico	Caprílico	8	16.7	Aceite de coco
Decanoico	Cáprico	10	31.6	Aceite de coco
Dodecanoico	Laurico	12	44.2	Aceite de coco
Tetradecanoico	Mirístico	14	54.4	Grasa, aceite de coco
Hexadecanoico	Palmítico	16	62.9	Diversas grasas y aceites
Heptadecanoico	Margárico	17	60	Grasas animales
Octadecanoico	Estearico	18	69.6	Diversas grasas y aceites
Eicosanoico	Araquídico	20	75.4	Aceite de cacahuete
Docosanoico	Beénico	22	80.0	Aceite de cacahuete

Ácidos grasos insaturados

Los AG que contienen uno o más dobles enlaces carbono-carbono se denominan “insaturados” AGI. El ácido oleico (ácido *cis*-9-octadecenoico) es el AG más común en la naturaleza. Cuando los AG contienen un solo doble enlace se denominan ácidos grasos monoinsaturados (MUFA: Monounsaturated Fatty Acids). Si éstos contienen más de un doble enlace, se denominan AG poliinsaturados (PUFA: Polyunsaturated Fatty Acids). Debido a la presencia de los dobles enlaces, los AGI son más reactivos químicamente que los AGS. Esta reactividad incrementa conforme incrementa el número de dobles enlaces. Normalmente los dobles enlaces ocurren en una posición no conjugada, sin embargo pueden ocurrir en una posición conjugada (alternando con un enlace simple):



Conjugado

No conjugado

Las grasas son mayormente susceptibles a la oxidación y polimerización cuando los dobles enlaces están en una posición conjugada. De los AG poliinsaturados, los ácidos linoleico, linolénico, araquidónico, eicosapentanoico y docosahexaenoico contienen dos, tres, cuatro, cinco y seis dobles enlaces respectivamente. Los aceites vegetales son la fuente principal de los ácidos linoleico y linolénico (Dyer y col., 2008). En la Tabla 2-5 se presenta una relación de AGI encontrados en grasas y aceites comestibles.

2.1.2 Importancia nutricional de los ácido grasos poliinsaturados

Los aceites vegetales como el de soya, girasol, cártamo, oliva, arroz, trigo y maíz entre otros tienen en su composición un bajo contenido de AGS y alto porcentaje de AGI con una configuración *cis* en sus dobles enlaces. Una de las ventajas del aceite de maíz radica en una mayor relación de los AGI con respecto a los AGS, atribuido principalmente al contenido de ácido linoleico (Alezones y col., 2010). Los ácidos grasos poliinsaturados (AGP) han recibido atención debido al beneficio que conllevan a la salud humana además de su susceptibilidad a la oxidación (Chaiyasit y col., 2007).

Los AGE son aquellos AG que el cuerpo no es capaz de sintetizar y requiere por tanto de obtenerlos de la dieta. Los AG esenciales son AGP de cadena larga derivados del ácido linolénico (Omega 3), linoleico (Omega 6) y ácido oleico (Omega 9). El Omega-9 no es un AGE, sin embargo, es necesario debido a que la cantidad que el propio organismo elabora es mínima teniendo que completarse el requerimiento a través de la dieta.

Proporcionalmente, el aceite de maíz contiene 61.9 % de ácido linoleico (Rendón-Villalobos y col., 2009). El ácido γ -linolénico es benéfico en diversas condiciones fisiológicas y patológicas tales como las enfermedades inflamatorias, cáncer y diabetes (Liu y col., 2001).

Tabla 2-5. Ácidos grasos insaturados en algunas grasas y aceites comestibles (Johnson y Saikia, 2009).

Nombre sistemático	Nombre común	No. de dobles enlaces	No. de átomos de carbono	Fuente
9-Decenoico	Caproleico	1	10	Grasa
9-Dodecenoico	Lauroleico	1	12	Grasa
9-Tetradecenoico	Miristoleico	1	14	Grasa
9-Hexadecenoico	Palmitoleico	1	16	Algunos aceites de pescado y grasa de carne
9-Octadecenoico	Oleico	1	18	Muchas grasas y aceites
9-Octadecenoico	Elaidico	1	18	Aceites parcialmente hidrogenados
11-Octadecenoico	Vaccenico	1	18	Grasa
9,12-Octadecadienoico	Linoleico	2	18	Muchos aceites vegetales
9,12,15-Octadecatrienoico	Linolénico	3	18	Aceites de soya y canola
9-Eicosenoico	Gadoleico	1	20	Aceite de algunos pescados
5,8,11,14-Eicosatetraenoico	Araquidónico	4	20	Grasa de cerdo
5,8,11,14,17-Eicosapentaenoico	--	5	20	Algunos aceites de pescado
13-Docosenoico	Erúcico	1	22	Aceite de semilla de colza
4, 7, 10, 13, 16, 19-Docosahexaenoico	---	6	22	Algunos aceites de pescado

* Todos los dobles enlaces se encuentran en configuración *cis* excepto para el ácido elaidico y el ácido vaccenico los cuales son *trans*

El cuerpo humano requiere de estos AG para elaborar y reparar membranas celulares que permitan a las células obtener nutrientes y expulsar desechos nocivos. Diversos reportes indican que una de las funciones primarias del ácido linoleico es la producción de prostaglandinas las cuales regulan funciones corporales como es la frecuencia cardiaca, presión sanguínea, coagulación sanguínea, fertilidad, concepción, además de jugar un papel importante en la regulación de procesos inflamatorios y reforzar al organismo contra procesos infecciosos. El ácido linoleico es necesario también para mantener la integridad de la piel, las membranas celulares, el sistema inmunológico y la síntesis de eicosanoides, requeridos para las funciones cardiovasculares y renales (Dupont y col., 1990 y Simpolous, 1999).

Recomendaciones sobre el consumo de AG.

La Asociación Americana del Corazón recomienda una ingesta de grasa total menor de 25 – 35 % de las calorías totales, una ingesta de AGS de no más del 10 % del total de las calorías, una ingesta de ácidos grasos monoinsaturados en el rango de 10 – 15 % y de grasas poliinsaturadas mayor de 10 % de las calorías totales. Diversas organizaciones han recomendado no sólo un valor absoluto de ingesta de AG poliinsaturados, sino que además hacen recomendaciones sobre el equilibrio de ingesta entre Omega-6 y Omega-3. La organización mundial de la salud recomienda una relación de ingesta entre AG poliinsaturados/AG saturados de 0.8 a 1.0 y entre ácido linoleico (Omega-6)/ácido linolénico (Omega-3) de 5/10 en la dieta (OMS/FAO, 2003).

Usos del maíz en México

Uno de los principales usos del maíz en México es en el proceso de nixtamalización para producir harina nixtamalizada y productos tradicionales como tortilla, considerada alimento básico en la dieta del mexicano, además de emplearse para hacer otros productos de consumo generalizado como tamales, quesadillas, sopes, entre otros.

La nixtamalización (cocimiento térmico-alkalino) para producir masa, harinas instantáneas, tortillas y sus derivados, representa una quinta parte de las ventas totales de la industria en México, generando ventas por 4 billones de dólares (Martínez-Bustos y col., 2001). De acuerdo

con estimaciones de la Cámara Nacional de Maíz Industrializado (CANAMI), en 2006 la demanda de maíz grano para la elaboración de tortilla fue de 10.6 millones de toneladas. De este total, la industria harinera procesó el 35 % , el 32 % se destinó a la industria de la masa y la tortilla a través de establecimientos formales “tortillerías” y el 33 % restante corresponde al que la población rural utiliza para producir la tortilla a nivel familiar (Campo Mexicano, 2011). El consumo anual de tortilla en el país asciende a 13.6 millones de toneladas.

2.2 Nixtamalización

El proceso de nixtamalización se ha venido realizando en forma tradicional a lo largo de los años para la elaboración de productos como tortillas, tostadas, frituras para botana, entre otros (Quintanar-Guzmán y col., 2011). El avance más significativo a nivel industrial ha sido la producción de harinas de maíz nixtamalizadas (Milán-Carrillo y col., 2004). El proceso industrial de nixtamalización involucra en primer término las etapas de recepción, selección, limpieza y almacenamiento del grano (Rooney y Suhendro, 1999). La nixtamalización inicia con el cocimiento alcalino de los granos de maíz, seguido de la molienda del grano cocido (nixtamal) y la obtención de la masa que es deshidratada, cernida, clasificada y envasada. La técnica se basa en el cocimiento de los granos de maíz (1 Kg) en agua (2-3 litros) con álcali, preferentemente Ca(OH)_2 (1-2 % p/p) durante 10-40 min a 85-100 °C. El grano se deja reposar entre 8-24 h en la solución de cocción (nejayote), posteriormente se lava de 2 a 4 veces con agua para eliminar el nejayote constituido por cal y componentes del grano (5.11 % proteína, 19.29 % fibra cruda, 52.45 % extracto libre de nitrógeno, y 23.15 % de cenizas del cual el calcio representa el 56.4 %); finalmente es obtenido el maíz nixtamalizado o nixtamal que llega a tener hasta un 45 % de humedad. El nixtamal es molido en un molino de piedras para obtener masa, el proceso de molienda requiere, para llevarse a cabo con buen término, la adición de agua llegando a tener la masa de 48 a 55 % de humedad (Ruiz-Gutiérrez y col., 2010; Valderrama-Bravo y col., 2010; Nogueira-Terrones y col., 2004; Sefa-Dedeh y col., 2004; y Paredes-López y col., 2009). La masa que resulta de la molienda, consiste en segmentos de germen, residuos de pericarpio y endospermo unidos por el almidón parcialmente gelatinizado, y por proteínas y lípidos emulsificados. La técnica de cocimiento alcalino, sirve para suavizar el grano de maíz además de que mejora la calidad nutricional en masa con respecto al maíz crudo, debido a los cambios

químicos que ocurren en los nutrientes, ejemplo de ello es el incremento en el balance de aminoácidos esenciales (Castillo y col., 2009).

Factores que influyen en el proceso de nixtamalización

Los cambios químicos en el maíz por la nixtamalización son el resultado de pérdidas de ciertas estructuras físicas del grano así como también de compuestos químicos inducidos por factores que influyen en el proceso de nixtamalización como: tiempo y temperatura de cocimiento, tipo y concentración de cal, características físicas y químicas del maíz como tipo de endospermo, estructura del grano, dureza, homogeneidad en tamaño, porcentaje de grano dañado, relación amilosa-amilopectina, frecuencia de agitación durante el cocimiento, así como procedimientos de lavado y reposo (Plascencia-González, 1998; Castillo y col., 2009; FAO,1993) etc., son factores importantes que influyen en la nixtamalización y tienen un efecto significativo sobre las propiedades de los productos finales (Palacios-Fonseca y col., 2009). Las condiciones del proceso deben promover en el maíz los cambios físicos y químicos necesarios para obtener la textura y humedad deseadas para el manejo y procesamiento del nixtamal, masa y la calidad de los productos. Para obtener una tortilla de calidad, es importante controlar las condiciones del proceso de nixtamalización (Ramírez-Wong y Ortega, 1994).

2.2.1 Cambios durante la nixtamalización

Los principales cambios que ocurren durante la nixtamalización del maíz se dan en la región del pericarpio, endospermo y en el germen. Dentro de estos cambios se distinguen: cambios en la estructura del grano, en su composición química, en sus propiedades de funcionalidad y en valor nutritivo. La masa obtenida a partir del nixtamal está conformada por pedazos de germen, el remanente del pericarpio, partículas de endospermo y lípidos emulsificados (Rodríguez-García y col., 2008).

Papel del hidróxido de calcio

La difusión del calcio al interior de los granos de maíz se define como un proceso dependiente de la temperatura y por consecuencia ocurren cambios fisicoquímicos en la estructura del maíz, entre estos cambios se involucran el incremento en el tamaño del grano, absorción de agua y ablandamiento (Laria y col., 2007).

La absorción de agua y calcio, producto de la interacción de la solución alcalina con los componentes del grano de maíz, trae como resultado el ablandamiento y suavización del pericarpio (Ruiz-Gutiérrez y col., 2010). Durante la cocción térmico-alcalina de los granos de maíz, la estructura externa enlaza casi inmediatamente al calcio (Zazueta y col., 2002), alterando la microestructura del pericarpio (Quintanar-Guzmán y col., 2011) solubilizando parcialmente la capa aleurona, compuesta por hemicelulosas del tipo A y B (Núñez-Santiago y col., 2003). El reblandecimiento del pericarpio además de facilitar la incorporación de la solución alcalina al interior del grano (Fernández-Muñoz y col., 2002), permite su eliminación durante el lavado del nixtamal. Una vez que el pericarpio es removido, la difusión de agua y calcio incrementa en el grano de maíz a un nivel en el cual pueden ocurrir cambios físicos y químicos, que se asocian con la calidad final de los productos (Ruiz-Gutiérrez y col., 2010).

Además de la cocción alcalina, el tiempo de reposo promueve un incremento en la velocidad de absorción de agua y por lo tanto de cal al grano en las primeras 8 h de reposo, atribuyéndose a la remoción de aproximadamente el 90 % del pericarpio seguido de una difusión acelerada hasta llegar a un equilibrio asintótico (Ruiz-Gutiérrez y col., 2010). El ingreso de la solución alcalina al endospermo promueve la gelatinización parcial o total del almidón (Gómez y col., 1989) modificando la dureza del endospermo. En el interior del grano se promueve la interacción calcio-almidón inhibiendo la absorción del agua en los gránulos de almidón disminuyendo su gelatinización y retrogradación al cargarse eléctricamente las cadenas de almidón por efecto del pH alcalino (Lara-Menchaca, 2004), lo que ayuda a disminuir la retrogradación y la pérdida de frescura de las tortillas (Rooney y Suhendro, 1999). Al respecto, estudios indican que la gelatinización del almidón puede ser inhibida por los iones calcio al interaccionar con las cadenas de amilosa del almidón (Fernández y col., 2007). De acuerdo a Cabrera y col. (1984), hay una relación entre la difusión de agua y el grado de gelatinización del almidón durante la

cocción alcalina del maíz a temperaturas entre 70 y 90 °C; dado que la gelatinización afecta la absorción de agua. Investigaciones reportan que durante el proceso de nixtamalización hay una difusión simultánea de agua y calcio que afecta las propiedades fisicoquímicas del producto final (Arámbula-Villa y col., 2001). Otro de los fenómenos que se presentan es la desnaturalización de la matriz proteica liberando niacina y solubilizando algunas de las proteínas encontradas alrededor de los gránulos de almidón, así como la saponificación de parte de los lípidos (Núñez-Santiago y col., 2003) localizados principalmente en el germen y cuya estructura es en gran parte retenida durante la nixtamalización. En este sentido, análisis químicos han demostrado que durante la nixtamalización se pierden algunos nutrientes del maíz, sin embargo, dicho proceso hace que las tortillas tengan mayor calidad nutricional en cuanto a su aporte proteico y calcio (García-Méndez, 2004).

En referencia a la mejora en la calidad nutricional del nixtamal, se ha centrado el interés en componentes como calcio, almidón, proteínas y fibra. La nixtamalización aumenta el balance de aminoácidos esenciales; el calcio controla la actividad microbiana, mejora el sabor, aroma, color, vida de anaquel. La alta disponibilidad de calcio en la tortilla y productos derivados del nixtamal es importante para evitar la osteoporosis (García-Méndez, 2004).

Poco se ha explorado sobre otro componente fundamental del maíz, los lípidos, principalmente representados por los AGE Omega 6 y Omega 3, cuya importancia radica tanto en la formación de sales de AG por efecto de la nixtamalización como en su papel fisiológico en el ser humano. Es conocido que la nixtamalización favorece la neutralización de los AG libres formando sales de calcio. Los AG son uno de los responsables de la fijación de Ca^{+2} en el grano de maíz. Las especies alifáticas presentes en el grano son especies químicas saponificables (Valor-Reed, 2002). En este sentido, se menciona que el maíz nixtamalizado puede ser una buena fuente de AGE, particularmente de ácido linoleico (Rendón-Villalobos y col., 2009).

2.2.2 Pérdidas de nutrientes por efecto de la nixtamalización

La nixtamalización trae como consecuencia la pérdida de componentes químicos del grano, estas pérdidas se incrementan con el tiempo de cocimiento, alta concentración de cal y durante el

reposo (García-Méndez, 2004). Fragmentos de pericarpio, almidón, proteína, germen y cal, constituyen la mayor proporción de materia seca en el agua de cocimiento. Existe también una disminución importante de algunas vitaminas y proteínas que son solubles en condiciones térmico-alcálicas como es el caso de las gluteninas. De los carbohidratos, incluida la fibra cruda, se pierde el 41.5 % (García-Méndez, 2004; Yáñez-Ortega, 2005) ya que durante la nixtamalización se desprende gran parte del pericarpio del grano de maíz, el cual es eliminado en la etapa de lavado. Del germen se pierde aproximadamente 41.5 % de grasa debido a la saponificación e hidrólisis alcalina de los AG (principalmente el ácido linoleico).

Ácidos grasos

De los lípidos se sabe de una pérdida de sustancias extraíbles con éter del 33 % en maíz amarillo y 43 % en maíz blanco (Bressani y col., 1958). Esta pérdida se atribuye a partes del grano que contienen sustancias lipídicas extraíbles con éter como la pérdida parcial del pericarpio, la capa de aleurona, la piloriza y una porción del germen. En el maíz amarillo, se pierde del 15 % al 28 % del caroteno (precursor de la vitamina A, considerado como lípido) (Bressani y col., 1958). Se han comprobado pérdidas del 11.8 % al 18.1 % de lípidos e indicaron que podían deberse parcialmente a la enérgica manipulación del maíz cocido durante la etapa de lavado, mencionan además que del 25 % al 50 % de los lípidos de la masa se encuentran en estado libre y parcialmente emulsionados (Pflugfelder y col., 1988). Según Bedolla y col. (1983), los valores de extracto etéreo ascendían a 5.0 %, 3.1 % y 3.6 % en el maíz crudo, el maíz cocido y las tortillas, respectivamente. Esta pérdida no ha sido explicada exhaustivamente, si bien puede deberse a la pérdida de la cubierta seminal, la piloriza, la capa de aleurona y, posiblemente, parte del germen. Martínez-Flores y col. (2002) reportaron pérdidas de un 10.3 % del total de los lípidos del maíz durante el proceso de nixtamalización. Estudios desarrollados por Palacios-Fonseca y col. (2009) indican una disminución de 4.13 % a 3.89 % en harinas de maíz nixtamalizadas debido a un incremento en el tiempo de reposo durante el proceso promoviendo la pérdida de materia seca (pericarpio y germen). Paredes-López y col. (2009) mencionan que los lípidos del grano de maíz disminuyen considerablemente, hasta por 3.4 % en tortilla de maíz amarillo y por 2.5 % en la de maíz blanco.

Gran parte de los estudios sobre la disminución del contenido de AG por efecto de la nixtamalización se concentran en la pérdida de éstos, ya sea por deposición de las partes físicas del grano de maíz (germen) en el nejayote o por emulsificación de los lípidos. Sin embargo, otro factor importante radica en la pérdida por oxidación de los AG alterando no sólo la cantidad sino la calidad nutricional del producto final.

Pérdida de ácidos grasos por oxidación

La estabilidad oxidativa de los aceites y grasas comestibles puede definirse como la resistencia que presentan éstos a la oxidación. La estabilidad oxidativa se considera un indicador importante del rendimiento y vida de anaquel, y depende fundamentalmente de la composición y las condiciones a las cuales se encuentra sujeta la muestra (Guillén y Ruiz, 2001). La evolución de la oxidación y la naturaleza y proporciones de los productos de oxidación primarios y secundarios formados en este proceso dependen no sólo de la naturaleza del aceite o grasa sino también de las condiciones en las cuales tenga lugar la oxidación (Guillén y Goicoechea, 2009).

De acuerdo a Rendón-Villalobos y col. (2009) el aceite de maíz no es estable y los factores responsables de su baja estabilidad son luz, oxígeno, temperatura, contenido de AGI y la presencia o ausencia de antioxidantes.

Los altos niveles de insaturación de los AGP los hace altamente susceptibles a las reacciones de oxidación por radicales libres originando peróxidos e hidroperóxidos. Diversas investigaciones sugieren que los peróxidos pueden tener actividad mutagénica (Valls y col., 2003) representando un daño potencial a la salud humana.

Vidal-Quintanar y col. (2003) hicieron un estudio de la autooxidación de los lípidos por efecto de la temperatura (15, 25, 35, 45 y 55 °C) en función del tiempo de almacenamiento (23 semanas) sobre harinas instantáneas nixtamalizadas disponibles comercialmente. En dicho estudio se detectaron cambios oxidativos en los lípidos, no obstante, estas determinaciones fueron de forma indirecta ya que midieron solamente el valor de peróxidos y de dienos conjugados.

En otro estudio, Martínez-Flores y col. (2006) reportaron los cambios ocurridos en los lípidos del maíz al variar las condiciones del cocimiento térmico–alcalino. La investigación se llevó a cabo

variándose la concentración del hidróxido de calcio (0-3 %) y el tiempo de reposo fue de 12 horas. El estudio de los lípidos consistió en valorar la pérdida total de lípidos y los cambios que en ellos ocurrieron, verificándose por métodos indirectos: índices de yodo, de acidez, y de saponificación, así como el valor de rancidez. Cuando el maíz se coció con 0.5 % de hidróxido de calcio, en el agua de lavado se perdió el 25 % de los lípidos originales que contenía el maíz sin procesar. A una concentración de hidróxido de calcio de 3 %, la pérdida fue del 37.4 %. El estudio permitió identificar que existieron tanto pérdidas de lípidos como cambios en el grado de saturación de los mismos, y formación de nuevos compuestos a partir de los AG.

Por otra parte, Flores-Farías y col. (2002) en un estudio realizado en tres harinas nixtamalizadas comerciales mostraron la composición relativa de AG determinada por cromatografía de gases con detector de ionización de flama, en él demuestran que las harinas comerciales son adicionadas con aditivos tales como aceite de soya y amidán (glicerido) con objeto de incrementar el contenido de AGE específicamente linoleico (Omega 3) y linolénico (Omega 6), lo que sugiere que a lo largo del proceso de nixtamalización para la obtención de harina se induce una pérdida de AG.

Cabe destacar que en los estudios mencionados, no se profundiza en el tipo de cambios que se llevaron a cabo en los lípidos. Por ejemplo, no se midió el perfil de AG, en particular de los ácidos linoleico y linolénico, esenciales para el ser humano. Tampoco se determinó cuáles fueron los AG que tuvieron modificaciones, ni se midió cuáles fueron los componentes químicos que se formaron a partir de la descomposición de los AG.

Es probable que también ocurran cambios en la configuración de los AG, de la forma *cis* a la *trans*. Éstos últimos no se reconocen por las enzimas del organismo humano, por lo tanto no son aprovechables. Por otro lado, es importante mencionar que las técnicas utilizadas en dichos estudios sobre la valoración de los lípidos son generalmente indirectas indicando únicamente la pérdida de los compuestos, no así las transformaciones de los mismos a lo largo del proceso y posterior a él, tampoco existen referencias donde se mencione el uso de técnicas no invasivas para el control del proceso en tiempo real en función de los cambios antes mencionados, lo cual sería de gran utilidad a nivel industrial.

Todos los cambios anteriores son importantes dado que el maíz es un alimento básico en la alimentación de millones de mexicanos, y las harinas nixtamalizadas pueden ser una fuente no sólo de proteínas, calcio y energía, sino también de AGE.

El conocimiento del tipo y tiempo de formación de los compuestos, producto de la oxidación de los lípidos del maíz por efecto de las condiciones del tratamiento térmico-alcálico y del almacenamiento, permitirá definir las condiciones idóneas para establecer dichas variables de procesamiento, en el que existan mínimos cambios en los AGE, que son de particular interés en diversas funciones del organismo humano.

2.2.3 Oxidación de ácidos grasos

La estabilidad oxidativa de los aceites depende de una serie de variables. La descomposición puede ser causada por actividad enzimática o por otros catalizadores presentes en el ambiente que los rodea. La rancidez hidrolítica es más frecuentemente causada por la actividad de la enzima lipasa, en tanto que la rancidez oxidativa puede ser causada por la enzima lipooxigenasa, por reacciones de autooxidación o por ambas (Gardner e Inglett, 1971).

La oxidación de lípidos se refiere a una secuencia compleja de interacciones químicas entre los AGI y el oxígeno (rancidez oxidativa) disminuyendo la calidad nutricional y contribuyendo al deterioro de las características de los alimentos que los contienen tales como: sabor, color y textura. La rancidez oxidativa genera compuestos volátiles que imparten olores y sabores desagradables afectando también la calidad sensorial (Chaiyasit y col., 2007 y JaeMin y col., 2007).

El deterioro oxidativo se debe a la peroxidación de los componentes insaturados de los aceites, siendo la auto-oxidación, conjunto complejo de reacciones de naturaleza auto-catalítica, una de las vías más importantes de adición del oxígeno a los lípidos. Teóricamente la oxidación de los lípidos es una reacción en cadena entre las grasas insaturadas, radicales libres (RL) y el oxígeno, pudiendo ocurrir en forma autocatalítica, sin embargo, la velocidad de oxidación se incrementa por varios factores: oxígeno, temperatura, irradiación, metales pesados y presencia de AGI (Colakoglu, 2007; y JaeMin y col., 2007); algunos factores inhibidores son los antioxidantes y

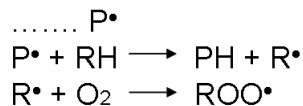
las bajas temperaturas, entre otros. En este sentido, el cocimiento térmico-alkalino (Nixtamalización) para la transformación del maíz a harina nixtamalizada, masa, tortilla y sus derivados, puede implicar condiciones propicias para dar inicio a la oxidación de los lípidos contenidos en el maíz, siendo los de mayor importancia por considerarse esenciales: los ácidos linoleico y linolénico.

La oxidación tiene lugar a través de un mecanismo de reacciones en cadena, ocasionado por radicales libres, éste se divide en tres fases: Iniciación, Propagación y Terminación (Navarro-García y col., 2004; Fennema, 2000; Chaiyasit y col., 2007 y Gurr y col., 2005).

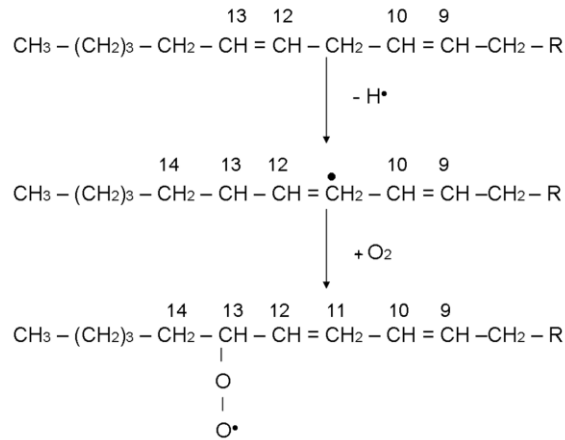
Reacción en cadena de la oxidación

Iniciación

En este paso, un radical libre ataca a un grupo metileno de la cadena carbonada del AG, extrayendo un átomo de hidrógeno, lo que da lugar a un nuevo radical libre (Navarro-García y col., 2004).



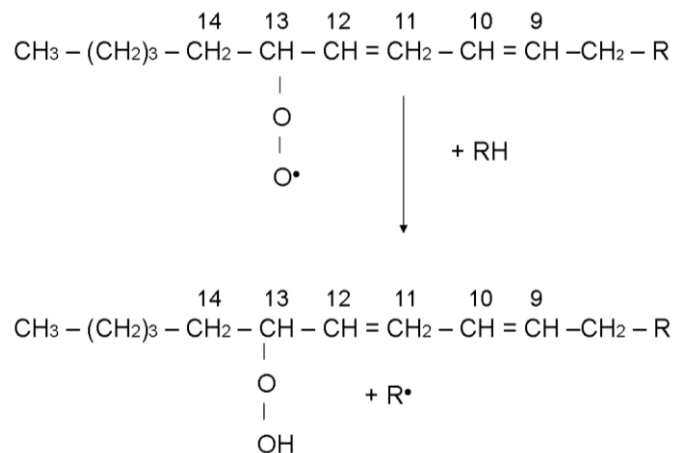
En los AGP, esta reacción es favorecida debido a la alta reactividad de los grupos metilenos adyacentes a los dobles enlaces. Los radicales libres lipídicos tienden a estabilizarse mediante un reordenamiento interno dando lugar a los dienos conjugados. La secuencia de la reacción va generalmente acompañada de un desplazamiento de la posición de los dobles enlaces de los AG, debido a la estabilización por resonancia de las especies R^\bullet , lo que conduce a la formación de hidroperóxidos isoméricos, que frecuentemente tienen grupos dieno conjugados (Navarro-García y col., 2004).



Los hidroperóxidos, son los productos primarios de la oxidación y son relativamente inestables. Al polimerizarse incrementan la viscosidad del medio, participan en numerosas y complejas reacciones de degradación e interacción que generan compuestos de distintos pesos moleculares, variados umbrales de percepción y diferente significado biológico (Fennema, 2000).

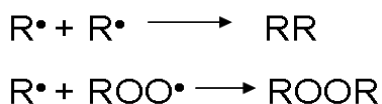
Propagación

El radical R^\bullet producido en la fase de iniciación, puede reaccionar para formar un radical lipídico peroxi ROO^\bullet que puede reaccionar posteriormente para dar un hidroperóxido ROOH . En la segunda reacción dentro de la fase de propagación, además se produce un nuevo radical libre R^\bullet , lo que hace que el proceso sea autopropagable (Navarro-García y col., 2004).



Terminación

La vía mediante la cual concluye la oxidación es cuando cualquier clase de radical libre alquílico del lípido R^\bullet reaccione con un radical libre lipídico peroxi ROO^\bullet dando lugar a una especie relativamente estable, no iniciadora y no propagadora. De forma similar pueden unirse dos radicales libres alquílicos R^\bullet .



Reacción de los productos primarios de oxidación

Los hidroperóxidos formados durante el proceso de oxidación de los AGI reaccionan rápidamente dando una serie de compuestos. Se ha reportado como producto de descomposición de los hidroperóxidos compuestos carbonílicos, hidrocarburos, furanos sustituidos y alcoholes. Entre los compuestos secundarios y terciarios formados se identifican aldehídos, ésteres, cetonas, oxoácidos, oxoésteres, compuestos aromáticos y monómeros cíclicos, epóxidos (como derivados de los aldehídos), ácido fórmico, AG de bajo peso molecular, radicales alquilo y alcoxilo, dímeros y polímeros.

Productos de la oxidación de lípidos

La causa más importante de deterioro del aceite es la oxidación, la cual no sólo reduce la vida de anaquel y el valor nutricional de un alimento sino que además se producen compuestos tóxicos (Guillen y Goicoechea, 2009). La evolución de la oxidación de los aceites y la naturaleza y proporción de los productos primarios y secundarios de oxidación formados dependen de la naturaleza del aceite y de las condiciones bajo las cuales se efectúe la oxidación.

El aceite vegetal contiene de forma natural lípidos polares, tales como mono y diacilgliceroles, fosfolípidos, esteroides, tocoferoles y AG libres. Cuando los AG poliinsaturados son oxidados, se

producen hidroperóxidos, aldehídos, cetonas, alcoholes (Chaiyasit y col., 2007), además de hidrocarburos, furanonas y lactonas (Mildner-Szkudlarz y col., 2003).

Los hidroperóxidos considerados como productos primarios de la oxidación de lípidos se encuentran relacionados directamente con los dienos conjugados (Papadopoulou y Roussis, 2008) y en estados secundarios de oxidación con trienos conjugados, los cuales son comúnmente medidos a través del valor de *p*-anisidina, indicativo de carbonilos no volátiles. Diversos estudios demuestran que hidroperóxidos y dienos conjugados pueden estar presentes no sólo como compuestos de oxidación primaria sino también como productos de oxidación secundaria, como los alcanales, (E)-2-alquenes y (E,E)-2,4-alcadienes además de aldehídos α,β -insaturados γ -oxigenados (Guillen y Goicoechea, 2009). Dentro de la gran variedad de compuestos de oxidación que se forman por la termodegradación de los aceites se encuentran en primer lugar de abundancia los aldehídos (Guillen y Uriarte, 2012).

Los aldehídos volátiles como el pentanal, hexanal, octanal, nonanal y decanal, son productos de la oxidación secundaria del aceite, sin embargo el hexanal es comúnmente usado como un índice de la oxidación de aceites (Papadopoulou y Roussis, 2008).

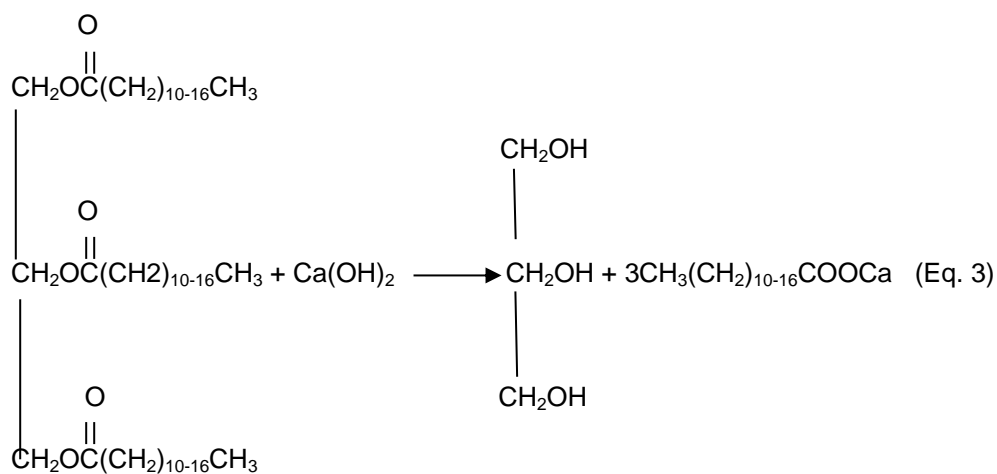
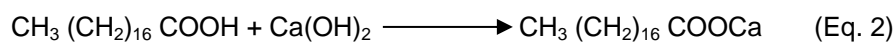
Estudios sobre la oxidación de aceite de maíz a 70 °C con aireación muestran la formación predominante de aldehídos, alcanales, (E)-2-alquenes, 4-hidroperoxy-(E)-2-alquenes y 4-hidróxi-(E)-2-alquenes mientras que en menor proporción se encontraron (E,E)-2,4-alcadienes y 4,5-epoxi-2(E)-alquenes (Guillen y Goicoechea, 2009).

Mildner-Szkudlarz y col. (2003) analizaron los compuestos producto de oxidación de aceites de oliva, soya, girasol, nuez y canola almacenados por 5 días a 60 °C encontrando que el grupo de volátiles más abundante fue el de aldehídos compuestos que se asocian a la rancidez de aceites, de ellos los predominantes fueron: pentanal, E-2-pentenal, hexanal, E-2-hexenal, heptanal, E-2-heptenal, E-2-octenal. Otro grupo importante encontrado fue el de alcoholes, abundando: 1-penten-3-ol, 1-pentanol, 1-hexanol, 1-octen-3-ol y 1-octanol.

Investigaciones sobre el efecto de los compuestos producto de la oxidación de los AG en la salud humana indican daño a la membrana celular y ADN que puede estar involucrado en el proceso de envejecimiento, hipertensión y cáncer (Naz y col., 2005).

2.3 Generalidades de la oxidación de los AG por efecto de la nixtamalización

En la nixtamalización, la cocción alcalina afecta las propiedades morfológicas y microestructurales de las capas externas del maíz (pericarpio). Los materiales de la superficie se disuelven parcialmente facilitando la remoción del pericarpio durante el lavado. En cuanto al germen, la mayor parte es retenida durante el proceso. El papel del hidróxido de calcio en la cocción alcalina es importante, ya que permite que el agua se absorba rápidamente y se distribuya en los componentes del grano a diferente profundidad (Quintanar-Guzmán y col., 2011). Al favorecerse el ingreso de agua y calcio, los AG son saponificados con los iones calcio formando sales de calcio de ácidos alifáticos. Bajo estas circunstancias, el aceite de maíz nixtamalizado, además de las sales de calcio, contiene AG libres y mono-, di- y tri- glicéridos. Los iones de hidroxilo saponifican a los AG libres, o bien provocan la hidrólisis del enlace éster de los AG contenidos en los mono-, di- y triglicéridos, formando AG y glicerol, tal como se muestra en las ecuaciones 2 y 3.



Estas moléculas pueden a su vez ser oxidadas a compuestos de oxidación primarios y secundarios. Durante la nixtamalización, los AGI pueden ser oxidados por la temperatura de cocción y el tiempo de reposo, favoreciéndose además estos cambios por su exposición al aire, luz y metales. Martínez-Flores y col. (2006) indicaron que la cocción alcalina induce cambios en las características del aceite de maíz, sin embargo, no hacen referencia al efecto del tiempo de reposo.

2.3.1 Técnicas de caracterización de ácidos grasos

La oxidación de los lípidos constituye una de las causas fundamentales de la descomposición de los alimentos, ya que ésta da lugar a olores extraños así como a compuestos potencialmente tóxicos. La determinación de los niveles de oxidación de los aceites ha motivado por tanto el desarrollo continuo de técnicas analíticas que permitan monitorear el proceso de oxidación desde las fases iniciales. Entre las técnicas tradicionalmente más empleadas están: 1) Métodos indirectos como Índice de yodo (IY), Índice de saponificación (IS), Valor de peróxidos (VP), acidez y rancidez, 2) UV/Vis (valor de dienos conjugados) y colorimetría (Muik y col., 2005). Se han desarrollado otras técnicas consideradas mayormente específicas para la determinación de los compuestos secundarios y terciarios que se forman como producto de la oxidación, entre ellas destacan: infrarrojo (IR), cromatografía de gases (ácidos grasos metil esterificados: FAMES) y resonancia magnética nuclear (RMN).

Índice de peróxidos (IP)

Los compuestos de oxidación primarios son evaluados clásicamente a través del IP (Guillen y Goicoechea, 2009), el cual es determinado por la capacidad de los peróxidos para oxidar el ion yoduro presente en el yoduro de potasio (KI) produciendo yodo libre el cual reacciona con el almidón y es titulado con tiosulfato de sodio. Una concentración alta de peróxidos promueve una alta concentración de yodo libre requiriendo de una mayor cantidad de tiosulfato de sodio para reducir el yodo formado.

Índice de saponificación (IS)

El IS es expresado como el número de miligramos de hidróxido de potasio (KOH) requerido para saponificar 1 g de aceite (Knothe, 2002). La saponificación es una reacción química entre un AG y un compuesto alcalino, obteniéndose como producto principal la sal del ácido y la base. En la nixtamalización, los granos de maíz son cocidos en presencia de un compuesto alcalino (hidróxido de calcio), promoviendo reacciones de saponificación de los AG. Los lípidos susceptibles de saponificación son los mono-, di- y tri- glicéridos, así como los AG libres, el IS es inversamente proporcional al peso molecular de éstos.

Índice de acidez (IA)

El índice de acidez (IA) es uno de los índices de calidad más frecuentemente utilizados durante la extracción, almacenamiento y comercialización de los aceites vegetales. Los AG libres pueden producirse por una hidrólisis enzimática durante el proceso de extracción de los aceites vegetales comestibles o pueden formarse por autooxidación, particularmente si es expuesto a un tratamiento térmico, lo cual provoca el rompimiento de los enlaces éster de los mono-, di-, y triglicéridos a su correspondiente ácido graso libre (Chaiyasit y col., 2007). Por lo tanto, el IA es una medida del punto en el cual la oxidación, hidrólisis o pirólisis ha liberado a los AG como resultado del rompimiento de los enlaces éster de los triglicéridos (Thomaidis and Georgiou, 1999; Paradiso y col., 2010; Baran y col., 2004).

Índice de yodo (IY)

El grado de insaturación de un triglicérido se expresa como índice de yodo (IY), el cual se define como el número de gramos de yodo absorbidos por cien gramos de grasa. Esta definición explica la capacidad del doble enlace carbono-carbono para permitir la adición de halógenos (Gooch, 2001; Knothe, 2002). Este método no ofrece información respecto a la distribución y localización de las dobles ligaduras de las moléculas de los lípidos.

Espectroscopía ultravioleta/visible (UV/Vis)

La espectroscopía UV, específicamente la medida de la absorbancia a longitudes de onda entre 232 nm y 274 nm permite conocer el grado de deterioro del aceite durante el proceso al que sea expuesto (Paz-Antolín y Molero-Meneses, 2000). Esto se debe a que los compuestos de oxidación primarios (peróxidos e hidroperóxidos) absorben cerca de 232 nm, mientras que los productos secundarios de oxidación (aldehídos, cetonas, ácidos, etc.) lo hacen a longitudes de onda mayores (262, 268, 270 y 274 nm). Muik y col., (2005) y, Guzmán y col., (2011), mencionan que la absorbancia a 232 nm (K_{232}) está asociada a los hidroperóxidos (estado primario de oxidación) y a los dienos conjugados (estado de oxidación intermedio) y la absorbancia a 270 nm (K_{270}) se relaciona a compuestos carbonílicos (estado secundario de oxidación), dienos y trienos conjugados (Maggio y col., 2011). Así mismo, Guillen y Goicoechea (2009) muestran que el nivel de oxidación puede ser evaluado por absorbancias a 233 nm y 273 nm, aunque se ha indicado también que estos parámetros sólo son válidos durante las primeras etapas de oxidación, dada la inestabilidad de los hidroperóxidos.

Guillén y Cabo (2002) mencionan que los hidroperóxidos derivados de los ácidos linoleico y linolénico presentan dienos y/o trienos con dobles enlaces conjugados, que proceden de unidades de 1,4-pentadieno o de 1,4,7-octatrieno.

Espectroscopía infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)

Los AG poliinsaturados presentes en el maíz brindan susceptibilidad a la estabilidad oxidativa del aceite, la cual puede alterarse durante la nixtamalización. Los métodos para determinar la velocidad a la cual el proceso de oxidación avanza se relacionan con la medición de la concentración de productos de oxidación primarios o secundarios o ambos, o a la cantidad de oxígeno consumido durante el proceso (Vlachos y col., 2006; Moros y col., 2009). Otros métodos se basan en la presencia de los AG y sus características moleculares, tal es el caso de la Espectroscopía infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) que además de ser una técnica rápida, no destructiva, con un mínimo de preparación de la muestra (Vlachos y col., 2006), permite la determinación cualitativa de compuestos orgánicos a través de modos de vibración de sus grupos funcionales, que generan la aparición de bandas en el espectro de IR a una frecuencia

determinada (Yang y col., 2005), por ejemplo, los grupos funcionales C=O y O-H, mediante su modo de vibración (extensión) tienen una fuerte absorción en el espectro de IR (Guillén y Nerea, 2002; Yang y Col., 2005). FTIR es útil también en análisis cuantitativo ya que las intensidades de las bandas en el espectro son proporcionales a la concentración. El IR en la región media ha sido utilizada para caracterizar aceites y grasas comestibles, así como para monitorear el proceso de oxidación del aceite de maíz (Vlachos y col., 2006).

Diversas investigaciones demuestran el uso de FTIR en la evaluación del deterioro oxidativo de aceites, midiendo los cambios en las frecuencias de algunas bandas y su relación con la absorbancia a dichas frecuencias, ello ha sido correlacionado con cambios en el porcentaje de insaturación (Moya-Moreno, y col., 1999b). A través de esta técnica es posible también la determinación de AG *trans* presentes en aceites y grasas (Sherazi y col., 2009 b; y Hemming y Hawthorne, 2008). Los aceites y grasas difieren en su composición, principalmente en la longitud y en el grado de insaturación de los AG, así como en su posición a lo largo de la cadena. El espectro de IR representa un patrón único para cada aceite por lo que puede usarse como análisis discriminatorio (Yang y col., 2005 y Vlachos y col., 2006).

Cromatografía de gases (CG)

El aceite de maíz está compuesto de 99 % de triglicéridos, de los cuales corresponden a: un 59 % de ácidos grasos poliinsaturados, 24 % de monoinsaturados y 13 % de saturados. De los AGP destacan el ácido linoleico (C18:2n-6) y el ácido linolénico (C18:3n-3) en una relación n-6/n-3 de 83. Se han llevado a cabo diversos estudios sobre la estabilidad oxidativa de los aceites, donde se han usado técnicas analíticas que presentan limitaciones al no ser específicas (Araújo y col., 2009). Existen técnicas que permiten un mejor conocimiento del grado de oxidación de los aceites, tal es el caso de las pruebas relacionadas con los AG metil esterificados (FAMES por sus siglas en inglés: Fatty Acid Metyl Esters), siendo una de las mejores alternativas para la determinación de la integridad de los AG de interés. A través de FAMES, los AG no volátiles son químicamente convertidos a sus correspondientes metil ésteres con características volátiles para ser analizados por cromatografía de gases (Indarti y col., 2005). La cromatografía de gases es uno de los métodos más precisos para el análisis cualitativo y cuantitativo de los FAMES y los

cambios que se originan en sus concentraciones tras una previa saponificación de las grasas contenidas en un medio (Kowalsky, 2007).

Las características de los lípidos son útiles para su análisis por cromatografía de gases pudiendo detectarse además alcoholes, aldehídos, cetonas, hidrocarburos, entre otros productos de oxidación de los lípidos (Hemming y Hawthorne, 2008 y Gurr y col., 2005).

Resonancia magnética nuclear ($^1\text{H-RMN}$)

La Resonancia Magnética Nuclear (RMN) permite distinguir el tipo de AG contenidos en un aceite. Kamal-Eldin y Pokorny (2005) indican que con RMN es posible detectar cambios estructurales en los componentes de los aceites cuando estos son sujetos de calentamiento. Un espectro de $^1\text{H-RMN}$ es una serie de señales cuyas frecuencias pueden relacionarse con la naturaleza química de los átomos de hidrógeno, y sus intensidades están directamente ligadas al número de hidrógenos que producen la señal (Guillén y Ruiz, 2001). Los núcleos de los átomos de hidrógeno en diferentes ambientes químicos tienen diferencias en sus niveles de energía, estas diferencias pueden ser medidas por la técnica de RMN (Guillén y Ruiz, 2001).

2.4 Metodología para control de procesos

Los procesos industriales para la elaboración de alimentos son sistemas complejos, tal como la nixtamalización que ha pasado de ser un proceso tradicional casero a un sistema industrializado. Son diversos los cambios que ocurren durante la nixtamalización y de los cuales depende la obtención de un producto final de calidad que puede basarse en la presencia de AGP.

Cada cambio ocurrido en la nixtamalización se presenta en un momento determinado del proceso y es influenciado por: la variedad del grano de maíz, temperatura de cocción, concentración de hidróxido de calcio y tiempo de reposo. Parte importante de este proceso es la formación del nejayote, ya que en él se depositan los sólidos provenientes del maíz objeto de la cocción térmico-alcalina y reposo. La cantidad y el tipo de sólidos depositados en el nejayote incluidos los lípidos, dependen de los parámetros del proceso. En este sentido, el nejayote se convierte en

un sistema útil para conocer de forma indirecta los cambios que se suscitan en el maíz a través del tiempo.

La caracterización de la formación del nejayote en tiempo real puede ser idónea a la industria para controlar el proceso con el fin de obtener un producto homogéneo y de calidad, minimizando el tiempo y los gastos de producción, además de conservar en mayor medida la calidad nutricional destacando los lípidos esenciales del maíz.

2.4.1 Técnicas de caracterización óptica

En la actualidad existen métodos de análisis no invasivos que permiten valorar y caracterizar sistemas y/o procesos en tiempo real. Los métodos de caracterización óptica utilizan la radiación electromagnética como medio de interacción con el material en estudio por lo que presentan una gran diversidad de aplicaciones en cuanto al análisis de propiedades de materiales en sus distintas fases. Permiten además, la optimización de procesos a través de su control en tiempo real, ya que cubren un amplio campo de aplicaciones debido a sus variantes, producto de los parámetros susceptibles de ser modificados (intensidad, polarización, geometría del sistema y longitud de onda de la luz), rapidez de uso, y a la instrumentación disponible que posibilita la automatización de los procesos.

Dentro de los métodos ópticos destaca: La espectroscopía basada en el esparcimiento de la luz (turbidimetría) que es una técnica no invasiva que puede ser aplicada en el monitoreo de procesos, específicamente se utiliza para determinar la concentración de sólidos en suspensión y del cual es posible obtener el tamaño de partículas en una solución (Domingues y col., 2008). El Esparcimiento Multiángulo de la luz (MALLS), se basa en la turbidimetría de un sistema, mide la cantidad de luz esparcida por una solución en función del ángulo del haz de luz incidente. La intensidad de la luz dispersada está también en función de la concentración de la muestra en solución.

De acuerdo con Xin y col. (2005), las técnicas de análisis basadas en el esparcimiento de la luz han sido usadas por años para obtener información sobre tamaño, forma, composición, estructura y concentración de partículas en un sistema, siendo técnicas útiles para usarse en tiempo real en

la caracterización de productos alimenticios. Por su parte Xin y col. (2005), demostraron experimentalmente que el esparcimiento de la luz láser es un método útil para la determinación rápida de grasa y proteínas en leche cruda. Bowen y col. (2006), determinaron si la oxidación de lípidos en presencia del almidón de maíz “Waxy” inducía un cambio en el peso molecular de la amilopectina contenida en dicho almidón. Lo anterior, sustentado en estudios previos que manifiestan que en sistemas donde se encuentran presentes carbohidratos, específicamente almidón y lípidos como en el caso del maíz, los radicales libres producto de la oxidación de los lípidos pueden llegar a unirse al almidón, incrementando el peso molecular de éste, y por consecuencia afectar la calidad de los sistemas en cuestión o en los productos que se elaboren a partir de este. Las muestras valoradas consistieron en almidón de maíz “Waxy” 30 % (w/w), agua y 4 % de AG libres (60 % ácido linoleico y 40 % de otros AG libres). Las muestras se trataron por extrusión a diferentes condiciones de temperatura. La oxidación de lípidos se monitoreó indirectamente a través de la formación de hexanal y para la determinación del peso molecular del almidón se utilizó MALLS. Los resultados obtenidos por MALLS denotan que a mayor intensidad de la luz, el tamaño de partícula es menor, si hay un incremento en el tamaño de ésta o en el peso molecular entonces la intensidad de la luz esparcida disminuye. Las muestras de almidón analizadas manifiestan dicho comportamiento, mostrando que hay una disminución en el peso molecular del almidón aun en presencia de altas concentraciones de hexanal encontrado como producto de la oxidación de los lípidos por efecto del proceso de extrusión. Los resultados obtenidos por la técnica de MALLS coinciden con los obtenidos por otros métodos de valoración para este parámetro. Flett y Corredig (2009), mencionan que es posible determinar la influencia de polisacáridos como la κ -carragenina sobre la formación de agregados de proteínas del suero de leche por exposición al calor a través de Cromatografía de exclusión (SEC) acoplado a un sistema de esparcimiento de la luz láser multiángulo (MALLS). Flett y Corredig (2009) indican que con esta última técnica pudiese ser posible obtener una medición absoluta de la masa de los agregados formados en un sistema. Estudios realizados por Domingues y col. (2008) revelan que la espectroscopía por esparcimiento de la luz es de aplicación potencial en el monitoreo de los péptidos de las membranas en solución, solos y/o en combinación con lípidos. Estudios realizados por Benitez y col. (2007), exponen la utilidad de la técnica de esparcimiento de la luz para la determinación de la turbidez en un sistema de jugo de manzana.

Caracterización óptica en línea del sistema de nixtamalización

Considerando lo anterior, es posible implementar un sistema MALLS para la caracterización del nejayote en tiempo real que complemente la valoración fuera de línea de los lípidos y sus transformaciones oxidativas; los patrones de difusión obtenidos por las técnicas ópticas en tiempo real sobre los componentes del maíz tales como fibra, almidón y proteína en el nejayote por efecto de la nixtamalización, pudiesen indicar una relación directa entre estos fenómenos y las condiciones óptimas en tiempo y condiciones del tratamiento térmico-alcalino que permitan la conservación en mayor medida de los lípidos esenciales.

CAPÍTULO 3 MATERIALES Y MÉTODOS

El capítulo 3 incluye la descripción del maíz utilizado como materia prima en el presente estudio, posteriormente se desarrolla la metodología de la cocción térmico-alkalina y el reposo de los granos de maíz (nixtamalización). Una vez establecida la forma de obtención de la harina de maíz nixtamalizada se presenta la técnica mediante la cual se le extrajo el aceite. Los factores de estudio para la obtención de los distintos tratamientos se enmarcan en un apartado que representa el diseño experimental seleccionado y la forma en que los resultados serán analizados, subsecuentemente se describe la metodología utilizada para cada variable de respuesta. Finalmente, se despliega la metodología mediante la cual se realizó la caracterización del nejayote en línea.

3.1 Descripción de la materia prima

Se utilizaron granos de maíz comercial “La Barca”, cultivado en La Barca, Jalisco, México. Fue adquirido en un mercado local de la ciudad de Morelia, Mich., México. Este maíz es un grano de endospermo duro con un índice de flotación de 17 granos (Tabla 3-1) y dureza de 21.9 kg-f, con un peso hectolítrico de 408.9 g/500 ml. El análisis bromatológico indicó los siguientes datos: humedad 5.8 %, cenizas 1.7 %, proteínas 9.8 %, extracto etéreo 5.9 % (6) y fibra dietaria 21.6 % del cual el 1.1 % corresponde a fibra soluble y 20.9 % a fibra insoluble.

3.2 Proceso de nixtamalización

La sección describe a continuación las etapas que comprenden el proceso de nixtamalización que son: cocción térmico-alkalina, lavado del nixtamal y su molienda para la obtención de masa; y finalmente la forma en la que se realizó el secado de la masa para la obtención de harina de maíz nixtamalizada.

3.2.1 Cocción térmico-alkalina y reposo

El tiempo óptimo de cocción del grano de maíz se determinó conforme a lo dispuesto en la NMX-FF-034/1-SCFI-2002 que establece una relación entre el Índice de Flotación y la dureza de los granos de maíz (Tabla 3-1).

Tabla 3-1. Relación entre el índice de flotación de granos de maíz y el tiempo de cocción térmico-alkalina (NMX-FF-034/1-SCFI-2002).

Granos flotantes	Dureza	Tiempo de cocción (min)
0-12	Muy duros	45
13-37	Duros	40
38-62	Intermedio	35
63-87	Suaves	30
88-100	Muy suaves	25

De acuerdo a los resultados se obtuvo una cantidad de granos flotantes en el rango 13-37 que corresponde a un grano duro y cuyo tiempo de cocción es de 40 min (Tabla 3-1). Considerando lo anterior, la cocción del maíz se llevó a cabo con agua destilada por 40 min a 94°C en una relación 1:2 (10 kg de maíz/20 L de agua destilada) (Figura 3-1), las concentraciones de hidróxido de calcio fueron de acuerdo al arreglo experimental (Tabla 3-2). El tratamiento alcalino se realizó con “Nixtocal” hidróxido de calcio comercial grado alimenticio (Grupo Calidra, D.F., México) (4).



Figura 3-1. Lotes de maíz para su cocción a diferentes concentraciones de Hidróxido de Calcio y tiempos de reposo.

Una vez cocido el maíz, se procedió al reposo en el agua de cocción (nejayote) (Figura 3-2) a los períodos de tiempo establecidos en el arreglo experimental (Tabla 3-2).



Figura 3-2. Reposo del maíz cocido en el agua de cocción (nejayote).

3.2.2 Lavado del nixtamal, molienda y secado

Para el lavado, molienda y secado del nixtamal se consideró el método tradicional utilizado por la industria nixtamalera:

Lavado del nixtamal

El maíz cocido y reposado (nixtamal) se depositó en una bandeja tipo colador para drenar el nejayote, el nixtamal se lavó manualmente de forma enérgica frotando los granos de maíz contra las paredes del depósito, usando para ello agua corriente por 5 min, eliminando los residuos de nejayote y fragmentos de pericarpio. Concluido el lavado, el nixtamal se depositó en bandejas de plástico para su molienda (Figura 3-3).



Figura 3-3. Nixtamal lavado.

Molienda del nixtamal y secado de la masa

La molienda del nixtamal fue mecanizada, usando un molino dotado de dos piedras circulares de fabricación industrial hasta la obtención de masa (Figura 3-4). La masa obtenida fue de una sola molienda.



Figura 3-4. Molienda del nixtamal y obtención de masa.

La masa se depositó en bandejas de plástico (Figura 3-5) donde se dividió manualmente en proporciones de menor tamaño para permitir una reducción de humedad hasta 20 %.



Figura 3-5. Reducción del porcentaje de humedad de la masa.

Finalmente, la masa se secó en un secador tipo flash a 260°C por 3 s (CINVESTAV-Qro.) hasta obtener una humedad de 8-10 % en harina. La harina fría se empacó al vacío y se almacenó a 4°C para su posterior extracción de aceite (Figura 3-6).

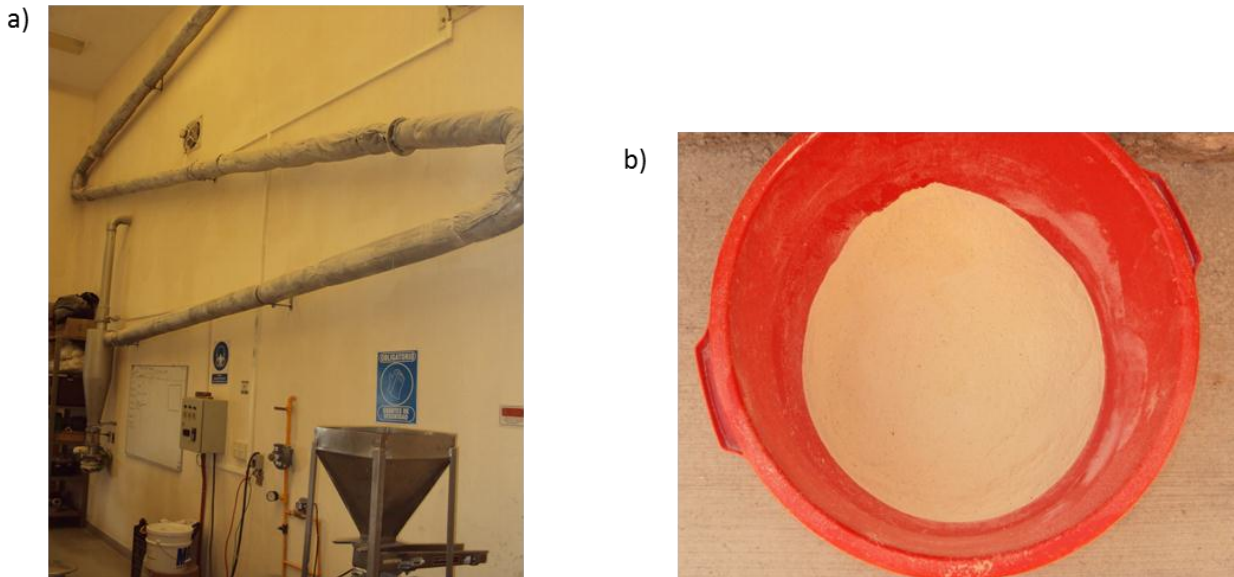


Figura 3-6. Secador tipo Flash-dryer (a) y harina nixtamalizadas (b)

3.3 Extracción de aceite (8)

Para la extracción de aceite se utilizó el método directo con solvente. De cada harina nixtamalizada (Tabla 3-2) se tomó una cantidad de 200 g y se colocó en un frasco ámbar con 500 ml de hexano por 24 h, durante este período los frascos con muestra y solvente se agitaron cada 4 h por 5 min. Al término, la fase líquida se decantó y se filtró al vacío con papel filtro Whatman No. 42. Posteriormente, el filtrado se concentró en un equipo rotavapor Yamato, modelo BM100, recuperando el aceite extraído, el cual se colocó en frascos ámbar que se almacenaron en congelación hasta su análisis.

3.4 Diseño experimental y Análisis estadístico

Para encontrar la mejor combinación de las variables del proceso de nixtamalización que pudieran optimizar la obtención de harina de maíz nixtamalizada con el menor cambio oxidativo en los lípidos se estableció un diseño central compuesto (DCC). El DCC usado en este estudio se basó en un modelo factorial 2^k con combinaciones adicionales 2^k llamadas puntos axiales y n_c puntos centrales. Las coordenadas de los puntos axiales de los ejes del factor codificado fueron $(\pm\alpha, 0, 0, \dots, 0)$, $(0, \pm\alpha, 0, 0, \dots, 0)$, $(0, 0, 0, \dots, \pm\alpha)$, y los puntos centrales fueron de la forma $(0, 0, 0, \dots, 0)$. Dependiendo de la selección de α en los puntos axiales. La propiedad de rotabilidad aplicada en este caso fue dada por $\alpha = (2k)^{1/4}$. El valor de α para un diseño con 2 factores es $\alpha = 1.414$. El modelo incluyó 4 puntos factoriales, 5 réplicas en el punto central y 4 puntos axiales. Las variables dependientes fueron concentración de hidróxido de calcio (X1) con tres niveles (0.75 %, 1.5 %, 2.25 %) y tiempo de reposo en las soluciones de hidróxido de calcio (X2) con tres niveles (8, 12 y 16 h). El arreglo experimental se presenta en la Tabla 3-2. Las variables de respuesta fueron índices de: yodo, saponificación, peróxidos y acidez, además del coeficiente de extinción, FT-IR, RMN y AG metil esterificados (FAMES).

Para describir la relación entre cada variable de respuesta y las variables del proceso X_1 y X_2 se adoptó un modelo matemático de segundo orden (ecuación 1):

$$Y_1 = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_1 (X_1)^2 + \beta_2 (X_2)^2 \quad (1)$$

Donde Y_1 fue la variable de respuesta; X_1 la concentración de hidróxido de calcio; X_2 el tiempo de reposo; y, β_0 , β_1 , β_2 , β_{12} , β_{11} , y β_{22} los coeficientes de regresión. El análisis estadístico se realizó con los paquetes estadísticos Minitab 15 y Statistica 7.

Optimización

El valor numérico máximo o mínimo para cada variable de respuesta para encontrar el valor óptimo que causa el menor deterioro en los aceites durante el proceso de nixtamalización se

determinó usando el paquete estadístico Minitab 15. Se usaron los modelos predictivos para representar gráficamente cada sistema a través de una superficie de respuesta.

Tabla 3-2. Arreglo experimental usado para las diferentes combinaciones de nixtamalización: concentración de hidróxido de calcio y tiempo de reposo.

No. de tratamiento	Variables del proceso			
	Variables codificadas		Variables no codificadas	
	X1	X2	Hidróxido de Calcio (%)	Tiempo de reposo (h)
1	-1	-1	0.75	8
2	+1	-1	2.25	8
3	-1	+1	0.75	16
4	+1	+1	2.25	16
5	-1.414	0	0.439	12
6	+1.414	0	2.56	12
7	0	-1.414	1.5	6.34
8	0	+1.414	1.5	17.65
9	0	0	1.5	12
10	0	0	1.5	12
11	0	0	1.5	12
12	0	0	1.5	12
13	0	0	1.5	12

Análisis de correlación

Para evaluar el grado de asociación lineal entre las variables de respuesta, se realizó un análisis del coeficiente de correlación de *Pearson*, cuyo valor indica el grado de correlación entre dos variables, el coeficiente de correlación se encuentra entre -1 y +1. Si una de las variables tiende a

incrementar conforme otra variable disminuye, el coeficiente de correlación es negativo. Inversamente, si las dos variables tienden a incrementarse juntas el coeficiente de correlación es positivo (Gopinath y col., 2009).

3.5 Valoración de la oxidación de los lípidos del maíz nixtamalizado por métodos indirectos

Índice de yodo

El índice de yodo (IY) se determinó por el método iodométrico “método de Hanus” (AOAC, 1990), de acuerdo a la Norma Mexicana NMX-408-1981. El cual consiste en romper los dobles enlaces de los lípidos y saturarlos con halógenos de yodo y bromo, para ello se pesaron 0.25 g de aceite a los que se les adicionaron 10 ml de cloroformo y 25 ml de solución de Hanus, se dejó reposar en obscuridad por 30 min, al término se adicionaron 10 ml de KI al 15 % más 100 ml de agua destilada hervida y fría además de 0.5 ml de solución de almidón como indicador. El yoduro de potasio libera el yodo en forma estequiométrica para ser cuantificado por titulación con una solución de tiosulfato de sodio (0.1 N). Para su determinación se usó la fórmula siguiente:

$$IY = \frac{(V_t - V_m) N \times 12.69}{M}$$

Donde:

IY = Índice de Yodo

V_t = Volumen de la solución de tiosulfato de sodio gastado en la titulación del blanco

V_m = Volumen de la solución de tiosulfato de sodio gastado en la titulación de la muestra

N = Normalidad de la solución de tiosulfato de sodio

12.69 = Equivalente del yodo

M = Masa de la muestra en gramos

Índice de saponificación

El índice de saponificación (IS) se determinó por el método oficial de la AOAC (1990), descrito por la Secretaría de Comercio a través de la Norma Oficial Mexicana NOM-F-174-S. El IS se considera como el peso en miligramos de KOH que se requiere para saponificar completamente un gramo de grasa; este IS es inversamente proporcional al peso molecular promedio de los AG. Se pesaron 2.5 g de aceite y se les agregaron 25 ml de KOH, la muestra se conectó a un condensador por 2 h, al término se adicionaron 0.25 ml de fenolftaleína como indicador y se valoró con una solución de HCl 0.1 N.

Para su determinación se usó la fórmula siguiente:

$$IS = \frac{(B-M) (N) X 56.1}{P}$$

Donde:

IS = Índice de Saponificación

B = Volumen, ml 0.5 N HCl requeridos para titular el blanco

M = Volumen, ml 0.5 N HCl requeridos para titular la muestra

N = Normalidad de la solución de HCl

P = Peso de la muestra en gramos

56.1 = Equivalente del KOH

Índice de acidez

Para obtener el índice de acidez (IA) se consideró el método establecido por la AOAC (1990). Para la determinación del IA se llevó a cabo la titulación con una solución etanólica de NaOH 0.01 N de una muestra de 10 g de aceite disueltos en 30 ml de etanol previamente neutralizado al cual se le adicionó 1 ml de fenolftaleína como indicador. El IA fue expresado como mg de NaOH requeridos para neutralizar los AG libres presentes en 1 g de la muestra de aceite (mg/g). Cada muestra de aceite fue analizada por duplicado. Para su determinación se usó la fórmula siguiente:

$$\% \text{ Acidez} = (V) (0.0282) (100) (N) / P$$

Donde:

V = Volumen, ml NaOH requeridos para titular la muestra

N = Normalidad del NaOH

0.0282 = Equivalente del ácido oleico

P = Peso de la muestra en gramos

Índice de Peróxidos

El índice de peróxidos (IP) de cada muestra de aceite se determinó siguiendo el método oficial de la AOAC (1990), descrito por la Secretaria de Comercio y Fomento Industrial en la Norma Mexicana NMX-F-154-1987. El método consiste en una titulación iodométrica, y se fundamenta en la capacidad de los peróxidos para producir yodo al oxidar el ión yoduro presente en el yoduro de potasio. Para ello se pesaron 2.5 g de aceite y se adicionaron 15 ml de solución ácido acético/cloroformo, posteriormente se adicionaron 0.25 ml de solución saturada de KI y se permitió reposar por 1 min para agregar 15 ml de agua destilada y 0.25 ml de solución de almidón como indicador. El yodo libre se valoró con una solución de tiosulfato de sodio (0.01 N). El resultado se expresó como meq de O₂ por kg de grasa.

Para su determinación se usó la fórmula siguiente:

$$IP = \frac{(A - A_1) \times N \times 1000}{M}$$

Donde:

IP = Índice de Peróxidos

A = ml de solución de tiosulfato de sodio gastados en la titulación de la muestra

A₁ = ml de solución de tiosulfato de sodio gastados en la titulación del blanco

N = Normalidad de la solución de tiosulfato de sodio

M = Masa de la muestra en gramos

3.6 Valoración de la oxidación de los lípidos del maíz nixtamalizado por métodos directos

Determinación de K_{232} y K_{270}

Con un espectrofotómetro UV (JENWAY modelo 6405 UV/Vis) se determinó el coeficiente de extinción específica K_{232} y K_{270} a una longitud de onda de 232 y 270 nm de una solución de aceite disuelta en hexano y expresada como K_{232} y K_{270} . El cálculo se basó en la ecuación:

$$K_{\lambda} = D_{\lambda} / C$$

Donde:

K_{λ} es el coeficiente de extinción específica para cada longitud de onda,

D_{λ} es la absorbancia

C es la concentración de aceite en g/100ml.

Espectroscopía infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)

Se utilizó un equipo FTIR marca Perkin Elmer, modelo Spectrum GX (Figura 3-7), la técnica de análisis fue ATR con punta diamante, 16 barridos, 4 cm^{-1} de resolución. En la celda de prueba se colocó una pequeña cantidad de muestra ($2 \mu\text{l}$) con una micropipeta creando una película delgada. Todos los espectros fueron obtenidos en el rango de 4000 a 400 cm^{-1} . El análisis se llevó a cabo a temperatura ambiente.

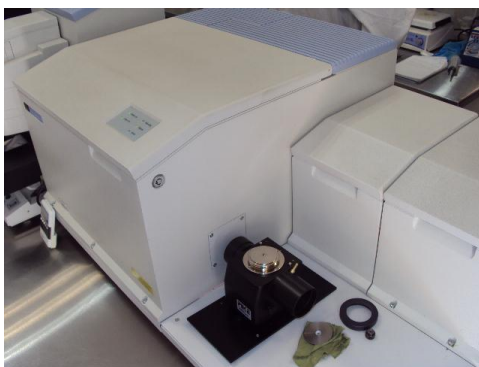


Figura 3-7 Espectrómetro Infrarrojo por Transformada de Fourier.

Determinación de la composición de ácidos grasos por cromatografía de gases

La composición de AG en las muestras de aceite de maíz nixtamalizado fue determinada por cromatografía de gases previa conversión de los AG a ácidos grasos metil esterificados a través de la técnica FAMES (Fatty Acids Methyl Esterified), la cual consistió en saponificar 0.05 g de aceite con 8 ml de NaOH (0.5 N). Los AG libres obtenidos tras la saponificación se esterificaron con 9 ml de BF₃-metanol. Los FAMES se analizaron subsecuentemente por Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas de impacto electrónico y analizador de cuadrupolo. La identificación de espectros se hizo por comparación de espectros de masas con biblioteca NIST tomando como identificación positiva un porcentaje de parecido mínimo de 80 %. El equipo utilizado fue un Cromatógrafo de gases marca Agilent Technologies modelo 7890 A, Espectrómetro de Masas Cuadrupolar con impacto electrónico marca Agilent Technologies modelo 5975 C, automuestreador marca Gerstel modelo MPS2. Las condiciones de análisis de muestras fue: programa de temperatura de horno inicial 40 °C, 5 °C/min hasta 220 °C, 20 °C/min hasta 270 °C y constante a 270 °C por 7 min. La inyección de las muestras fue automática, 2 mL, con una temperatura del inyector de 250 °C, Split 70:1. La columna utilizada fue de 60 m x 0.25 mm x 0.25 mm, modelo HP-5, marca Agilent Technologies. El gas acarreador fue Helio, 1 mL/min. La temperatura de la línea de transferencia: 280 °C.

Las condiciones del espectrómetro de masas fueron: Temperatura fuente 230 °C, temperatura cuadrupolo: 150 °C, rango de masas de 33 a 750 uma, energía del filamento 70 eV.

Resonancia Magnética Nuclear

Los espectros de ¹H-RMN se obtuvieron con un equipo Varian Mercury Plus de 400 MHz (Figura 3-8), utilizando CDCl₃ como disolvente y TMS como referencia interna. Los desplazamientos químicos están dados en partes por millón.

Para el análisis de las muestras de aceite se tomaron alícuotas de 200 µl de cada aceite que fueron mezclados en un tubo de 5 mm de diámetro con 400 µl de CDCl₃, el cual contenía 0.2 % de cloroformo no deuterado y una mínima cantidad (0.03 %) de tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Los parámetros para la adquisición de los espectros fueron: ancho del espectro

de 400 MHz, tiempo de relajación 3 s, número de escaneos 64, tiempo de adquisición 3.74 s, con un tiempo de adquisición total de 12 min 54 s. El análisis se llevó a cabo a 25 °C.



Figura 3-8 Equipo de Resonancia Magnética Nuclear.

3.7 Caracterización en línea del proceso de nixtamalización por MALLS

A continuación se presenta la descripción del sistema óptico utilizado para el monitoreo de procesos térmicos en soluciones por medio del análisis del efecto de esparcimiento de luz (1, 5).

Sistema óptico

En la Figura 3-9 se presenta el diagrama del sistema óptico, en la parte superior del sistema se encuentra la fuente de luz que consiste en un módulo láser semiconductor (modelo

LTG65012A5-T, Lasermate Group, Inc., Pomona, CA) con longitud de onda de 643 nm. Por medio de un divisor de haz se dirige el haz de luz láser en dos direcciones, una hacia la muestra a monitorear y la otra hacia un arreglo de fotodiodos con el que se obtiene una señal eléctrica proporcional a la intensidad de luz emitida por el módulo láser, normalizando la señal correspondiente a la intensidad de luz esparcida.

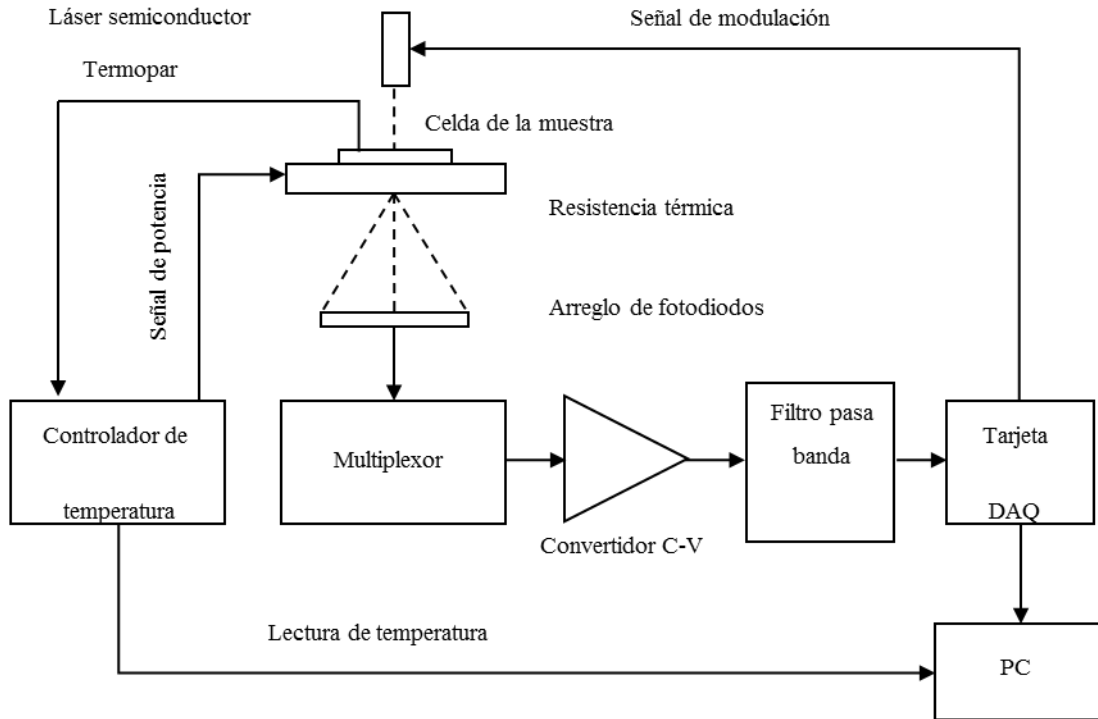


Figura 3-9. Esquema de la configuración del sistema óptico para la transmisión y medición de la dispersión de la luz láser.

Para la detección de la intensidad de luz esparcida por la solución se utilizó un arreglo de 16 fotodiodos (PDB-C216 Advanced Photonix). El multiplexor selecciona secuencialmente el fotodiodo cuya señal es transferida a la etapa de acondicionamiento de señal. Mediante una tarjeta de adquisición de datos (PCI6024E National Instruments Inc.) la señal acondicionada es transmitida a una computadora personal para su procesamiento y registro en un archivo. Los fotodiodos de la parte central del arreglo detectan la intensidad de luz en la posición angular en que se transmite la radiación que no es desviada por la solución, en esta posición la intensidad

detectada es máxima y disminuye simétricamente conforme la posición del fotodiodo se aleja del centro. Al conjunto de intensidades detectadas se le denomina patrón de esparcimiento. Por medio de un arreglo lineal de fotodiodos se detecta la intensidad de la luz que se transmite a través de la solución y que es esparcida siguiendo trayectorias en distintas direcciones angulares. La forma en que se distribuye la intensidad de luz sobre el patrón de esparcimiento es función de las características de la solución.

Como parámetro que permite cuantificar el efecto de esparcimiento producido por la solución se utilizó la varianza (S) de la distribución normal a la que se aproxima el patrón de esparcimiento. Un segundo parámetro utilizado es el esparcimiento parcialmente integrado (PIS) que se calculó a partir de la sumatoria de las intensidades detectadas por cada uno de los fotodiodos del arreglo.

Procesamiento de datos

El procesamiento de datos del sistema electrónico se realizó mediante un instrumento virtual en el software LabView. Cada 63 ms se tomó una lectura para el arreglo de fotodiodos y se formó un vector de 16 componentes cada segundo, reconstruyendo la forma de la campana de Gauss. Con el vector de esparcimiento se obtuvo un dato cada segundo para PIS y otro para S. Cada 5 segundos se registraron los datos del PIS, S, y las señales de los fotodiodos individuales. Los valores de la temperatura que transmite el controlador igualmente se registraron cada 5 segundos (Ortíz-Alvarado, 2010).

Desarrollo de la Metodología

La caracterización en línea se llevó a cabo en dos partes, la primera consistió en un ensayo preliminar sobre la amilopectina como componente principal del almidón con el objetivo de llevar a cabo la estandarización del sistema óptico en línea y la segunda se enfocó a la caracterización del nejayote durante el proceso de nixtamalización.

Evaluación del efecto del hidróxido de calcio sobre las propiedades de la amilopectina (Yahuaca-Juárez y col., 2012)

La información obtenida en este apartado fue publicada en el artículo “**Laser-Light Scattering System Used to Evaluate the Effect of Calcium Hydroxide on the Properties of Amylopectin**” (ANEXO 1). A continuación se presentan las suspensiones analizadas y la metodología empleada para la medición de la luz láser esparcida.

Suspensiones analizadas

El efecto del hidróxido de calcio sobre las propiedades de la amilopectina se evaluó en una suspensión de amilopectina al 0.5 % con Ca(OH)_2 al 0.25 %. Las suspensiones control fueron: amilopectina al 0.5 %, Ca(OH)_2 al 0.025 % y 0.25 %, todas ellas en agua destilada. Todas las soluciones fueron calentadas hasta 85 °C y enfriadas a 30 °C. La medición óptica se realizó a lo largo del proceso calentamiento/enfriamiento.

Medición del esparcimiento de la luz láser (MALLS)

En el contenedor de la muestra (Figura 3-9), se colocaron 0.4 ml de cada muestra. El rango de calentamiento para las suspensiones fue de 30 °C a 85 °C con un incremento de 3 °C/min. Durante el proceso de calentamiento, el haz de luz láser pasa a través de cada suspensión. La señal generada del esparcimiento de la luz láser fue recuperada con el arreglo de fotodiodos.

Caracterización del nejayote durante el proceso de Nixtamalización

El experimento en línea para el proceso de nixtamalización se desarrolló en las siguientes muestras: control agua, control agua-hidróxido de calcio (0.43 %), control agua- maíz (500 ml/25 g) y el tratamiento agua- maíz-hidróxido de calcio (500 ml/25 g/0.43 %). La cocción térmico-alcalina se efectuó a 94°C por 40 min con un reposo de 12 h a temperatura ambiente.

La solución de cocción se mantuvo en circulación continua a través de la celda óptica desde el tiempo 0 hasta el término de las 12 h de reposo. El sistema óptico utilizado fue el descrito

anteriormente en el cual se recabaron datos cada 5 s. Los datos obtenidos fueron: Temperatura, Transmisión y Varianza.

El contenedor para la nixtamalización está adaptado a una resistencia térmica, con un controlador de temperatura comercial (MicrOmega CN77000) que genera una rampa de temperatura programable (Figura 3-10).

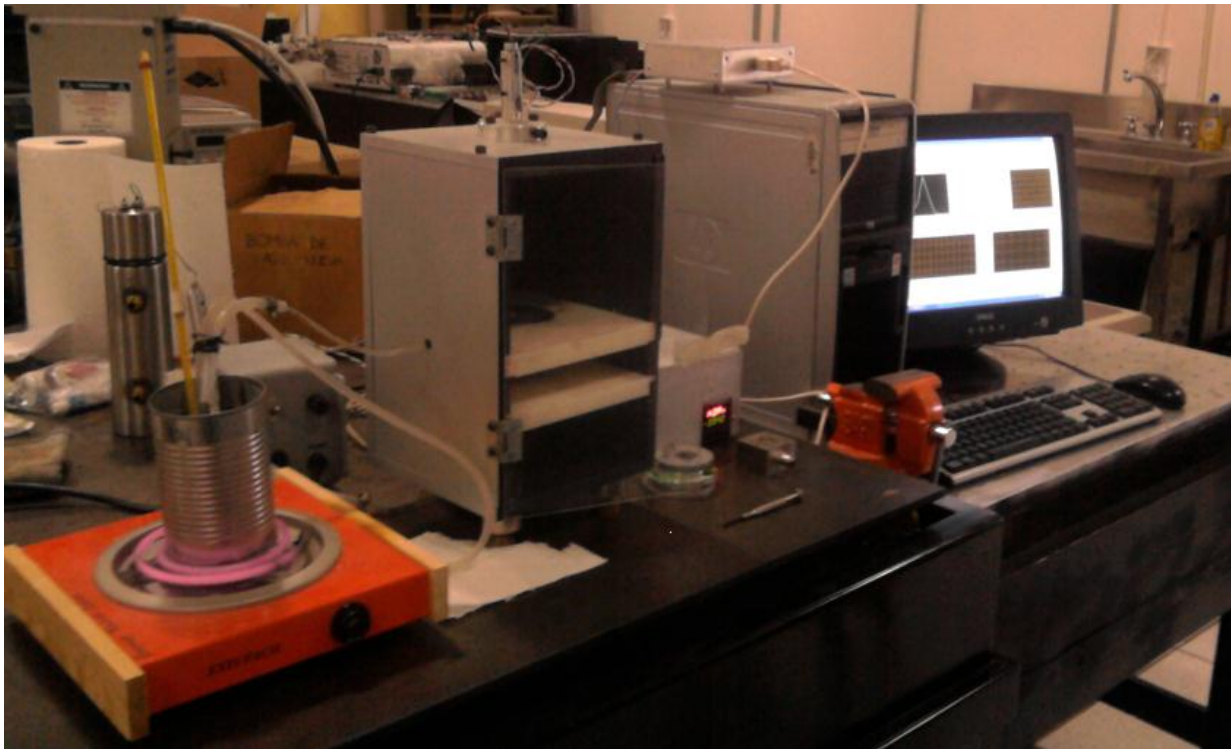


Figura 3-10. Sistema óptico MALLS para el proceso de nixtamalización.

CAPÍTULO 4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se presentan los resultados derivados de la metodología descrita en el capítulo anterior, éstos se encuentran divididos en dos secciones: I) la primera contempla la caracterización en línea del proceso de nixtamalización por MALLS (4.1) y II) la segunda se refiere a la evaluación de la oxidación del aceite de harinas de maíz nixtamalizadas (2.3 - 4.3).

La caracterización en línea del proceso de nixtamalización se divide en dos secciones: i) la caracterización en línea de la amilopectina en presencia de hidróxido de calcio, lo cual permitió validar el sistema óptico definiendo las condiciones que permitieron el uso del mismo en la caracterización del nejayote, y ii) la caracterización en línea del nejayote durante la nixtamalización.

La evaluación de la oxidación del aceite de harinas de maíz nixtamalizadas se desarrolla en dos etapas: La sección 4.2 que se refiere a los resultados obtenidos por los métodos indirectos (3.5) y la sección 4.3 que corresponde a los resultados obtenidos por los métodos directos (3.6).

4.1 Caracterización en Línea por MALLS del proceso de nixtamalización

El nejayote como agua de cocción representa un potencial para evaluar los cambios que ocurren en el maíz durante la cocción alcalina y el reposo, el almidón como componente mayoritario del maíz podría indicar a través de su transformación, el efecto de las condiciones de nixtamalización. Por lo anterior, para mostrar la pertinencia del uso de MALLS para evaluar los cambios ocurridos en el maíz a través del nejayote, se realizó en primer lugar la evaluación del almidón a través de uno de sus componentes principales, la amilopectina (ANEXO 1). Los resultados obtenidos en el presente estudio indican que los cambios asociados con las propiedades de la amilopectina bajo diferentes condiciones pueden ser estudiadas por técnicas ópticas, por lo que el sistema óptico fue utilizado para caracterizar posteriormente el nejayote.

Caracterización en línea de la amilopectina en presencia de hidróxido de calcio (ANEXO 1 (Yahuaca-Juárez y col., 2012))

El calentamiento de las suspensiones de amilopectina-agua y amilopectina-hidróxido de calcio mostraron un cambio en el esparcimiento de la luz. La Figura 4-1 muestra el patrón de esparcimiento típico para la suspensión de 0.5 % de amilopectina/agua a: a) 30 °C y b) 70 °C; y para la suspensión 0.5 % amilopectina/0.25 % Ca(OH)₂ a c) 30 °C y b) 70 °C. Los patrones de la luz esparcida están compuestos de 16 señales en una línea. El tamaño y la forma de la distribución de esparcimiento pueden correlacionarse con el comportamiento de la muestra durante el proceso. Estas 16 señales fueron usadas para calcular PIS y S.

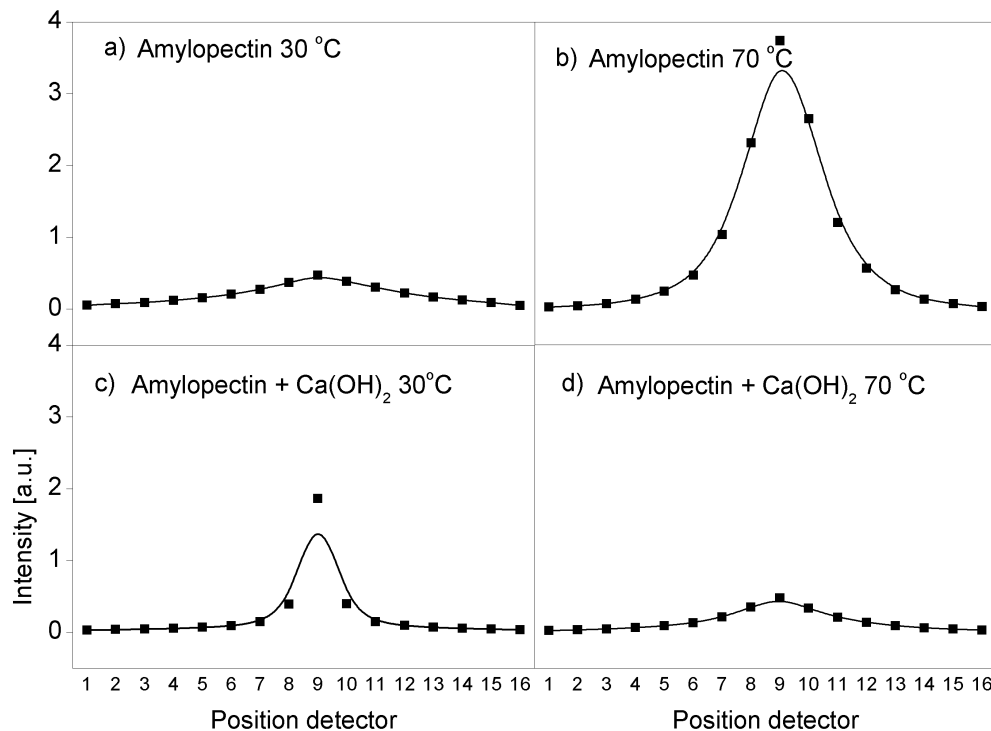


Figura 4-1. Ejemplos de las señales de esparcimiento obtenidas con el arreglo de fotodiodos de: la suspensión de 0.5 % amilopectina/agua calentada a: a) 30 °C, b) 70 °C y la suspensión de 0.5 % amilopectina/0.25 % Ca(OH)₂ calentada a: c) 30 °C and d) 70 °C.

Los valores de PIS y S de la medición óptica con las suspensiones de amilopectina en función de la temperatura se muestran en la Figura 4-2a. En ella se observó que al incrementarse la temperatura en la suspensión de amilopectina hubo un cambio relativamente alto en la señal de

esparcimiento alrededor de 65 °C. Aproximadamente a 60 °C la varianza disminuye y PIS incrementa. La Figura 4-2b muestra la señal PIS obtenida durante la secuencia calentamiento-enfriamiento-calentamiento, reflejándose un proceso no reversible debido a los cambios fisicoquímicos ocurridos en la amilopectina inducidos por el calentamiento.

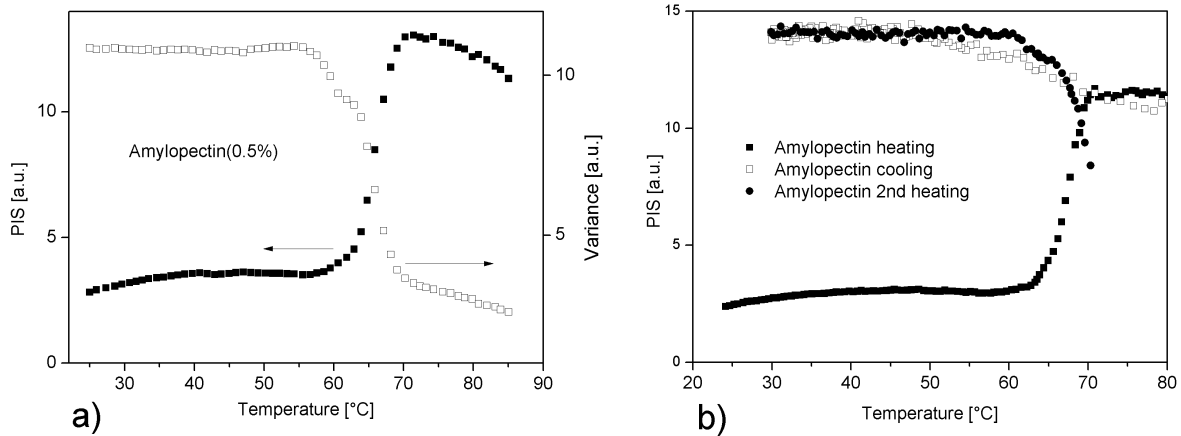


Figura 4-2. Señales a) PIS (■) y Varianza (□) como función de la temperatura en la suspensión 0.5 % Amilopectina-agua, b) Señal PIS durante la secuencia de calentamiento-enfriamiento-calentamiento de la suspensión 0.5 % Amilopectina-agua. (■) calentamiento (□) enfriamiento.

La señal PIS de la suspensión hidróxido de calcio-agua en función de la temperatura para las concentraciones de hidróxido de calcio de 0.025 % y 0.25 % se muestran en la Figura 4-3. La muestra con la concentración más alta de Ca(OH)_2 (0.25 %) exhibe una disminución en la señal PIS a 42 °C comparada con la muestra a 0.025 % donde la señal PIS disminuye cuando se aplica una temperatura de 60 °C. Esto puede ser explicado en términos de la transferencia de calor por convección, la cual produce el movimiento de las partículas en las suspensiones. Concentraciones altas de Ca(OH)_2 incrementan el esparcimiento de la luz láser, reduciendo la señal PIS. Durante el enfriamiento se observó un proceso reversible.

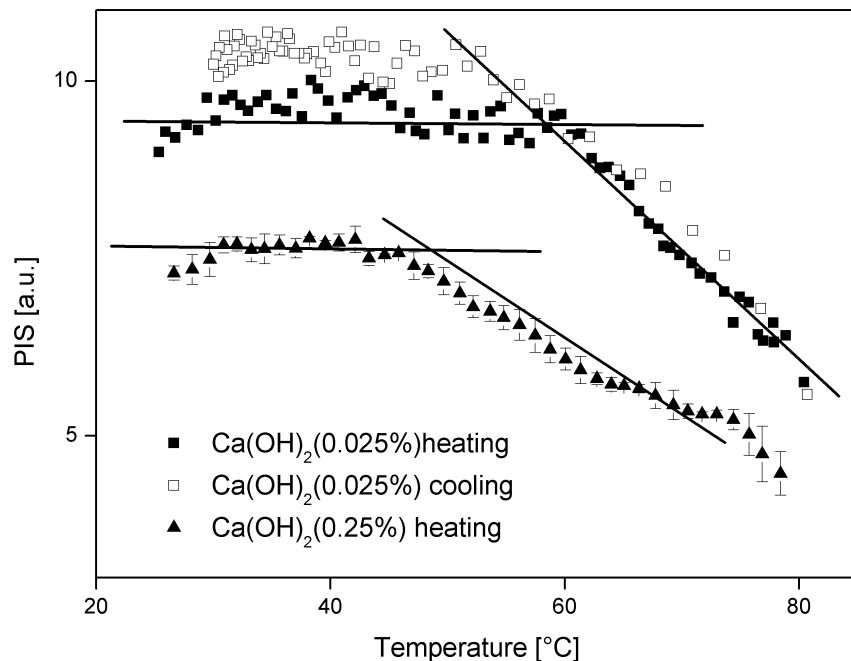


Figura 4-3. PIS en función de la temperatura (°C) en una suspensión de Ca(OH)_2 -agua a diferentes concentraciones, medidos también durante el enfriamiento.

Para mostrar la eficacia de MALLS en la evaluación de los cambios ocurridos en la amilopectina por efecto del Ca(OH)_2 y la temperatura, se compararon los resultados con evaluaciones de las mismas suspensiones con RVA y Calorimetría diferencial de barrido (DSC). La Figura 4-4 muestra la comparación de los gráficos de las suspensiones de amilopectina/agua y amilopectina/ Ca(OH)_2 /agua en función de la temperatura evaluadas con diferentes técnicas: a) Varianza y b) PIS con MALLS, c) DSC y d) RVA. Las señales ópticas PIS y Varianza no presentaron cambios considerables a temperaturas inferiores a 45 °C. Alrededor de 50 °C, la señal óptica observada refleja una posible reacción química originada por la interacción entre la amilopectina y el hidróxido de calcio. A 55 °C se observó un máximo de Varianza y un mínimo de PSI. Para las curvas de RVA el cambio en la suspensión mostrado por un incremento en la señal fue a 72 °C mientras que para DSC el cambio endotérmico asociado a los cambios estructurales en la suspensión amilopectina/ Ca(OH)_2 fue a 65 °C. Los cambios en RVA y DSC se identificaron en un rango de temperatura de 68 °C y 82 °C en contraste con los cambios dados en PSI y Varianza entre 48 y 68 °C. Lo anterior se fundamenta en que los parámetros descriptivos del sistema óptico tiene la capacidad de detectar los cambios iniciales asociadas al

efecto de la temperatura y del Ca(OH)_2 mientras que RVA y DSC lo hacen cuando la transformación de la amilopectina es completa.

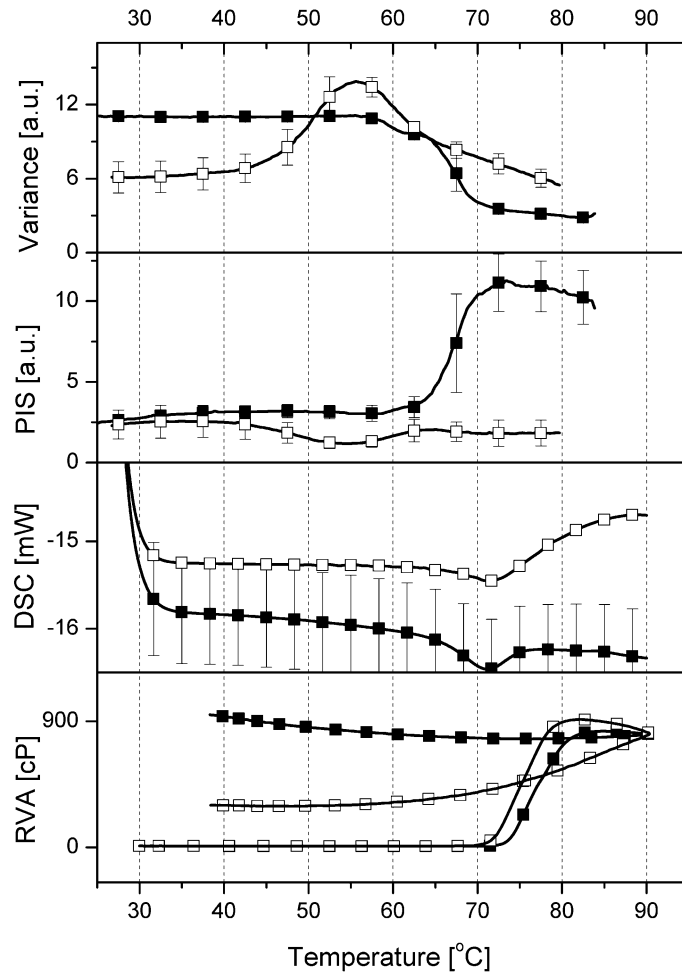


Figura 4-4. Comparación de las señales de Varianza, PIS, DSC and RVA en función de la temperatura ($^{\circ}\text{C}$) en, (■) amilopectina-agua, (□) amilopectina/ Ca(OH)_2 -agua.

Los resultados anteriores muestran que los cambios asociados con las propiedades fisicoquímicas de la amilopectina bajo diferentes condiciones pueden ser estudiados por señales ópticas obtenidas del esparcimiento de la luz láser medidas con un arreglo de 16 fotodiodos. El calentamiento de la amilopectina y la amilopectina-hidróxido de calcio dan un claro cambio en los parámetros de esparcimiento de la luz. El comportamiento en la señal de esparcimiento depende de la modificación de las cadenas de amilopectina debida al calentamiento de la muestra, la cual es influenciada por el hidróxido de calcio presente. Estos hallazgos permiten

suponer un alto potencial de aplicación del sistema óptico para la medición en línea de los cambios en las propiedades del almidón y sus componentes en algunos procesos industriales, incluyendo la caracterización del nejayote durante la nixtamalización.

Caracterización en línea del nejayote durante la nixtamalización (I)

Durante la cocción alcalina y el tiempo de reposo se va formando el nejayote, esta agua de cocción contiene además de hidróxido de calcio, almidón, proteínas, fibra y AG procedentes del grano de maíz. La cantidad y el tipo de compuestos que se van depositando en el nejayote dependen de las condiciones del proceso como son tiempo y temperatura de cocción y tiempo de reposo.

En la Figura 4-5 se presentan los resultados obtenidos para PSI y Varianza de a) las muestras control incluyendo la rampa de temperatura a la cual se llevó a cabo el proceso y b) del nejayote. En referencia a los controles, la variable PIS se mantiene en un rango de 34.5 a 35.5 a lo largo del proceso, el valor de esta variable es mayor a la señal de varianza. El agua presenta un valor de PIS inferior al de la suspensión de hidróxido de calcio-agua y maíz-agua, permaneciendo constante en la cocción y el reposo, en tanto que el maíz al comenzar el reposo incrementa su valor de PIS y el hidróxido de calcio disminuye. El valor de varianza es inverso al observado en PIS, durante la cocción el agua presenta el mayor valor, similar al del hidróxido de calcio, en tanto que el maíz obtuvo la menor varianza, posteriormente, en el reposo la varianza del agua permanece lineal y el hidróxido de calcio y maíz disminuyen su valor.

En lo que respecta al nejayote (Figura 4-5b) se observó que la etapa crítica dentro de la nixtamalización es la cocción ya que disminuye considerablemente la señal de PIS debido principalmente al efecto de los sólidos contenidos en la suspensión, el incremento en el contenido de sólidos en el nejayote se deriva de los sólidos que proceden del grano de maíz, que al ser expuesto a cocción sufre un ablandamiento del pericarpio, permitiendo la salida de los componentes del grano. Estos sólidos dispersan en mayor medida la luz, verificándose como un incremento en la Varianza. De acuerdo a Gutiérrez-Urbe y col. (2010) la pérdida de sólidos en el nejayote es de 8.5 a 12.5 %, de los cuales el 50 % corresponde a sólidos en suspensión que corresponden a cerca del 64 % de polisacáridos no amiláceos, 20 % de almidón y 14 % de

proteínas. El otro 50% comprende a los sólidos solubles que consisten en proteínas, azúcares, vitaminas y fitoquímicos ricos en fenoles y carotenoides. Muchos de los compuestos orgánicos asociados al nejayote provienen del pericarpio del germen y de la aleurona.

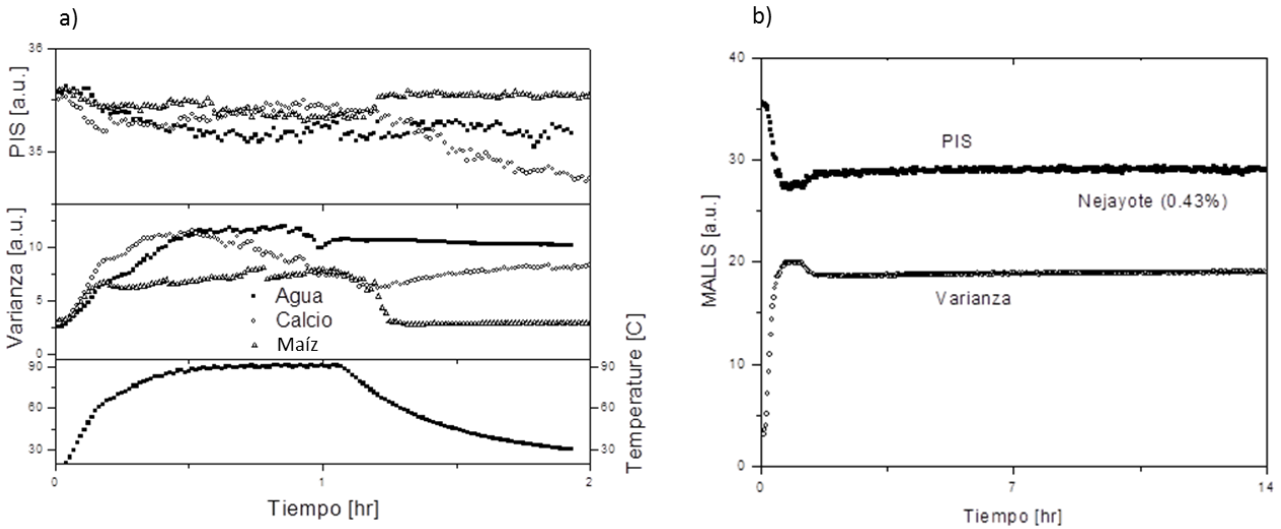


Figura 4-5. PIS y Varianza como función del tiempo (h) en las muestras a) control (agua, suspensión de hidróxido de calcio-agua y maíz-agua) y b) Nejayote (0.43 %).

En lo que se refiere a la etapa de reposo de los granos de maíz, MALLS no denota un cambio sustancial en los parámetros PSI y Varianza, lo que indica una disminución en la salida de sólidos del maíz expuesto a la cocción alcalina, sin embargo, no se descarta el ingreso de la suspensión alcalina al grano lo que puede promover aun en la etapa de reposo la modificación de los componentes físicos y químicos del grano, entre ellos los AG que se encuentran contenidos principalmente en el germen. Una vez que el pericarpio es removido del grano durante la cocción alcalina del maíz, la piloriza ubicada en la parte inferior del grano de maíz justo en la parte externa del germen también es reblandecida permitiendo que la suspensión alcalina ingrese al germen e interactúe con los AG.

4.2 Evaluación de la oxidación del aceite de harinas de maíz nixtamalizado por métodos indirectos (2, 3, 7)

Los índices de saponificación, peróxidos, acidez y yodo para el aceite de maíz nixtamalizado se concentran en la Tabla 4-1. Para cada índice se obtuvo el promedio que al compararse con el control indica el efecto general de la nixtamalización sobre los AG del maíz independientemente del nivel de los factores de estudio.

Tabla 4-1. Variables de respuesta obtenidos en el aceite de maíz nixtamalizado para los 13 tratamientos de acuerdo al arreglo experimental (Tabla 3-2).

No. de tratamiento	Variables de respuesta			
	IY (g yodo/100 g aceite)	IS (mg KOH/g aceite)	IP (meq O ₂ /kg aceite)	IA (%)
1	89.6	75.8	120.2	0.035
2	102.0	67.5	73.8	0.020
3	80.7	35.7	18.4	0.016
4	80.5	62.8	26.2	0.016
5	84.8	60.3	41.8	0.021
6	78.7	71.2	49.4	0.018
7	58.4	64.2	93.8	0.021
8	79.7	41.9	30.6	0.013
9	87.8	58.6	44.0	0.019
10	95.2	54.4	63.0	0.018
11	72.6	65.7	34.0	0.015
12	70.3	65.7	25.8	0.017
13	84.5	66.1	49.0	0.019
Promedio	81.9	60.8	51.5	0.019
Control	98.5	76.7	16.4	0.02

Los coeficientes de regresión y el análisis de varianza de los modelos polinomiales de segundo orden muestran la relación entre las variables de respuesta y los factores de estudio para el aceite de maíz nixtamalizado (Tabla 4-2).

Tabla 4-2. Coeficientes de regresión y análisis de varianza para las variables de respuesta IS, IA, IP, IY

Coeficientes	Índice de Saponificación (IS)	Índice de acidez (IA)	Índice de Peróxidos (IP)	Índice de Yodo (IY)
Constante β_0	62.100	6.311	330.013	82.080
Lineal				
Hidróxido de calcio $\beta_1 X_1$	4.277*	-2.442*	72.99 ^{NS}	0.4459 ^{NS}
Tiempo de reposo $\beta_2 X_2$	-9.542**	-0.355 ^{NS}	30.64*	-0.0386 ^{NS}
Cuadrático				
Hidróxido de calcio *Hidróxido de calcio $\beta_1(X_1)^2$	2.087 ^{NS}	0.288 ^{NS}	4.71 ^{NS}	3.0269 ^{NS}
Tiempo de reposo *Tiempo de reposo $\beta_2(X_2)^2$	-4.263*	0.003 ^{NS}	0.68 ^{NS}	-3.3206 ^{NS}
Interacción				
Hidróxido de calcio *Tiempo de reposo $\beta_{12} X_1 X_2$	8.850*	0.108*	4.51 ^{NS}	-3.1750 ^{NS}
R²	0.907	0.817	0.8434	0.1370

^{NS}: No significativo; *: significativo a $p \leq 0.05$; **: altamente significativo a $p \leq 0.001$

Los resultados de la Tabla 4-1 y la Tabla 4-2 se discuten a continuación para cada índice.

4.2.1 Índice de saponificación (IS)

En el presente estudio el IS de los aceites de harinas de maíz nixtamalizado varió de 35.7 a 75.8 mg KOH/g aceite (Tabla 4-1). El promedio del IS de los 13 tratamientos analizados fue de 60.8 mg KOH/g aceite, lo que representa una disminución de 20.8 % con respecto al aceite control sin procesamiento (76.7 mg KOH/g aceite). Es importante hacer notar que una alta cantidad de AG libres en un aceite conlleva a la obtención de altos IS, lo opuesto ocurre cuando la concentración de AG libres es baja, generando un IS bajo. En el presente estudio, el IS disminuyó en los aceites de harinas de maíz nixtamalizadas en comparación con el IS del aceite de maíz control, lo que podría deberse a que los iones calcio del Ca(OH)_2 usado para la nixtamalización del maíz reaccionaron con los grupos carboxilo de los ácidos grasos libres, por lo que disminuyeron significativamente los sitios de enlace de los iones potasio en la cuantificación del IS. Las sales de calcio formadas entre el hidróxido de calcio y los AG al igual que los compuestos de oxidación primaria y secundaria presentes en el medio durante la nixtamalización no afectan el IS ya que estructuralmente, dichas moléculas no pueden ser saponificadas.

El modelo predictivo indica el 90.7 % del total de la variación en el IS (Tabla 4-2). El análisis de regresión (Tabla 4-2) muestra que el IS es dependiente significativamente para la concentración de hidróxido de calcio ($p = 0.030$), altamente significativo para el tiempo de reposo ($p = 0.001$) y en sus términos cuadráticos es significativo para el tiempo de reposo ($p = 0.040$) y la interacción concentración hidróxido de calcio-tiempo de reposo ($p = 0.005$).

El valor máximo del IS (75.8 mg KOH/g aceite) se observó a 0.75 % de hidróxido de calcio y 8 h de reposo, comparable con el aceite de maíz control (76.6 mg KOH/g aceite). Un IS alto sugiere la presencia de moléculas saponificables entre las que se incluyen tri-, di- y mono- glicéridos, así como AG libres que no fueron saponificados por el hidróxido de calcio. El valor mínimo de IS (35.7 mg KOH/g aceite) se obtuvo a 0.75 % de hidróxido de calcio y 16 h de reposo (Figura 4-6). Esto sugiere que los iones calcio libres procedentes de la solución alcalina durante la cocción de los granos de maíz han reaccionado con los grupos carboxilo de los ácidos grasos libres presentes en el aceite, intensificando la reacción; al incrementarse el tiempo de reposo, esta difusión de calcio al germen, facilita que el calcio reaccione con los ácidos grasos libres, reduciendo así el IS. De acuerdo a Rendón-Villalobos y col. (2009), cuando los granos de maíz

son cocidos por nixtamalización, los AG libres se degradan a AG de cadena corta, algunos de ellos pueden formar complejos con otras moléculas en el medio como almidón y proteínas y el resto se enlazan con iones calcio disminuyendo el IS.

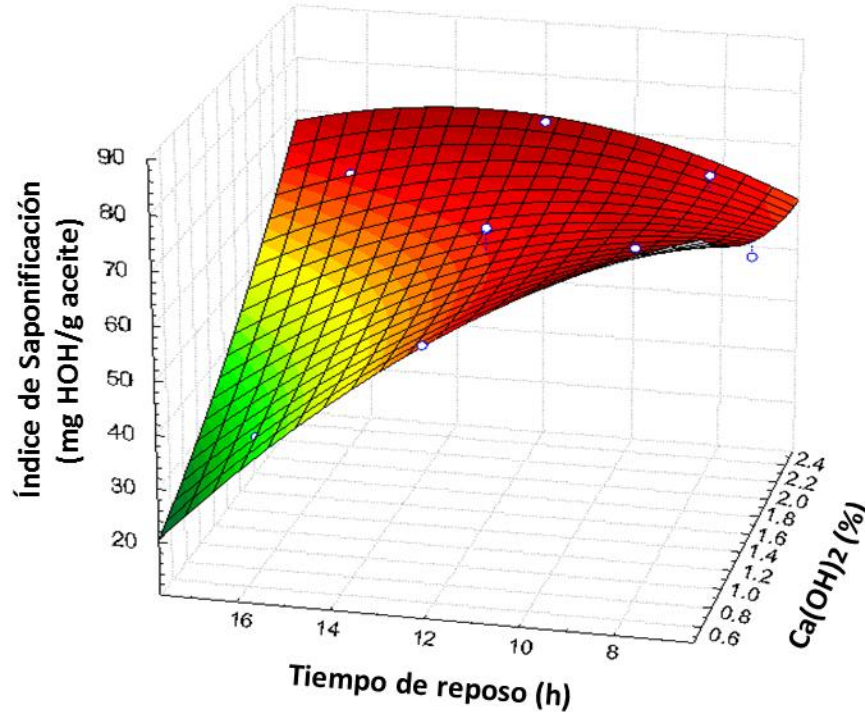


Figura 4-6. Superficie de respuesta del Índice de Saponificación en aceite de harina de maíz nixtamalizada.

Los datos obtenidos en la presente investigación para el IS, incluyendo el control, son inferiores a los reportados por Martínez-Flores y col., (2006) y Romero-Vázquez (2005), quienes encontraron valores de IS en aceite de granos de maíz nixtamalizado de 86.9, 88.3 y 88.9 (mg KOH / g aceite) al usar concentraciones de hidróxido de calcio de 2.0, 2.5 y 3.0 % a 0 h de reposo. Es importante mencionar que para el caso de los aceites de maíz del presente estudio, el efecto de la nixtamalización sobre su estado de oxidación descrito por el IS es definido mediante su comparación con el IS del aceite de maíz control (76.7 mg KOH/g aceite), el cual corresponde al valor más alto obtenido en los tratamientos.

Los parámetros idóneos para los factores hidróxido de calcio (%) y tiempo de reposo (h) para el IS del aceite de maíz nixtamalizado se establecieron con base en el valor máximo de

saponificación (82.9 mg KOH/g aceite) que corresponden a 0.5 % de hidróxido de calcio y menos de 8 h de reposo.

4.2.2 Índice de acidez (IA)

El modelo predictivo explica el 81.78 % de la variación total en el IA, afectado significativamente por el Ca(OH)_2 ($p=0.015$) y la interacción Ca(OH)_2 -tiempo de reposo ($p=0.044$) (Tabla 4-2).

La superficie de respuesta para el IA en las muestras de aceite de maíz nixtamalizado se presenta en la Figura 4-7. A tiempos prolongados de reposo y hasta concentraciones intermedias de hidróxido de calcio (1.5 %) el IA disminuye, en la interacción entre concentraciones de hidróxido de calcio mayores a 1.5 % a los diferentes tiempos de reposo el IA permanece constante con una tendencia a incrementar. En este sentido, Baran y col. (2004) mencionan que al exponer aceite de maíz a 121 °C por 60 min, el contenido de AG libres aumenta considerablemente, que para el caso de los aceites de maíz nixtamalizado en el presente estudio encuentra sustento en que a bajas concentraciones de hidróxido de calcio el deterioro de la estructura del grano de maíz es menor que cuando se usan concentraciones mayores, por lo que el ingreso de la solución de cocción al germen es paulatino con respecto al tiempo de reposo, logrando un mayor ingreso al germen a tiempos prolongados, incrementándose a su vez la formación de sales de calcio de los AG presentes. En el caso de la interacción de ambos factores de estudio a niveles altos existe un equilibrio entre la formación de AG libres y sales de calcio (AG libres saponificados) que conlleva a que el IA permanezca constante.

Es importante mencionar que el IA obtenido en los diferentes tratamientos se encuentra en el rango permisible para aceites comestibles (IA = 0.6, Codex Stan, 1999), además de que es comparable al IA del aceite de maíz control (0.02 %). La Norma Mexicana para aceites comestibles (NMX-F-030-SCFI-2005) indica un valor máximo de IA para aceite de maíz de 0.05 %.

El área recomendable del proceso de nixtamalización se definió en el valor máximo de acidez (0.04 %), donde de acuerdo a las condiciones de proceso y la relación entre IA con IS (4.2.1) y el

IP (4.2.3), existe un alto contenido de AG poliinsaturados no degradados. La combinación entre los factores de estudio es de ≤ 0.75 % de hidróxido de calcio y hasta 8 h de reposo.

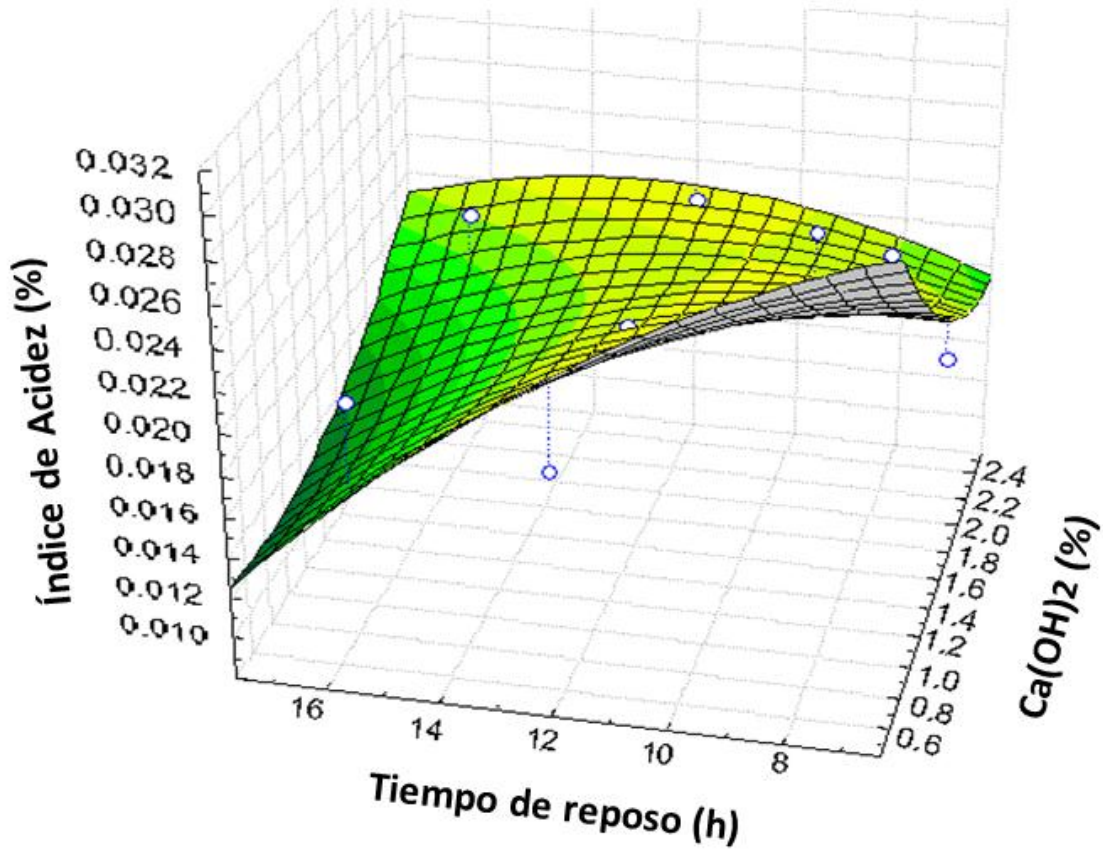


Figura 4-7. Superficie de respuesta del índice de acidez en muestras de aceite de maíz nixtamalizado

Los ácidos grasos libres disminuyen la estabilidad oxidativa de los aceites (Winkler-Moser y Breyer, 2011). Molecularmente, los ácidos grasos libres son susceptibles de ser saponificados y por consecuencia tienen una participación importante en el IS y en el IP. El Ca(OH)_2 en la solución de cocción (nejayote) contribuye a la formación de sales de calcio con los AG libres por reacciones de saponificación, disminuyendo la acidez del medio. En la nixtamalización, el porcentaje de AG libres presentes depende de las condiciones del proceso, particularmente el tiempo de reposo y la concentración de hidróxido de calcio.

4.2.3 Índice de peróxidos (IP) (9)

El IP encontrado en este estudio en los aceites de harina de maíz nixtamalizada fue de 18.4 a 120.2 meq O₂/kg aceite. El promedio del IP de los aceites de harina de maíz nixtamalizada fue de 51.5 meq O₂/kg aceite, lo que representa un incremento de 214 % sobre el valor inicial de IP para el aceite control sin procesar 16.4 meq O₂/kg aceite (Tabla 4-1). La diferencia en el IP entre el aceite de maíz control y el aceite de maíz procesado indica que la cocción alcalina afectó ($p=0.001$) la estabilidad oxidativa del aceite de maíz. De acuerdo al Codex alimentarius (1999), ambos IP sobrepasan el límite máximo establecido para aceite comestible (10 meq O₂/kg aceite). Sin embargo, autores como Guillen y Cabo (2002) reportan IP superiores a 250 meq O₂/kg aceite en un aceite de girasol en estado primario de oxidación. Durante la oxidación del aceite, la estructura de los triglicéridos cambia, formando un gran número de compuestos. La autooxidación es asociada a los AGI tales como el oleico, linoleico y linolénico. El aceite de maíz contiene altas concentraciones de AGP con dobles enlaces (linoleico y linolénico) que se oxidan fácilmente (Thomaidis y Georgiou, 1999). En general, se ha postulado que durante la oxidación de los AG, se generan en primer lugar compuestos primarios de oxidación: peróxidos e hidroperóxidos. Los hidroperóxidos con dienos o trienos con dobles enlaces conjugados en 1,4-pentadieno o 1,4,7-octatrieno proceden de unidades del ácido linoleico o ácido linolénico respectivamente (Guillén y Cabo, 2002). Los peróxidos pueden proceder de los mono-, di- y triglicéridos, así como de los AG libres y las sales de calcio de los AG.

El modelo predictivo explica el 84.3 % de la variabilidad total ($p=0.001$) para IP de los aceites de maíz procesados (Tabla 4-2) y muestra que depende significativamente del término lineal “tiempo de reposo” ($p = 0.001$) (Tabla 4-2). El efecto de la concentración de hidróxido de calcio y del tiempo de reposo sobre el IP se muestra en la Figura 4-8. El valor máximo de IP (120.2 meq O₂/kg aceite) se localiza a 0.75 % de hidróxido de calcio y 8 h de reposo. El valor mínimo de IP (18.4 meq O₂/kg aceite) fue a 0.75 % de hidróxido de calcio y 16 h de reposo. En general, se observó un IP alto a tiempos de reposo cortos y bajas concentraciones de hidróxido de calcio, sugiriendo que bajo dichas condiciones el aceite se encuentra en un estado de oxidación primario y al incrementarse el tiempo de reposo, los peróxidos son convertidos a compuestos de oxidación secundarios disminuyendo el IP. Los peróxidos son estructuras altamente inestables, una vez que la autooxidación se inicia no se detiene hasta que el total de los radicales libres (compuestos de

oxidación primarios) que se formaron son inactivados (Méndez y Falqué, 2007), posteriormente es observada la propagación o degradación oxidativa. Durante la oxidación del aceite, el IP es alto debido a la gran formación de peróxidos e hidroperóxidos; sin embargo, estas moléculas son inestables y la subsecuente abstracción del hidrógeno en ellas conduce a la formación de una gran variedad de productos como aldehídos, cetonas y lactonas, los cuales son considerados como productos secundarios de oxidación. En consecuencia, el IP comienza a disminuir en los estados de oxidación avanzados.

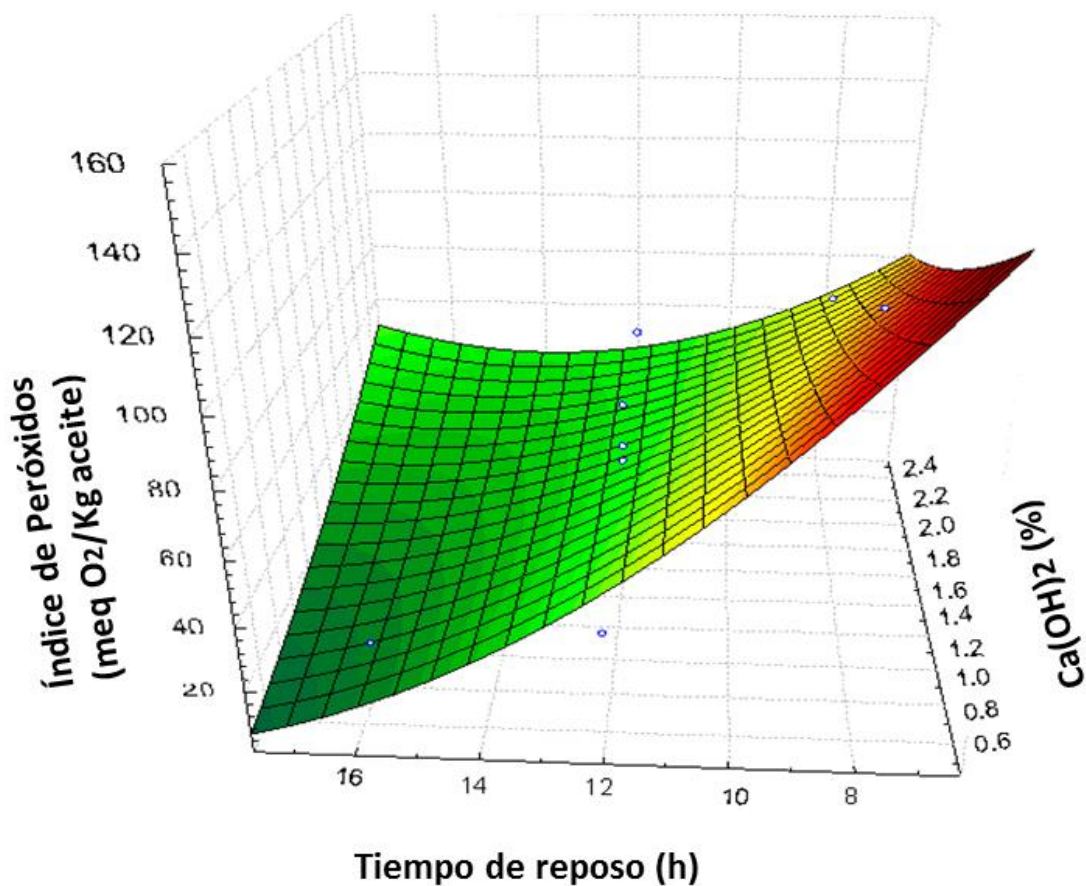


Figura 4-8 Superficie de respuesta del índice de peróxidos en muestras de aceite de maíz nixtamalizado

Estudios realizados por Martínez-Flores y col. (2006), indican que el IP permanece relativamente constante cuando la concentración de hidróxido de calcio es de 1.0 % en muestras de aceite de

maíz nixtamalizado. Sin embargo, dichos autores encontraron que cuando la concentración de hidróxido de calcio varía de 1.5 a 3.0 % el IP disminuye. A concentraciones de hidróxido de calcio superiores a 1.5 %, la lipólisis puede ocurrir y entonces los AG libres pueden a su vez reaccionar para formar materiales saponificados, acompañado de una disminución en la concentración de AG libres insaturados. De igual forma, Vidal-Quintanar y col. (2003), reportaron una producción acelerada de IP en masa de maíz almacenada, seguido de una disminución (50 %) en la velocidad de su transformación a productos finales de oxidación. Guillen y Cabo (2002) han observado que la generación de hidroperóxidos y la velocidad de su degradación tienen una mayor influencia en la determinación del IP que la cantidad de hidroperóxidos presentes en la muestra. López-Duarte y col. (2009), indicaron que el aceite de masa de maíz nixtamalizado muestra una baja resistencia a la oxidación conforme la temperatura se incrementa. Dantas y col. (2011) establecen que el valor de peróxidos en el aceite de maíz incrementa considerablemente (90.05 meq O₂/kg aceite) cuando éste es tratado térmicamente (150 °C) por una hora, una vez alcanzado este valor el IP disminuye a 29.65 meq O₂/kg aceite cuando el tiempo de exposición a 150 °C se prolonga a 2 h, atribuyéndosele a la descomposición de éstos.

Estimación de las condiciones del proceso de nixtamalización en función del menor deterioro de los AG

Finalmente, las condiciones de proceso “tiempo de reposo” e “hidróxido de calcio” para obtener un valor de IP máximo (144.65 meq O₂/kg aceite) fueron 0.5 % de hidróxido de calcio y menos de 8 h de reposo. Lo anterior, se estableció considerando que el IP máximo es el punto donde las reacciones de oxidación ya han sido inducidas en la nixtamalización y partiendo del hecho de que la cantidad de peróxidos disminuye al transcurrir el tiempo de reposo.

4.2.4 Índice de yodo (3)

En la presente investigación, el IY de los aceites extraídos de la harina de maíz nixtamalizada estuvieron en el rango de 58.37 a 102.03 g yodo/100 g aceite (Tabla 4-1). El promedio de los 13 tratamientos para el IY fue de 81.89 g yodo/100 g aceite, representando una reducción del 16.84

% sobre el valor inicial representado por el aceite control sin procesar (98.47 g yodo/100 g aceite). Lo anterior indica una disminución en el grado de insaturación en los AG presentes en el aceite de harina de maíz nixtamalizada. La disminución del IY coincide con el incremento en el IP (4.2.3), en el cual hay una pérdida de los dobles enlaces formándose radicales libres e hidroperóxidos, disminuyendo la cantidad de AGI acompañado de una disminución en el IY.

El IY tendió a disminuir (Figura 4-9) cuando tiempos de reposo altos (14 h) fueron combinados con altas concentraciones de hidróxido de calcio (1.5 a 2.25 %).

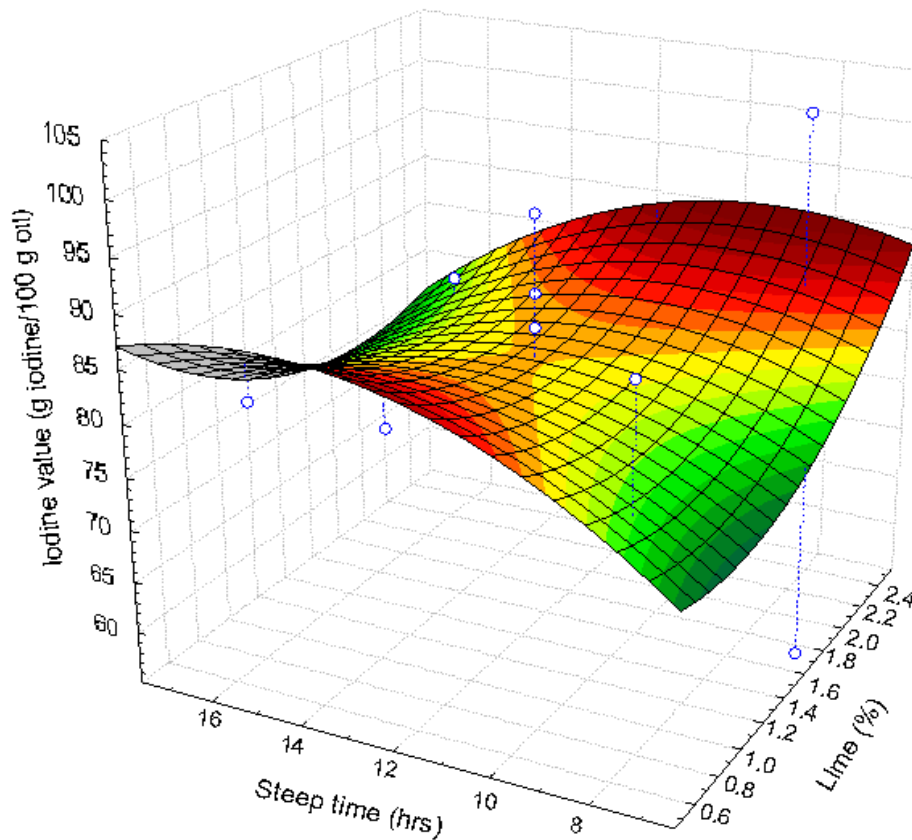


Figura 4-9. Superficie de respuesta del IY en muestras de aceite de maíz nixtamalizado.

Los resultados obtenidos son consistentes con los de Martínez-Flores y col. (2006), quienes reportaron que el IY disminuyó cuando la cocción alcalina se realizó con al menos 2.5 % de hidróxido de calcio. Martínez-Flores y col. (2006), reportaron una disminución del IY en los lípidos de maíz nixtamalizado comparativamente al aceite de granos de maíz sin procesar. Lo

que indica que en este estudio ambas variables, hidróxido de calcio y tiempo de reposo afectaron la estabilidad de los lípidos del maíz. La oxidación de los lípidos se caracteriza por una disminución en el contenido total de aceite insaturado debido a la sustracción del hidrógeno adyacente al doble enlace y la formación de radicales libres (Naz y col., 2005). Por lo tanto, es posible que la nixtamalización acelere la oxidación del aceite disminuyéndose el IY. Sin embargo, aun considerando lo anterior, el modelo predictivo explica sólo el 13.7 % de la variación total en el IY (Tabla 4-2).

4.2.5 Relación entre variables de respuesta IS, IA e IP

En las variables de respuesta estadísticamente significativas IS, IA e IP para el aceite de harina de maíz nixtamalizado, el tiempo de reposo tuvo un efecto importante. Al incrementarse el tiempo de reposo disminuyó la cantidad de moléculas saponificables (Figura 4-6) repercutiendo en el IS, entre las que se encuentran los AG libres que al verse disminuidos repercuten en el IA (Figura 4-7), cuyo valor disminuye al incrementarse el tiempo de reposo, condición que permite que la cantidad de solución alcalina que ingresa al germen sea mayor, saponificando los AG libres presentes o bien estas moléculas son oxidadas originando compuestos que no participan en el IA y en el IS. Finalmente, el IP indica que a tiempos de reposo cortos el IP es alto al igual que el IS e IA, denotando la presencia de diversas moléculas que pueden estar presentes en el medio (mono-, di-, tri- glicéridos, AG libres) y que son susceptibles de oxidación a compuestos primarios (peróxidos e hidroperóxidos), haciéndose evidentes estos últimos como inicio de dicho proceso, posteriormente, conforme se incrementó el tiempo de reposo, el IP disminuyó, debido por un lado a la inestabilidad de las estructuras moleculares (peróxidos e hidroperóxidos) degradándose a compuestos secundarios (Figura 4-8) y por otro lado, a la disminución de moléculas susceptibles de oxidación que coincide con la disminución en el valor de IS e IA.

El análisis de correlación de Pearson entre las variables de respuesta muestra una correlación positiva entre IS-IA ($r=0.570$, $p=0.042$), IS-IP ($r=0.555$, $p=0.049$) e IA-IP ($r=0.865$, $p=0.001$). Este análisis indica una relación lineal entre dos variables. Si una de las variables tiende a incrementar y la otra también incrementa, el coeficiente de correlación es positivo.

Contrariamente, si una variable incrementa y la otra disminuye, el coeficiente de correlación es negativo (Gopinath y col., 2009). La correlación positiva entre IP e IA sugiere que cuando hay una cantidad elevada de AG libres, la predisposición para formar peróxidos e hidroperóxidos incrementa.

4.2.6 Condiciones del tratamiento térmico-alkalino en función de IS, IA e IP

A través de la herramienta “optimizador de respuesta” del programa Minitab, se seleccionaron las condiciones de proceso que permitan minimizar los cambios ocurridos en el aceite de maíz durante la nixtamalización, estas condiciones se establecieron en función del valor numérico máximo para el conjunto de las variable de respuesta significativas: IS (82.9 mg KOH/g aceite), IP (144.65 meq O₂/kg aceite) e IA (0.03 %). Las condiciones de los factores de estudio fueron: 0.43 % de hidróxido de calcio y 6.34 h de reposo.

4.3 Evaluación de la oxidación del aceite de maíz nixtamalizado por métodos directos

Este apartado presenta los resultados y discusión de la evaluación de la oxidación del aceite de maíz nixtamalizado por métodos directos entre los que se encuentran los coeficientes de extinción específica (K_{232} y K_{270}), FTIR, CG y ¹H-RMN.

4.3.1 Determinación de los coeficientes de extinción K_{232} y K_{270} (Espectroscopía UV/Vis)

De los valores de absorbancia a 232 nm y 270 nm obtenidos de los aceites de harinas de maíz nixtamalizada (Figura 4-10), se calcularon los valores del coeficiente de extinción específica (K_{232} y K_{270}) para cada una de las muestras. En la

Tabla 4-3 se presentan los valores de K_{232} y K_{270} para el aceite de harina de maíz nixtamalizado a las diferentes combinaciones de hidróxido de calcio y tiempo de reposo.

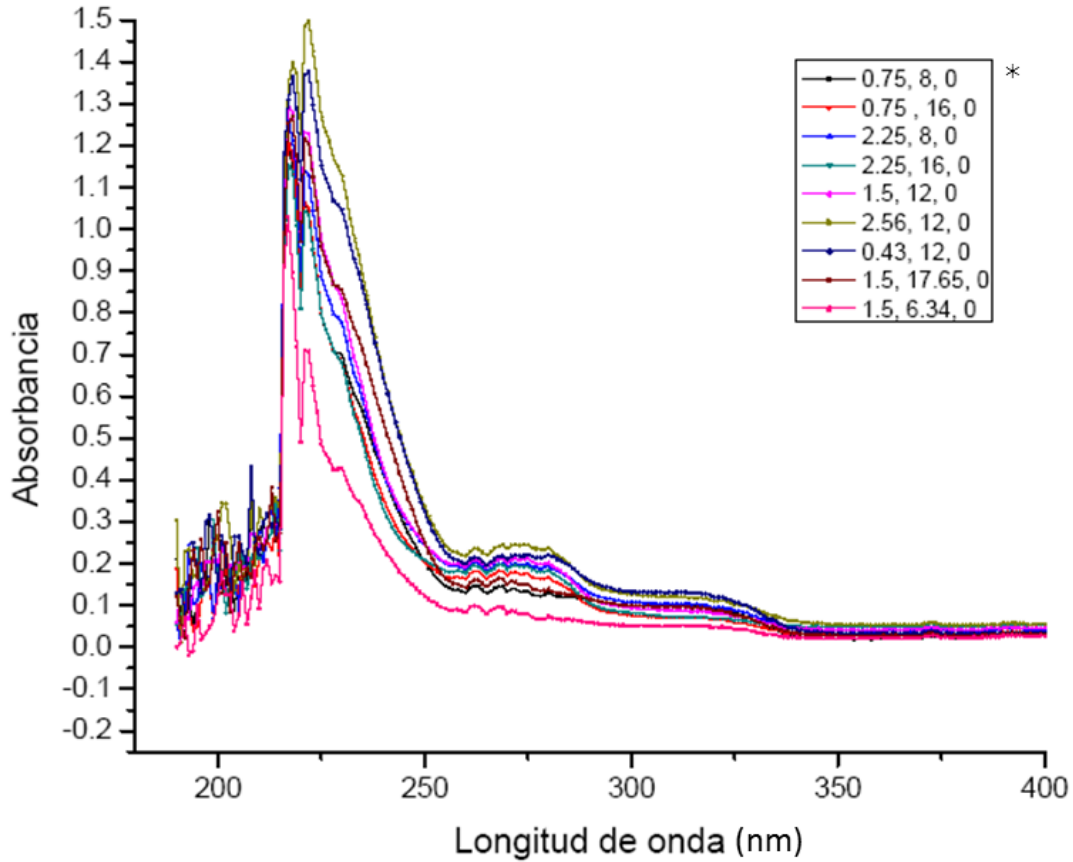


Figura 4-10. Espectros de absorción UV/vis de los aceites de harina de maíz nixtamalizada. *Tratamientos de acuerdo al DCC (Tabla 3-2)

El rango de valores para K_{232} fue de 2.3 a 6.1 y para K_{270} de 0.5 a 1.3. El aceite de la muestra control tiene un K_{232} de 2.0 y un K_{270} de 0.44. De acuerdo a la Comisión de Regulación Europea 1989/03, el aceite de oliva extra virgen no puede tener un valor de K_{232} mayor de 2.50 o un valor de K_{270} mayor de 0.22 (Guzmán y col., 2011). En este sentido, los coeficientes de extinción de los aceites de maíz nixtamalizado presentan valores que superan el límite establecido para un aceite de oliva extra virgen, sin embargo, debe tomarse en cuenta que los AG para el aceite de oliva son mayoritariamente monoinsaturados mientras que para el aceite de maíz son poliinsaturados siendo más susceptibles a la oxidación.

Tabla 4-3. Matriz de diseño, combinación de las variables en las muestras experimentales y variables de respuesta.

Tratamiento	Variables del proceso					
	Variables codificadas		Variables no codificadas		Variables de respuesta	
	X ₁	X ₂	Hidróxido de calcio (%)	Tiempo de reposo (h)	K ₂₃₂	K ₂₇₀
1	-1	-1	0.75	8	3.8	0.8
2	+1	-1	2.25	8	4.1	1.1
3	-1	+1	0.75	16	3.6	1.0
4	+1	+1	2.25	16	3.5	1.1
5	-1.414	0	0.439	12	5.8	1.3
6	+1.414	0	2.56	12	6.1	1.4
7	0	-1.414	1.5	6.34	2.3	0.5
8	0	+1.414	1.5	17.65	4.7	0.9
9	0	0	1.5	12	3.6	1.3
10	0	0	1.5	12	5.2	1.3
11	0	0	1.5	12	4.7	1.2
12	0	0	1.5	12	3.6	1.1
13	0	0	1.5	12	4.8	1.3
				Promedio	4.4	1.2
				Control	2.03	0.44

* Valores máximos de los parámetros de calidad del aceite de maíz: K₂₃₂, 2.5; K₂₇₀, 0.22 (Guzmán y col., 2011 y Maggio y col., 2011).

Reportes realizados por Paz-Antolín y Molero-Meneses (2000), indican un K₂₃₂ de 3.04 a 15.38 cuando el aceite fue expuesto a 25 y 325 °C respectivamente y un K₂₇₀ de 0.195 a 3.350 bajo las mismas condiciones de temperatura. El aceite de maíz se expone de manera parcial a las

condiciones de cocción alcalina, ya que el aceite está contenido en el germen del grano de maíz y su grado de exposición depende de la concentración de hidróxido de calcio, temperatura y tiempo de cocción, así como del tiempo de reposo. Ello explica la razón por la que el valor máximo de los coeficientes de extinción encontrados en los aceites de maíz nixtamalizado son comparables a los obtenidos por Paz-Antolín y Molero-Meneses (2000).

Coefficiente de extinción (K_{232})

El modelo de regresión múltiple para estimar K_{232} en los aceites de maíz nixtamalizado explica el 53.36 % de su variación. El parámetro no fue significativo, sin embargo, la tendencia observada en la superficie de respuesta (Figura 4-11a) fue que la variación en K_{232} es principalmente afectada por el tiempo de reposo al igual que lo observado en el IP. Por otro lado, se observó que a todas las concentraciones de hidróxido de calcio hubo una tendencia de incremento de K_{232} cuando los granos de maíz fueron reposados por 12 h (Figura 4-11a). Los valores más altos de K_{232} fueron observados cuando la concentración de hidróxido de calcio fueron mayores a 2.5 % y el tiempo de reposo de 12 h (Figura 4-11a). A tiempos mayores de 16 h de reposo K_{232} disminuye. De acuerdo a Papadimitriou y col. (2006), cuando se producen hidroperóxidos en altas concentraciones durante cualquier proceso de oxidación, éstos son subsecuentemente transformados a compuestos de oxidación secundaria. La inestabilidad de los hidroperóxidos y su dificultad para ser medidos ha sido reportada por diversos autores. La medición de la absorbancia de los dienos conjugados a 232–234 nm, y de los trienos conjugados a 268 nm es útil para el estudio de la estabilidad oxidativa; sin embargo, los valores obtenidos con este método presentan una gran variación, ya que depende de si la proporción de unidades de 1,4-pentadieno o de 1,4,7-octatrieno en el aceite son del mismo orden. Adicionalmente, los compuestos de oxidación secundaria como algunas dicetonas etilénicas y cetodienos y dionales conjugados también absorben a 268 nm, interfiriendo con la medición de los compuestos de oxidación primaria (trienos conjugados), por otro lado los resultados se ven alterados al momento de su medición por UV dada la degradación de los hidroperóxidos.

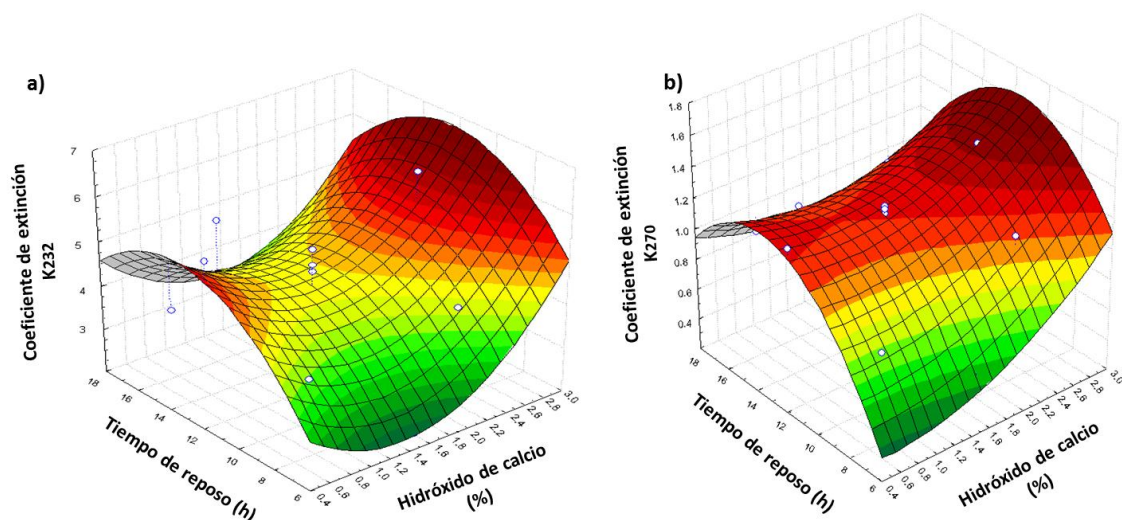


Figura 4-11. Superficie de respuesta de los aceites de maíz procesado por tratamiento alcalino: a) K_{232} , b) K_{270}

El IP y K_{232} indican la presencia de compuestos de oxidación primarios (hidroperóxidos). Los dienos conjugados detectados a través del valor de K_{232} son formados a partir de los hidroperóxidos derivados de los ácidos linoleico y linolénico (Guillen y Cabo, 2002). Los compuestos de oxidación secundarios formados a partir de la degradación de los hidroperóxidos no pueden ser evaluados por el IP ni por K_{232} , pero pueden ser determinados por K_{270} .

Coefficiente de extinción (K_{270})

El coeficiente de extinción K_{270} es el valor que procede de la absorción de luz a una λ de 270 nm por compuestos como trienos conjugados que pertenecen a los productos de oxidación primaria y los compuestos de oxidación secundaria como dicetonas etilénicas, cetodienos y dienales conjugados (Guillén y Cabo, 2002). Dado que los compuestos de oxidación secundaria surgen de la degradación de los compuestos de oxidación primaria, es de esperarse una relación inversa entre estos dos tipos de compuestos. En el presente estudio esta tendencia fue observada.

El modelo desarrollado para estimar el valor mínimo de K_{270} en los aceites de maíz nixtamalizado explica el 93.15 % de su variación. K_{270} fue dependiente significativamente del tiempo de reposo ($p=0.03$) y altamente significativo para su valor cuadrático ($p=0.001$). El valor

de K_{270} del aceite de maíz control (0.44) fue excedido en un 8.7 % por las muestras de aceite de maíz procesado (0.5 a 1.4). Es importante resaltar que conforme los valores de K_{270} fueron en un claro incremento a todas las concentraciones de hidróxido de calcio hasta tiempos de reposo intermedios (12 hrs) los valores de K_{232} no mostraron el mismo comportamiento, principalmente a concentraciones de hidróxido de calcio entre 0.8 % y 2.0 % (Figura 4-11b), indicando que una gran cantidad de productos de oxidación secundaria fueron formados a partir de los hidroperóxidos derivados de la oxidación de los ácidos linoleico y linolénico. La superficie de respuesta (Figura 4-11b), muestra además que independientemente de la concentración de hidróxido de calcio conforme se incrementó el tiempo de reposo K_{270} aumentó llegando a un máximo a las 12 h (1.5), posteriormente el valor decreció sin llegar al valor mínimo inicial (1.0). El tiempo de reposo juega un papel importante en la nixtamalización ya que esta etapa permite el mayor ingreso de la solución alcalina al grano, siendo el germen una de las estructuras más susceptibles, lo que conlleva a una interacción entre el aceite y la solución alcalina promoviéndose la oxidación de los AG. Con respecto al hidróxido de calcio aun cuando su efecto no fue estadísticamente significativo, la superficie de respuesta permite observar una tendencia a un incremento en K_{270} de 0.3 a 1.1 conforme se aumentó la concentración de hidróxido de calcio de 0.5 a 3.0 %, respectivamente.

Relación entre las variables de respuesta IP, K_{232} y K_{270}

Existe una relación directa entre IP, K_{232} y K_{270} asumiendo que conforme el contenido de peróxidos se incrementó (IP y K_{232}) los compuestos secundarios de oxidación también lo hicieron (K_{270}). Las variables de respuesta IP y K_{232} son indicativas de compuestos primarios de oxidación (hidroperóxidos) considerando en particular para K_{232} la estructura molecular de dienos conjugados. Los compuestos de oxidación secundaria (K_{270}) se originan de la degradación de los primarios, por lo que es de esperar que exista un comportamiento inversamente proporcional entre ambos, en la medida que los hidroperóxidos disminuyen, los compuestos secundarios se hacen presentes. Sin embargo, son tres tendencias que pueden manifestarse en la oxidación de los aceites tomando en cuenta por un lado, el tipo y la integridad de los AG presentes en el aceite y por otro lado, las condiciones del proceso de nixtamalización que pueden

inducir en mayor o menor medida la oxidación de los AG presentes: 1. Alta concentración de hidroperóxidos y baja concentración de compuestos secundarios de oxidación, 2. Equilibrio entre la concentración de compuestos primarios y secundarios de oxidación y 3. Baja concentración de hidroperóxidos y alta concentración de compuestos secundarios.

Así, en lo que respecta a IP, a mayor IP encontrado en el tiempo de reposo mínimo (6 h) el valor de K_{270} es bajo y a menor IP a tiempos de reposo prolongados (>12 h) mayor K_{270} en referencia a la proporción entre ambos parámetros aun cuando de forma particular K_{270} disminuye al tiempo de reposo de 18 h con respecto a su valor intermedio. A diferencia de este comportamiento inversamente proporcional entre IP y K_{270} , la relación entre la superficie de respuesta para K_{270} y K_{232} muestra diferencias en la forma en que ambos parámetros se relacionan, a tiempos bajos de reposo ambas variables presentan valores bajos que incrementan proporcionalmente hasta las 12 h de reposo, sugiriendo que dada la inestabilidad de los hidroperóxidos son degradados estableciéndose un balance entre la formación de hidroperóxidos y los compuestos de oxidación secundarios. A las 12 h de reposo se observó una inflexión en la presencia de K_{232} en tanto que K_{270} permanece en un claro incremento. Posterior a las 12 h de reposo, K_{232} disminuye sustancialmente mientras que para K_{270} esta disminución fue mínima con respecto a su valor inicial e intermedio. Cabe destacar que el valor dado por K_{270} involucra además de los compuestos de oxidación secundaria, a trienos conjugados que forman parte de los compuestos primarios de oxidación. Es importante tomar en consideración que los valores obtenidos a 270 nm fueron inferiores a los obtenidos a 232 nm, indicando que existe una gran cantidad de compuestos primarios de oxidación con respecto a los compuestos secundarios formados a partir de los hidroperóxidos.

Las superficies de respuesta para IP y K_{232} (Figura 4-8, Figura 4-11a) muestran que una vez que la variable alcanza su máximo valor, éste comienza a disminuir al avanzar el tiempo de reposo. Aun cuando este comportamiento se manifiesta a tiempos de reposo diferentes para cada una de estas variables (IP presenta su máximo a tiempos iniciales de reposo y K_{232} lo hace a tiempos intermedios), en ambos casos, dicho comportamiento indica una modificación en el contenido y tipo de moléculas presentes incluyéndose la degradación de hidroperóxidos. De acuerdo con Papadimitriou y col. (2006), cuando los hidroperóxidos son producidos durante cualquier

proceso de oxidación y alcanzan una concentración alta, éstos se descomponen subsecuentemente a productos de oxidación secundarios.

Es importante destacar la proporción existente entre IP, K_{232} y K_{270} ya que podría afirmarse que la proporción entre IP y K_{232} fuera igual entre ellos e inversa de ambos con respecto a K_{270} , sin embargo, las tendencias observadas en las superficies de respuesta (Figura 4-8 y Figura 4-11) no guardan en su totalidad dicha proporción, lo que encuentra explicación en la inestabilidad de los hidroperóxidos, en este sentido, Baccouri y col. (2007), en un estudio de comparación entre la calidad de aceite de oliva procedente de tres variedades, presentan para cada tipo de aceite el valor de IP, K_{232} y K_{270} , los cuales no guardan una proporción directa entre sí. La poca relación entre la proporción que guardan los diferentes parámetros entre sí, va enfocada a la inestabilidad de los hidroperóxidos considerando que la abstracción del hidrógeno de su estructura molecular conduce a la formación de compuestos como aldehídos, cetonas y lactonas, los cuales absorben a 270 nm (Choe y Min, 2006).

Estimación de las condiciones del proceso de nixtamalización en función del menor deterioro de los AG

Dada la relación de los coeficientes de extinción con el IP es importante recordar que sus valores idóneos individuales se encontraron en no más de 0.5 % de hidróxido de calcio y menos de 8 h de reposo. La respuesta global se estableció en función de IP y K_{270} considerando que K_{232} presentó una R^2 de 53.27 %. Tomando en conjunto ambas variables de respuesta en su valor máximo para IP (144.6 meq O_2 /kg aceite) y mínimo para K_{270} (0.4) la respuesta óptima se sitúa en las condiciones de 0.43 % de hidróxido de calcio y 6.34 h de reposo. Estas condiciones coinciden con el rango de las obtenidas para el conjunto de los métodos indirectos (IS, IA, IP).

4.3.2 Determinación por Espectroscopía infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) de la oxidación de los lípidos del maíz nixtamalizado

Estudios por FTIR en aceite de maíz (Vlachos y col., 2006) indican que el espectro se divide en dos regiones: La región de los grupos funcionales y la de la huella dactilar. La región de los

grupos funcionales se divide a su vez en tres zonas (Figura 4-12): 1a. Zona de extensión de enlaces C-H, 1b. Zona de extensión de dobles enlaces C=C, 1c. Zona correspondiente a otros enlaces (deformación y flexión). La zona de la huella dactilar se encuentra a la derecha de 1400 cm^{-1} , en el caso particular del aceite de maíz, esta región presenta absorbancias características a 1238 cm^{-1} y 1163 cm^{-1} asociadas a la vibración del grupo éster C-O y a 723 cm^{-1} referente a la superposición del CH_2 y la vibración fuera del plano que experimentan las olefinas *cis*-sustituídas.

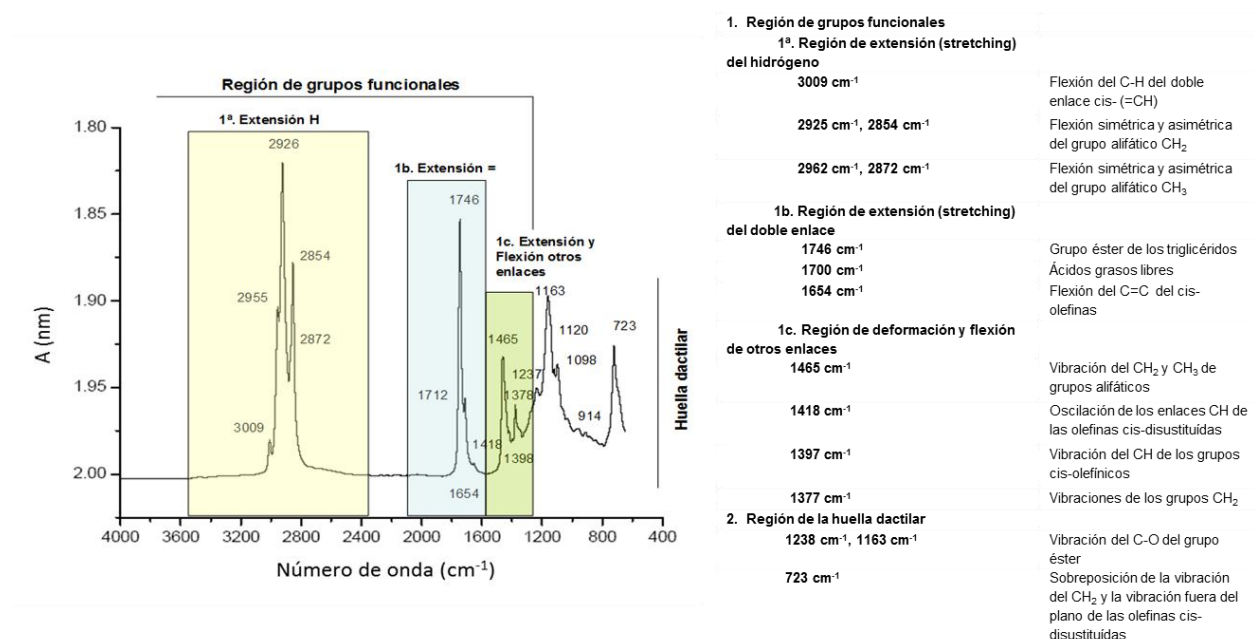


Figura 4-12. Espectro de FT-IR de aceite de maíz y listado de las frecuencias a las cuales se localizan los grupos funcionales (Vlachos y col., 2006).

Algo a destacar es que la composición del aceite en los espectros de FTIR afecta la posición exacta de las bandas, lo que significa que al cambiar la composición de los AG en el aceite, las bandas del espectro se modifican ya sea en intensidad de la señal o por desplazamiento (Vlachos y col., 2006)

La Figura 4-13 muestra que el espectro de FTIR del aceite de maíz presenta diferencias con respecto al control después de la cocción alcalina y el reposo de los granos. Como puede observarse, el espectro en la región infrarrojo medio tiene las bandas bien definidas, a las cuales pueden asignársele los grupos funcionales característicos (Figura 4-12). Las pequeñas variaciones entre los espectros antes y después de la nixtamalización corresponden a diferencias en el grado y forma de insaturación de los grupos acilo y de su longitud. Para analizar los espectros de FTIR obtenidos se hicieron expansiones de las zonas de mayor relevancia para el estudio de la estabilidad oxidativa de los aceites. Se dividen en dos partes: la parte 1 corresponde a las bandas principales encontradas en aceites no oxidados y la parte 2 es referida a las bandas propias de los compuestos de oxidación de los aceites.

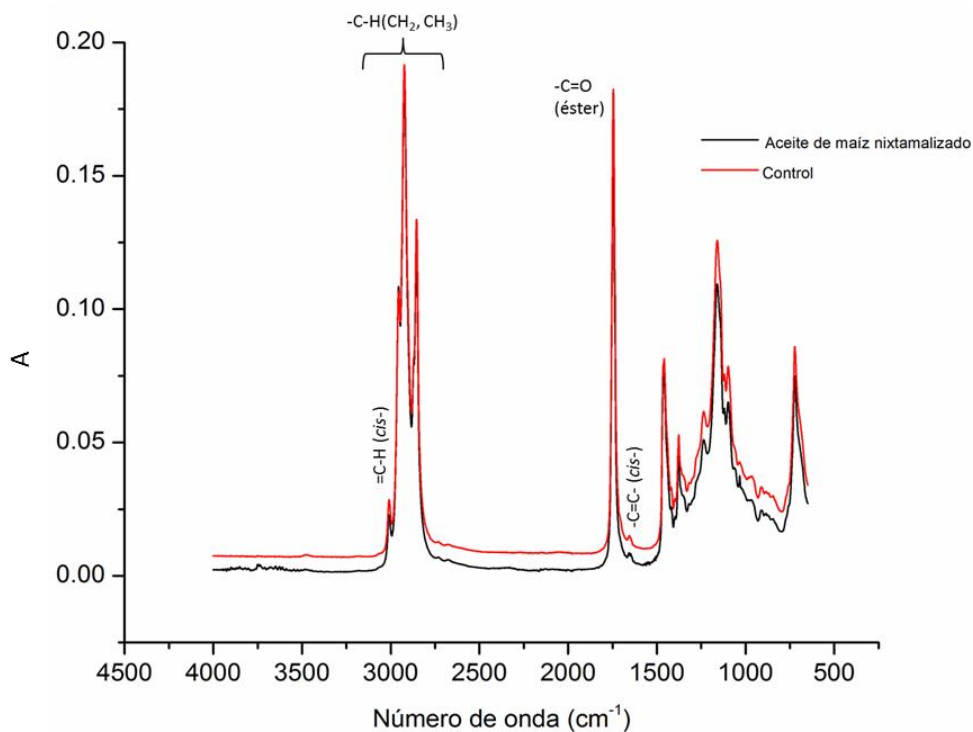


Figura 4-13. Comparación del espectro de FTIR entre un aceite de maíz nixtamalizado y el aceite control.

Parte 1. Bandas principales en aceites no oxidados

Dentro de las bandas representativas en los aceites no oxidados destacan las referentes al doble enlace *cis* de los AGP: a) 3009 cm^{-1} , b) 1658 cm^{-1} , c) 722 cm^{-1} ; y la referente al grupo éster de los triglicéridos: d) 1746 cm^{-1} .

a) Vibraciones de tensión (C-H) de los dobles enlaces cis (-C=C-C-H) de los AG poliinsaturados (3009 cm⁻¹)

En FTIR, la banda a 3009 cm⁻¹ es atribuida a las vibraciones de tensión (C-H) de los dobles enlaces *cis* (-C=C-C-H) de los AG poliinsaturados (Vlachos y col., 2006). Durante la oxidación, los grupos acilo insaturados (dobles enlaces) disminuyen debido a que son fragmentados para dar origen a la formación de compuestos de bajo peso molecular formando hidroperóxidos o reaccionando con otros grupos acilo para dar dímeros, oligómeros o polímeros (Choe y Min, 2006) o debido a una isomerización de *cis* a *trans*. Las intensidades presentadas en esta región están relacionadas con el grado de insaturación de los AG, esteroides y vitaminas (Yang y col., 2005).

El aceite de maíz tiene un máximo de absorbancia a ~3009 cm⁻¹ en contraste con otros aceites como el de oliva, que su máximo de absorción es a 3006 cm⁻¹ debido a su alto contenido en ácido oleico mientras que el aceite de maíz contiene una alta proporción de ácido linoleico (Vlachos y col., 2006). Las muestras de aceite de maíz procesado por cocción alcalina muestran una disminución en la banda a 3009 cm⁻¹ en comparación al control (Figura 4-14) atribuida a la pérdida de dobles enlaces del ácido linoleico.

Con base en la observación anterior se calculó el área bajo la curva de las muestras de aceite de maíz (Tabla 4-4). El valor obtenido en el control fue de 0.156 mientras que el promedio de las muestras procesadas fue de 0.152 indicando una disminución del 2.56 %. Esta diferencia indica una cantidad menor de dobles enlaces en las muestras con respecto al control. El valor mínimo obtenido en los tratamientos fue de 0.140.

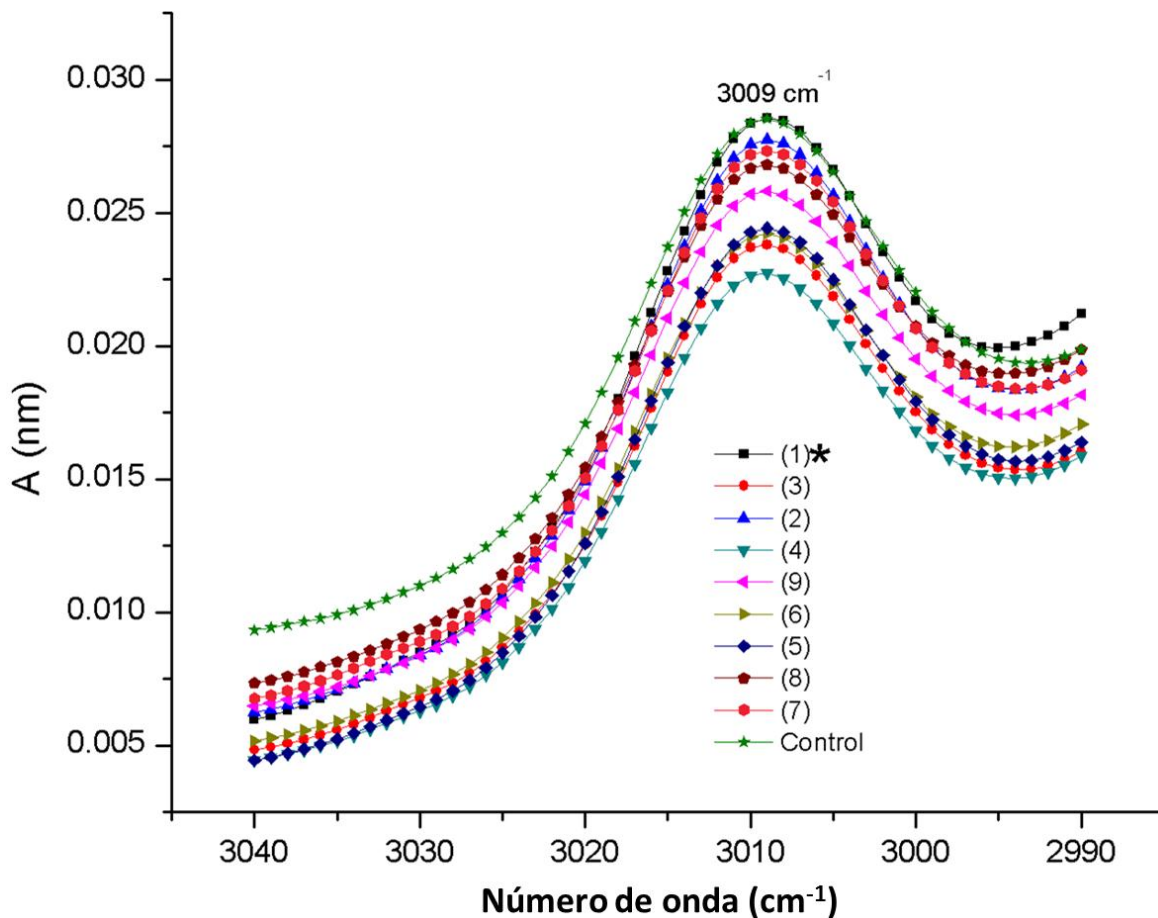


Figura 4-14. FTIR a una frecuencia de 3009 cm^{-1} relacionada a la conformación *cis* de las dobles ligaduras en los AG poliinsaturados. (* Tratamientos de acuerdo a la Tabla 3-2).

Por otro lado, los valores entre los tratamientos indican un valor máximo de 0.167 y un mínimo de 0.140 observados a 2.25 % de hidróxido de calcio y tiempos de reposo de 8 y 16 h respectivamente, lo cual se relaciona con los resultados obtenidos a 1746 cm^{-1} , donde el tiempo de reposo influye sobre la variable de respuesta indicando que a tiempos prolongados de reposo hay una pérdida de grupos éster de los triglicéridos (ver Tabla 4-4, disminución del valor de los tratamientos con respecto al control) con lo que los AGP quedan mayormente expuestos a las reacciones de oxidación mostrando una pérdida de dobles ligaduras reflejándose a 3009 cm^{-1} .

Tabla 4-4. Área bajo la curva a 3009 cm⁻¹, 1658 cm⁻¹ de los 13 tratamientos de aceite de maíz nixtamalizado y el control.

Tratamiento (No.)	Variables del proceso		Variable de respuesta Área bajo la curva			
	Hidróxido de calcio (%)	Tiempo de reposo (h)	3009 cm ⁻¹	1658 cm ⁻¹	1746 cm ⁻¹	722 cm ⁻¹
1	0.75	8	0.165	0.064	5.062	3.455
2	2.25	8	0.167	0.053	5.028	3.411
3	0.75	16	0.148	0.041	4.635	3.388
4	2.25	16	0.140	0.064	4.395	3.075
5	0.439	12	0.155	0.047	4.836	3.603
6	2.56	12	0.146	0.043	4.385	3.199
7	1.5	6.34	0.159	0.055	4.778	3.621
8	1.5	17.65	0.146	0.052	4.559	3.242
9*	1.5	12	0.150	0.058	4.613	3.327
Promedio			0.152	0.053	4.699	3.369
Control			0.156	0.076	5.193	3.693

*Promedio de los puntos centrales.

El modelo predictivo explica el 84.07 % de la variación total en el área bajo la curva a 3009 cm⁻¹. La disminución de los dobles enlaces representados por la absorbancia a 3009 cm⁻¹ dependieron significativamente del tiempo de reposo (p=0.001). Los resultados indican que al interactuar tiempos de reposo mayores a 12 h con concentraciones de hidróxido de calcio superiores a 2.0 % , el área bajo la curva a 3009 cm⁻¹ disminuyó, lo que sugiere una pérdida en la cantidad de dobles enlaces en los AGP, es importante recordar que de acuerdo a los métodos indirectos, particularmente IP, las reacciones de oxidación más fuertes inducidas en el proceso de nixtamalización comienzan cuando este parámetro exhibe su nivel máximo (144.65 meq O₂/kg aceite), que de acuerdo a su valor de optimización es en no más de 0.5 % de hidróxido de calcio y menos de 8 h de reposo.

El área óptima para un valor de área bajo la curva a 3009 cm^{-1} se definió en el valor máximo obtenido (0.212), considerando que es el punto donde hay mayores dobles ligaduras asociadas a AGI, lo cual se relaciona con los métodos indirectos y los coeficientes de extinción específica.

b) Doble enlace de los AG poliinsaturados (1658 cm^{-1})

La banda obtenida a 1658 cm^{-1} en FTIR se atribuye a la vibración de tensión del doble enlace C=C (Pinto y col., 2010), relacionándose directamente con la banda a 3009 cm^{-1} . La expansión a 1658 cm^{-1} del espectro de FTIR de los aceites de maíz nixtamalizado y el control se presenta en la Figura 4-15. El aceite control representa una mayor absorbancia a comparación de los aceites de maíz nixtamalizados. Esto significa que hubo un menor número de dobles ligaduras asociadas a AGI en las muestras nixtamalizadas.

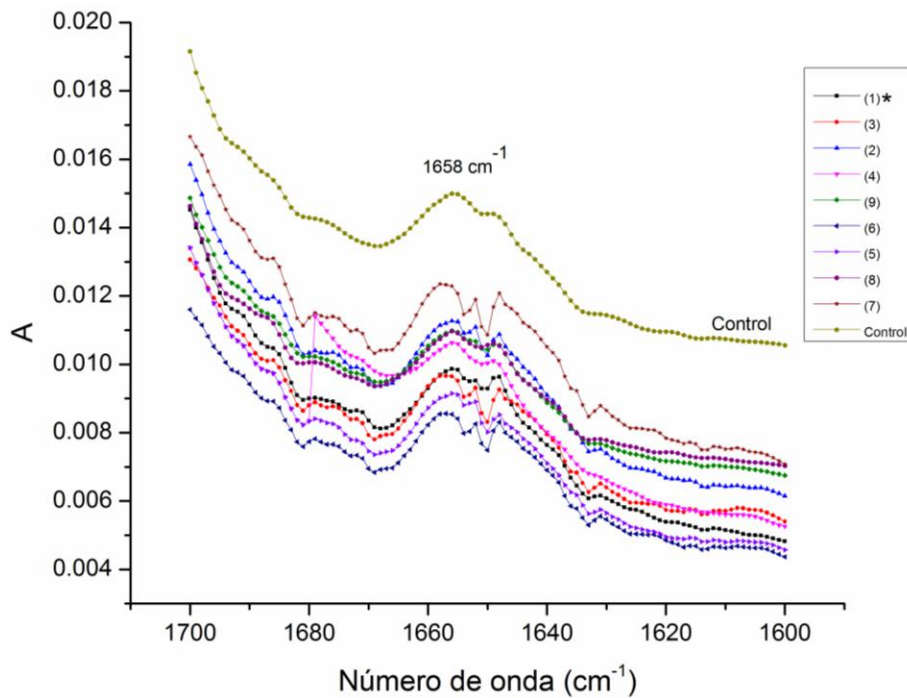


Figura 4-15. FTIR a una frecuencia de 1658 cm^{-1} relacionada a --C=C-- en los AG poliinsaturados. El inciso (9) corresponde al promedio de los puntos centrales. (* Tratamientos de acuerdo a la Tabla 3-2).

Para evaluar la diferencia entre los tratamientos y el control se calculó el área bajo la curva a 1658 cm^{-1} , la cual se presenta en la Tabla 4-4. El control presenta un área de 0.076 mientras que el promedio de los tratamientos fue de 0.053, lo que representa una disminución de 30.26 % por efecto de la nixtamalización. A diferencia de lo observado en la banda a 3009 cm^{-1} , el modelo predictivo para 1658 cm^{-1} explica sólo el 46.05 % de la variación total en el área bajo la curva a 3009 cm^{-1} . Lo anterior denota que existe una gran variación entre los resultados obtenidos, sin embargo, cabe destacar que al hacer la comparación con el control, es claro el efecto de la nixtamalización sobre los AG del maíz, independientemente de las condiciones del proceso.

c) Vibración del CH del doble enlace cis de los AG poliinsaturados (722 cm^{-1})

Otra de las bandas características en los aceites no oxidados se atribuye a la vibración a 710 cm^{-1} que corresponde al movimiento del CH debido al doble enlace *cis*. Durante el proceso de oxidación la banda a 710 cm^{-1} disminuye, relacionándose con la pérdida de dobles enlaces *cis* (Muik y col., 2007).

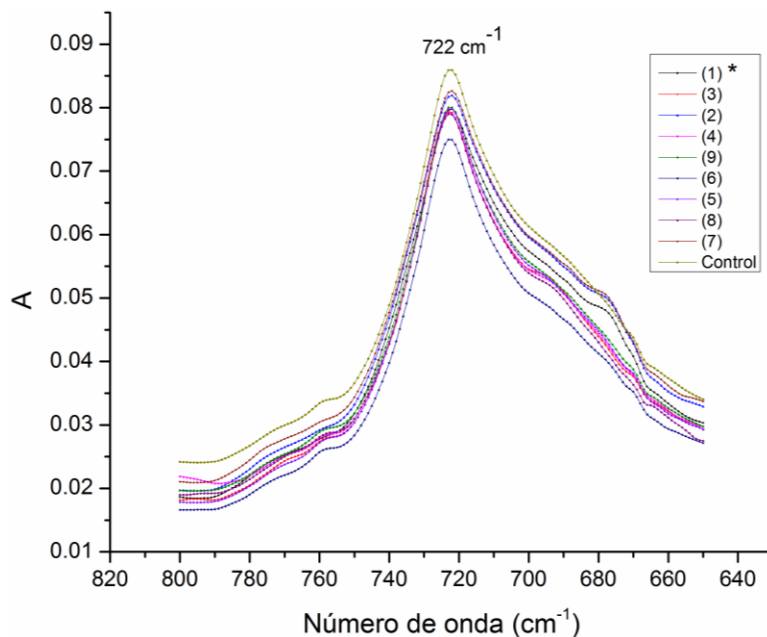


Figura 4-16. FTIR a una frecuencia de 722 cm^{-1} relacionada al CH del doble enlace *cis* en los AG poliinsaturados. El inciso (9) corresponde al promedio de los puntos centrales. (* Tratamientos de acuerdo a la Tabla 3-2).

La señal reportada por Muik y col. (2007) a 710 cm^{-1} fue detectada en los aceites de harinas de maíz nixtamalizado y el control a 722 cm^{-1} (Figura 4-16). En esta región, el área bajo la curva (Tabla 4-4) indica una disminución del 8.77 % en la absorbancia de los aceites debida al efecto de la nixtamalización (3.369) comparados con el aceite de maíz control (3.693).

d) Grupo éster de los triglicéridos (1746 cm^{-1})

El aceite no oxidado muestra una banda característica a 1746 cm^{-1} del grupo éster de los triglicéridos (Guillén y Cabo, 2002). Durante la oxidación, los hidroperóxidos se degradan a productos secundarios: aldehídos y cetonas, dando bandas cercanas a 1728 cm^{-1} . Estas señales se superponen con la del grupo éster a 1746 cm^{-1} causando una ampliación de la banda y una disminución de su frecuencia (Vlachos y col., 2006).

Tomando en consideración lo anterior, en la Figura 4-17 se muestran las bandas de los aceites de maíz nixtamalizados en el rango de frecuencias de 1725 a 1765 cm^{-1} . En la señal a 1746 cm^{-1} se observa una diferencia en la absorción entre los tratamientos y el control, indicando una alteración en el grupo éster de los triglicéridos.

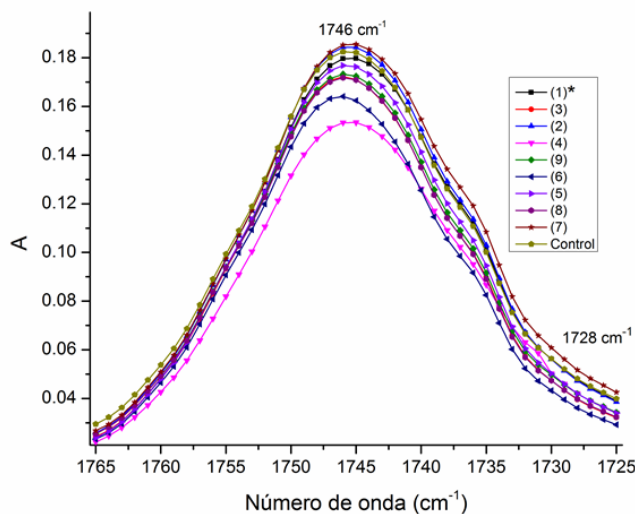


Figura 4-17. Ampliación de los espectros FTIR en la región de 1725 a 1765 cm^{-1} de los aceites de maíz nixtamalizados. El inciso (9) corresponde al promedio de los puntos centrales. (* Tratamientos de acuerdo a la Tabla 3-2).

El área bajo la curva a 1746 cm^{-1} de los aceites de maíz nixtamalizados y el control se muestra en la Tabla 4-4. El promedio de los tratamientos (4.699) tiene una diferencia con el control (5.193) de 9.51 %, esta diferencia denota que la nixtamalización afecta la cantidad de grupos éster de los triglicéridos del aceite de maíz, incrementándose la cantidad de ácidos grasos libres y por consiguiente hay una mayor susceptibilidad de estos a ser oxidados, lo que es congruente con lo observado a 3009 cm^{-1} y 1658 cm^{-1} donde se aprecia una disminución de las dobles ligaduras de los AGI. El área bajo la curva de los tratamientos muestra una diferencia entre ellos, el valor más alto obtenido fue de 5.062 y el más bajo de 4.385, representados por los tratamientos que involucran una concentración de hidróxido de calcio de 0.75 % y 2.25 % a dos tiempos de reposo 8 y 16 h respectivamente, denotándose la influencia de ambos factores sobre la variable de respuesta, en este sentido, el modelo de regresión múltiple para estimar el área bajo la curva a 1746 cm^{-1} en los aceites de maíz nixtamalizado explica el 79.68 % de su variación, de forma tal que la disminución en el grupo éster de los triglicéridos se vio afectada significativamente por la concentración de hidróxido de calcio ($p=0.05$) y por el tiempo de reposo ($p=0.009$).

Los resultados para esta variable reflejan que a mayor tiempo de reposo el área bajo la curva a 1746 cm^{-1} disminuyó, potencializándose cuando se combina con concentraciones mayores a 1.0 % de hidróxido de calcio, por otro lado, cabe destacar que a tiempos de reposo iniciales (4 h) la concentración de hidróxido de calcio no tuvo efecto en el contenido del grupo éster de los triglicéridos. Las condiciones óptimas del proceso de nixtamalización en función del área bajo la curva a 1746 cm^{-1} se establecieron en su valor máximo de 5.225 ya que es donde se encuentra la mayor cantidad de grupos éster de los triglicéridos presentes en el aceite, indicando que en ese punto existe el menor grado de oxidación de los AG. Las condiciones de optimización a las cuales se obtuvo la menor pérdida del grupo éster de los triglicéridos fueron a una concentración de hidróxido de calcio de hasta 0.439 % y un tiempo de reposo de hasta 6.34 h.

Parte 2. Expansión en áreas que corresponde a compuestos de oxidación

Guillén y Cabo (2002) con base en diversos estudios en aceites comestibles concluyen que FTIR es una técnica apropiada para evaluar la estabilidad oxidativa entendida como la resistencia que

posee un aceite a la oxidación. Las regiones comprendidas para identificar productos de oxidación son: a) 3444 cm^{-1} para hidroperóxidos y b) 1728 cm^{-1} para aldehídos.

a) Hidroperóxidos (3444 cm^{-1}) y alcoholes (3525 cm^{-1}).

En la Figura 4-18 se muestra el espectro de FTIR de 3350 a 3600 cm^{-1} . En relación a los hidroperóxidos la señal se localizó a 3445 cm^{-1} y la relacionada con los compuestos de oxidación secundaria, específicamente alcoholes se presentó a 3526 cm^{-1} , en general, las muestras de aceite de maíz nixtamalizado muestran bandas en ambas frecuencias comparadas con el control, aun cuando la absorbancia es mayor para este último. Lo anterior coincide con la reducción en la intensidad observada a 3009 cm^{-1} relacionada con el ácido linoleico.

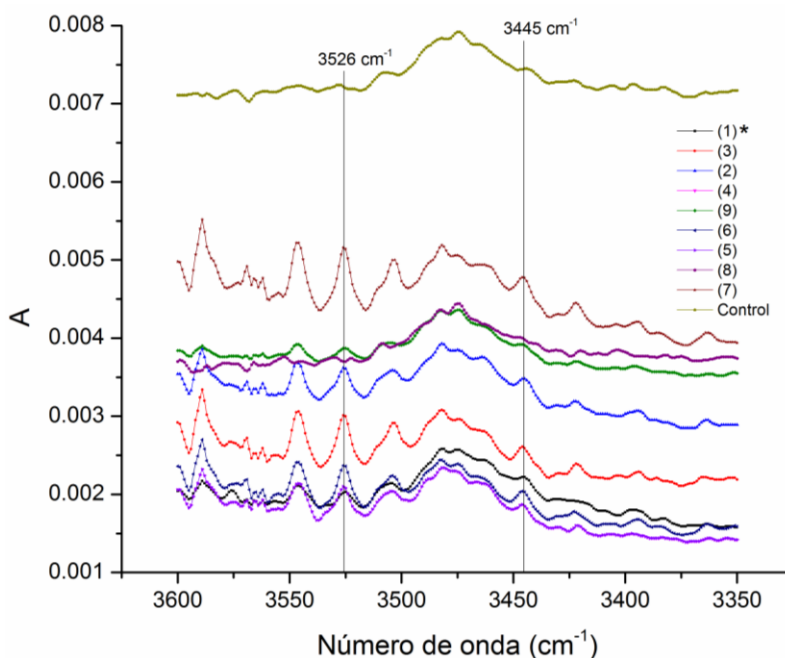


Figura 4-18. FTIR en un rango de frecuencia de 3350 a 3600 cm^{-1} .

El aceite carente de oxidación exhibe una banda cercana a 3470 cm^{-1} asociado con el sobretono de la absorción del carbonilo del grupo éster de los glicéridos. El grupo funcional de los hidroperóxidos da bandas en la región cercana a 3444 cm^{-1} . Conforme el proceso de oxidación

avanza la concentración de hidroperóxidos incrementa y también su absorción en el IR. Este grupo funcional da una banda ancha coincidiendo con el grupo éster de los glicéridos produciendo una disminución en el valor de la frecuencia de la banda original de los glicéridos junto con un incremento en la absorbancia. Por esta razón, la frecuencia y la absorbancia de esta banda pueden dar información acerca de la generación de hidroperóxidos en el proceso de oxidación. En estados avanzados de oxidación la frecuencia de esta banda sufre un nuevo cambio hacia valores cercanos al que se presenta en aceites no oxidados, este hecho es probablemente debido a que al disminuir la concentración de hidroperóxidos aparecen nuevas bandas a 3530 cm^{-1} aproximadamente, que corresponden a productos secundarios de oxidación, específicamente alcoholes.

b) Banda en la región a 1728 cm^{-1} atribuida a la presencia de grupos funcionales aldehído u otros productos secundarios de oxidación

Estudios demuestran que el aceite de maíz expuesto a diferentes temperaturas (130 a 275°C), generan una amplitud en la banda correspondiente a la región cercana a 1746 cm^{-1} atribuyéndolo a la presencia de grupos funcionales aldehído u otros productos secundarios de oxidación que causan una absorción a 1728 cm^{-1} , la cual se traslapa con la absorción a 1746 cm^{-1} que corresponde al grupo carbonilo (C=O) de los triglicéridos (Vlachos y col., 2006). En la Figura 4-17 se muestra la ampliación del espectro de FTIR a 1746 cm^{-1} incluyendo la absorbancia a 1728 cm^{-1} , en ella se aprecia por un lado, una disminución en la presencia de grupos éster de los triglicéridos, tal como se describe en el apartado correspondiente y por otro lado con respecto a la presencia de compuestos como los aldehídos no es claro el ensanchamiento de las bandas por efecto de la absorbancia en el espectro de FTIR, sin embargo, se aprecia la presencia de compuestos de oxidación primaria a 3445 cm^{-1} indicando la presencia de hidroperóxidos y de compuestos secundarios como alcoholes a 3526 cm^{-1} (Figura 4-18).

En FTIR la determinación de AG *trans* se lleva a cabo en la región específica de $991\text{-}945\text{ cm}^{-1}$. Estudios realizados en aceites comestibles tratados por deodorización e hidrogenación muestran la presencia de dobles enlaces *trans* a 966 y 967 cm^{-1} , área correspondiente a los CH (Sherazi y col., 2009 a y b). Un estudio comparativo entre cuatro tipos de aceites: i) altamente saturado, ii)

alto en *trans*, iii) altamente monoinsaturado y iv) altamente poliinsaturado, indica una diferencia notable en las intensidades en las regiones de 964 a 700 cm^{-1} haciendo evidente la presencia de una banda a 966 aproximadamente para el aceite alto en *trans* y no así para el resto de los aceites (Sherazi y col., 2009a). En las muestras de aceite analizadas en este estudio provenientes de los distintos tratamientos y el control no se observa una banda a 966 cm^{-1} que indique la presencia de enlaces *trans*.

4.3.3 Perfil de AG (Cromatografía de gases, FAMES) (2)

En la Tabla 4-5 se expresan los resultados del efecto de las diferentes combinaciones de hidróxido de calcio y tiempo de reposo sobre el perfil de AG del aceite de maíz nixtamalizado. Posterior a la nixtamalización en los diferentes tratamientos (Tabla 3-2), el porcentaje de AG del aceite fue comparable al porcentaje de AG del aceite de maíz control. La media de los tratamientos indica una disminución con el control de 1.4 % para el ácido linoleico. El ácido oleico no se ve disminuido y en el caso de los AGS su porcentaje de pérdida por efecto de la nixtamalización fue mínima (0.41 % esteárico). La abundancia de cada AG posterior a la nixtamalización depende de la concentración inicial de cada uno de ellos (Guillen y Uriarte, 2012).

En la grasa total cuantificada de las muestras de aceite de maíz nixtamalizado analizadas, el promedio de AG fluctuó en: saturados (17.09 %) e insaturados (82.88 %) predominando estos últimos (Tabla 4-5). El perfil de AG se conformó por los AGI: oleico y linoleico, así como por los AGS: palmítico y esteárico. De los AGI, destacaron el ácido linoleico (45.9 %), seguido del oleico (36.9 %); mientras que los menores promedios fueron para los ácidos: palmítico (14.8 %) y esteárico (2.29 %). El ácido linolénico no se detectó, dada su inestabilidad por el nivel de insaturaciones, siendo particularmente susceptible a la oxidación, además de ser el de menor proporción en el aceite de maíz. Al respecto, Archile y col. (1997) resaltan que en el perfil de AG de tres tipos de aceite de maíz comestible no fue posible detectar ácido linolénico, dada su baja concentración.

Tabla 4-5. Perfil de AG de las muestras de aceite de maíz nixtamalizado para los 13 tratamientos de acuerdo al arreglo experimental (Tabla 3-2).

Tratamiento Ca(OH) ₂ (%), Tiempo de reposo (h)	Ácido oleico (18:1)	Ácido linoleico (18:2)	Ácido Hexadecanoico (Palmítico) (16:0)	Ácido Octadecanoico (Esteárico) (18:0)
	(%)			
0.75, 8	36.87	46.29	14.56	2.26
0.75, 16	37.42	46.32	14.19	2.05
2.25, 8	36.74	45.58	15.46	2.20
2.25, 16	36.79	46.34	14.65	2.20
1.5, 12*	36.79	45.78	15.03	2.37
2.56, 12	37.29	46.97	13.44	2.28
0.43, 12	37.19	45.62	14.88	2.29
1.5, 17.65	37.02	45.52	15.18	2.26
1.5, 6.34	36.89	45.79	14.90	2.40
Promedio total	37 ± 0.23	46.02 ± 0.45	14.69 ± 0.56	2.25 ± 0.09
Control	35.19	47.30	14.78	2.70

* Promedio de los puntos centrales

El porcentaje de AG obtenidos en el aceite de maíz nixtamalizado fue similar al perfil de AG de doce híbridos de maíz blanco sin procesar analizados por Alezones y col. (2010), quienes indican que el perfil conformado por AGS y AGI fue de 17.6 % y 82.3 %, respectivamente, distribuidos en: ácido linoleico (46.8 %), ácido oleico (33.9 %), ácido palmítico (14 %) y ácido esteárico (2.9 %). La FAO (1993) reporta para diferentes variedades de maíz un contenido de ácido linoleico de 43.83 %-48.85 %, de ácido oleico 34.64 %-40.07 %, de ácido palmítico 11.45 %-15.71 % y de ácido esteárico 2.40 %- 3.54 %.

Por otro lado, Moreau y col. (2009) reportan para aceite de maíz crudo y aceite de maíz refinado un contenido de ácido linoleico de 54.55 % y 57.26 %, respectivamente, seguido por el ácido

oleico (22.33 % y 27.65 %) y ácido palmítico (10.56 % y 12.29 %). Archile y col., (1997) en un estudio sobre el perfil de AG en tres tipos de aceite de maíz (Gold Bell, Maizol y Mazeite) mencionan un contenido de ácido linoleico de 50.4 %, 54.2 %, 51.1 %, de ácido oleico 30.5 %, 30.4 %, 30.9 %, de ácido palmítico: 17.0 %, 13.5 %, 15.9 % y de ácido esteárico: 2.1 %, 2.0 %, 2.0 %, respectivamente. Los datos anteriores superan en porcentaje a los obtenidos en el aceite de maíz nixtamalizado analizado en la presente investigación, lo que puede deberse a la variedad utilizada en las distintas investigaciones ya que en el caso de Moreau y col. (2009) manifiestan que el contenido de AG no fue afectado por el proceso de refinamiento. Por su parte, Alezones y col. (2010) indican que existe una amplia variabilidad en el perfil de AG de diversas variedades de maíz cultivadas en Latinoamérica, ejemplo de ello es el perfil de AG de variedades procedentes de Colombia con respecto a variedades de Estados Unidos, destacando que los maíces procedentes del trópico presentan un menor grado de insaturación en sus AG. Sin embargo, cabe destacar que los aceites procedentes del maíz nixtamalizado de los 13 tratamientos presentan igual proporción entre AGS y AGI, y entre monoinsaturados y poliinsaturados, con respecto a lo obtenido por diversos autores. Es importante resaltar además que el contenido de ácido linoleico en los aceites aquí analizados (Tabla 4-5) es superior al encontrado en aceites de otras fuentes vegetales (aceite de soya 28.1 – 54.3 %, girasol 27.2 – 38.8 % y cártamo 30.5 %) (Johnson y Saikia, 2009).

El contenido de los AGS encontrados en el presente estudio (esteárico: 2.29 % y palmítico: 14.8 %), es comparable con lo estipulado en la Norma Mexicana (NMX-F-030-1985) para aceite comestible puro de maíz (Palmítico: 8.0 - 12.0 % y Esteárico: 2.0 – 4 %) y por el Código Alimentario para aceite de maíz comestible (Palmítico: 9 – 14 % y Esteárico: 0.5 – 4.0 %). Los AGS presentan su contenido máximo en el tratamiento con la concentración intermedia de hidróxido de calcio (1.5 %) independientemente del tiempo de reposo. Concentraciones bajas y altas de hidróxido de calcio denotan el menor contenido de ácidos palmítico y esteárico.

Ácidos grasos insaturados

De acuerdo al modelo de regresión múltiple para estimar a los AG poliinsaturados en los aceites de maíz nixtamalizado existió una variabilidad total del 47.91 % para el ácido linoleico y 57.20

% para el ácido oleico. Ambas variables de respuesta no presentan significancia estadística, sin embargo, la tendencia observada fue que tanto el ácido linoleico como el oleico (Figura 4-19a y b), son afectados principalmente por el hidróxido de calcio a concentraciones de 1.4 a 2.2 %. El mayor porcentaje de ácido linoleico y oleico obtenido en el presente estudio se observó a tiempos de reposo prolongados, el primero combinado con altas concentraciones de hidróxido de calcio y el segundo con bajas concentraciones de hidróxido de calcio.

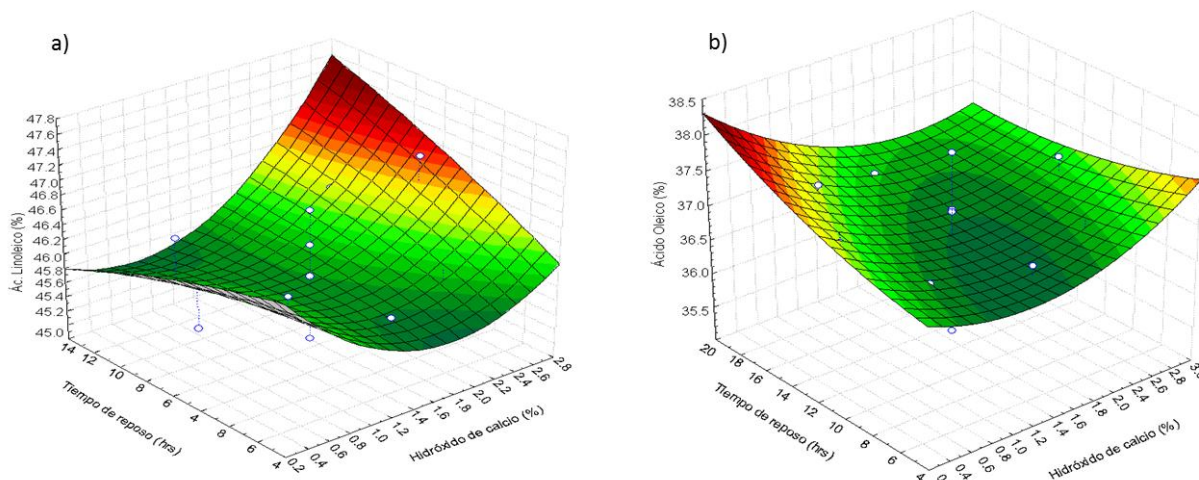


Figura 4-19. Superficie de respuesta para el contenido de a) ácido linoleico y b) ácido oleico de las muestras de aceite de maíz nixtamalizado.

De acuerdo a la Tabla 4-5 y Figura 4-19 el ácido oleico fue más estable que el ácido linoleico, esta estabilidad se adjudica a la menor susceptibilidad del ácido oleico a la oxidación por ser monoinsaturado, lo que concuerda con el hecho de que no hay una diferencia entre el porcentaje de ácido oleico de las muestras nixtamalizadas y el control, no así para el ácido linoleico. Al respecto, estudios realizados por Kowalski (2007) manifiestan una menor pérdida de AG totales en aceite de oliva comparado con el de girasol, debido a que el aceite de oliva contiene un mayor porcentaje de ácido oleico que de ácido linoleico, lo que hace que el aceite tenga mayor estabilidad, contrario a lo que sucede en el aceite de girasol, que al contener un mayor porcentaje de ácido linoleico se incrementa la posibilidad de oxidación del mismo.

Diversos autores reportan oxidación de AG cuando el aceite es expuesto a altas temperaturas por tiempos prolongados, tal como lo afirma Kowalski (2007) quien indica una pérdida de ácidos linoleico, oleico, palmítico y esteárico (37 %, 9 %, 3 % y 19 %, respectivamente) en aceite de oliva cuando fue expuesto a 90 °C por 72 h y de 47 % , 18.68 % , 9 % y 17 %, respectivamente por 120 h , lo que se confirma con reportes hechos por Guillén y Uriarte (2012) quienes afirman que el aceite al exponerse a temperaturas elevadas sufre oxidación, incrementándose ésta conforme se aumenta la temperatura.

En el caso del presente estudio, el maíz durante la cocción en solución alcalina fue expuesto a una temperatura de 94°C durante 40 min, al término, la temperatura se redujo gradualmente en un tiempo aproximado de 3 horas durante el reposo, la diferencia con los reportes anteriores es que el tiempo de exposición a temperatura elevada es corto, además de que el aceite se encuentra contenido en el grano íntegro, lo que ofrece protección a los AG, considerando además lo mencionado por Paredes-López y col. (2009) quienes afirman que durante la nixtamalización, la membrana semipermeable que recubre al grano (aleurona) no se daña por efecto del tratamiento, lo que minimiza la pérdida de nutrientes por lixiviación y que es hasta el momento de su molienda cuando los granos pierden la estructura física.

La información obtenida a través de FAMES destaca por un lado, el perfil propio de un aceite de maíz y por otro lado, refleja que el proceso de nixtamalización afectó a los AG poliinsaturados (linoleico y posiblemente el linolénico) disminuyendo el porcentaje del ácido linoleico y la pérdida total del ácido linolénico. El conjunto de ambas disminuciones coincide con lo obtenido por los métodos indirectos (4.2), coeficientes de extinción específica (K_{232} y K_{270}) (4.3.1) y FTIR (4.3.2). La oxidación de los AGI trae como consecuencia la formación de compuestos de oxidación primaria y secundaria.

4.3.4 Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

El aceite de maíz está constituido principalmente por triglicéridos que difieren en su patrón de sustitución en términos de longitud, grado y tipo de insaturación de los grupos acilo, el cambio químico en las señales de ^1H han sido ya identificadas, encontrándose 10 señales características para un aceite de maíz puro (Guillén y col., 2003). La Figura 4-20 muestra el espectro de ^1H

RMN del aceite de maíz control usado en el presente estudio. De acuerdo a lo reportado por Guillén y col. (2003), el aceite control presenta las 10 señales propias de un aceite de maíz puro. Cabe señalar que los 13 aceites de maíz nixtamalizados (Tabla 3-2) presentan en su espectro de ^1H RMN dichas señales propias de un aceite de maíz.

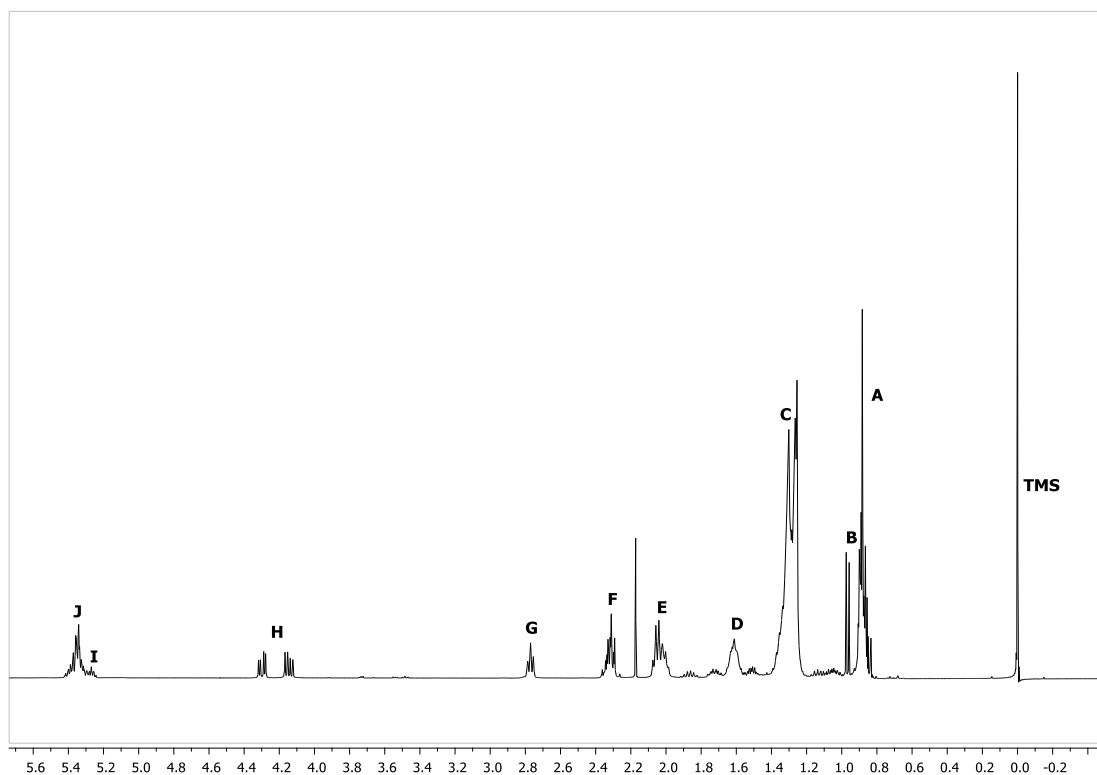


Figura 4-20. ^1H RMN del aceite de maíz control, desplazamiento químico dado en ppm.

A cada señal del espectro del aceite de maíz control se le asignó una letra, cuyo grupo funcional se describe en la Tabla 4-6, tal como lo reportan Guillén y Goicoechea (2009).

Tabla 4-6. Grupos funcionales de acuerdo a las señales del espectro ^1H RMN del aceite de maíz control (Guillén y Goicoechea, 2009).

Señal	Desplazamiento químico (ppm)	Grupo funcional
A	0.83 – 0.93	$-\text{CH}_3$ (saturados, grupos acilo oleico y linoleico)
B	0.93 – 1.03	$-\text{CH}_3$ (grupos acilo del linolénico)
C	1.22 – 1.42	$-(\text{CH}_2)_n-$ (grupo acilo)
D	1.52 – 1.70	$-\text{OCO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ (grupo acilo)
E	1.94 – 2.14	$-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$ (grupos acilo)
F	2.23 – 2.36	$-\text{OCO}-\text{CH}_2-$ (grupo acilo)
G	2.70 – 2.84	$=\text{HC}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{}$ (grupos acilo)
H	4.10 – 4.32	$-\text{CH}_2\text{OCOR}$ (Grupo gliceril)
I	5.20 – 5.26	CHOCOR (Grupo gliceril)
J	5.26 – 5.40	$-\text{CH}=\text{CH}-$ (Grupo acilo)

Considerando la alta proporción de ácido linoleico en el aceite de maíz, las señales en el espectro ^1H RMN del aceite de maíz pueden centrarse en la molécula del ácido linoleico (Figura 4-21).

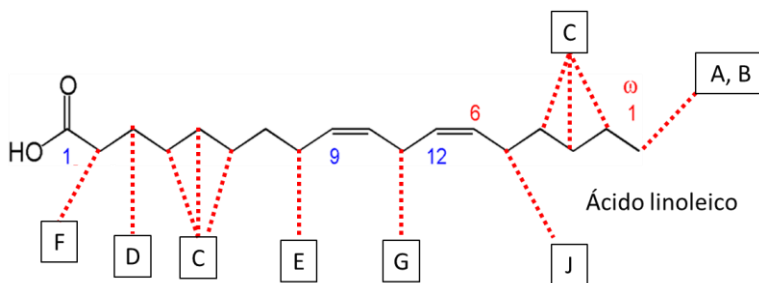


Figura 4-21. Átomos de hidrógeno de las señales características de un espectro ^1H RMN, en una molécula de ácido linoleico.

La señal A entre 0.83 y 0.93 ppm corresponde a los protones metílicos de los grupos acilo saturados e insaturados (oleico y linoleico), junto con otros grupos acilo n-6, esta señal es el resultado de la superposición de los tripletes de los protones metílicos de los tres grupos acilo antes mencionados. La señal B es atribuida a los protones metílicos de los grupos acilo n-3, señal que aparece entre 0.94 y 1.00 ppm; la baja intensidad de la señal, comparada con la A, indica una menor proporción de los grupos acilo n-3. La señal C cuyo desplazamiento químico está entre 1.22 - 1.42 ppm es importante, ya que se debe a la superposición de las señales de los protones metílicos, que están en la posición β o más alejados en relación a los dobles enlaces o están en la posición γ o más retirados del grupo carbonilo. Las señales D y F son atribuidas a los protones metílicos en la posición α ó β con respecto al grupo carbonilo, aparecen entre 1.52 - 1.70 ppm y entre 2.23 - 2.38 ppm, respectivamente. Estas señales, sin embargo, no son útiles para discriminar entre muestras de aceites. La señal E entre 1.94 y 2.14 ppm, es referida a los protones metilénicos α en relación a un doble enlace (protones alílicos). Cada uno de los grupos acilo oleico, linoleico y linolénico contiene cuatro protones de este tipo. La señal G se atribuye a los protones metilénicos en la posición α en referencia a dos dobles enlaces, también llamados protones bis-alílicos, y aparecen entre 2.70 y 2.84 ppm; esta señal es debida a la superposición de los picos de los grupos acilo linoleico (triplete en 2.749, 2.769 y 2.789 ppm) y linolénico (triplete en 2.781, 2.799 y 2.819 ppm). Finalmente, la señal H (4.10 a 4.32 ppm) corresponde a los protones de los átomos de carbono 1 y 3 del grupo gliceril, y la señal I (5.20 a 5.26 ppm), al protón del átomo de carbono 2 del mismo grupo gliceril. Esta señal se sobrepone parcialmente con la señal J (5.26 a 5.40 ppm), que se atribuye a los protones olefínicos de los diferentes grupos acilo.

En referencia al aceite de maíz control, aun cuando se sobreponen las señales para el ácido linoleico (triplete en 2.749, 2.769 y 2.789 ppm) y linolénico (triplete en 2.781, 2.799 y 2.819 ppm), la señal del triplete del ácido linoleico predomina en el aceite de maíz (Figura 4-22), coincidiendo con los resultados obtenidos en FAMES que establecen una proporción de ácido linoleico de 46 % mientras que el ácido linolénico no fue detectado, estos resultados concuerdan con Guillén y Goicoechea (2009) quienes reportan para aceite de maíz 52-53 % de ácido linoleico y 0.5-1 % de ácido linolénico.

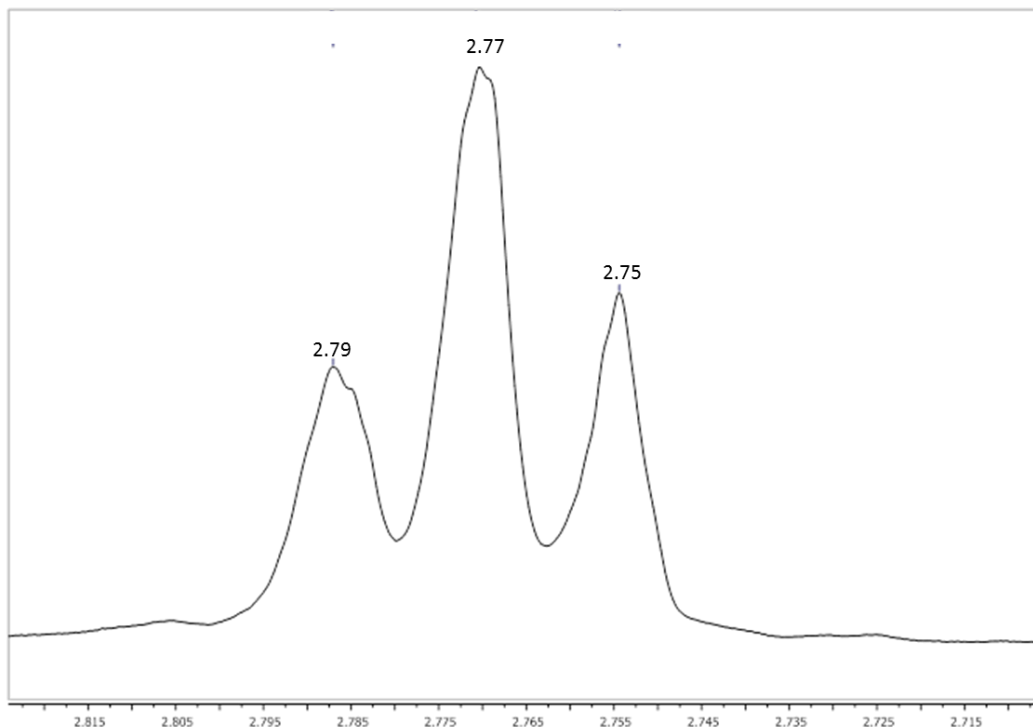


Figura 4-22. Expansión de la región entre 2.705 y 2.825 ppm del espectro ^1H RMN del aceite de maíz control.

Señales del espectro de ^1H RMN indicativos del doble enlace del ácido linoleico.

La evaluación por ^1H RMN de la oxidación de los AG poliinsaturados del aceite de maíz nixtamalizado para efectos del presente estudio, se centró en la intensidad de la señal G (Figura 4-20) que corresponde a los protones metilénicos en la posición α en referencia a dos dobles enlaces (ácido linoleico) dada su alta proporción en el aceite de maíz con respecto al ácido linolénico. En la Tabla 4-7 se presenta el porcentaje de disminución de la señal G con respecto al aceite de maíz control, indicando una disminución en la señal del 11.2 % por efecto de la nixtamalización, esta disminución se acentúa en los tratamientos donde el tiempo de reposo es prolongado y cuando se combina con altas concentraciones de hidróxido de calcio.

Tabla 4-7. Porcentaje de disminución de la señal G (Figura 4-20) atribuida a los protones metilénicos en la posición α en referencia a dos dobles enlaces (ácido linoleico)

Tratamiento	Disminución de la señal G del ácido linoleico (%)
0.75, 8	11.7
0.75, 16	14.2
2.25, 8	7.0
2.25,16	13.0
1.5, 12	11.4
2.56, 12	13.3
0.43, 12	8.3
1.5, 17.65	12.6
1.5, 6.34	9.4
Promedio	11.2

La disminución en el porcentaje de ácido linoleico revela una degradación en dicha estructura molecular relacionada con el proceso de oxidación del ácido graso, donde el oxígeno es incorporado a la estructura de los triglicéridos por un mecanismo de radicales libres produciendo compuestos de oxidación primaria (hidroperóxidos) los cuales pueden ser degradados a productos de oxidación secundaria tales como aldehídos, cetonas, lactonas, alcoholes, ácidos, etc., de acuerdo a lo descrito por Alonso-Salces y col. (2011).

El modelo de regresión múltiple para estimar la degradación del ácido linoleico en los aceites de maíz nixtamalizado explica el 50.93 % de su variación. El parámetro no fue significativo, sin embargo, la tendencia observada en la superficie de respuesta (Figura 4-23) fue que la disminución en la señal G, es principalmente afectada por la concentración de hidróxido de calcio, a mayor concentración, mayor es la degradación del ácido linoleico. Cuando el maíz es

nixtamalizado usando concentraciones de hidróxido de calcio de 2.0 a 2.8%, el tiempo de reposo tiene un efecto importante ya que va incrementándose la pérdida de ácido linoleico conforme se incrementa el tiempo de reposo alcanzando su máximo a las 20 h.

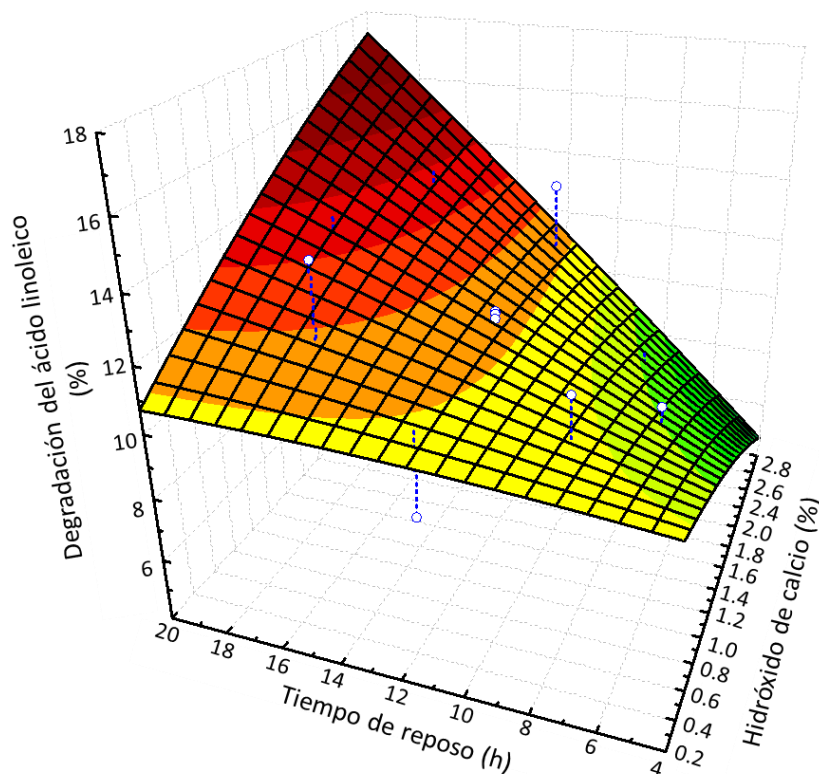


Figura 4-23. Superficie de respuesta del porcentaje de degradación en la señal G correspondiente al ácido linoleico en las muestras de aceite de maíz nixtamalizado.

Señales del espectro de ^1H RMN indicativos de productos de oxidación del aceite

Hidroperóxidos

Las señales comprendidas en el desplazamiento químico entre 5.6 y 6.8 ppm del espectro ^1H RMN de un aceite vegetal, indican la presencia de compuestos de oxidación de los lípidos. En este sentido, Guillén y Ruiz (2001) muestran señales a 8.09-8.19 debidas a protones de hidroperóxidos; 5.30-6.58 ppm que corresponden a protones de sistemas dieno conjugados, principalmente cerca de 6.25, 6.00-5.75 ppm para aceites comestibles oxidados.

En los aceites de harinas de maíz nixtamalizado (Tabla 3-2), en el desplazamiento químico entre 5.5 y 6.6 ppm se hizo evidente la presencia de compuestos de oxidación (Figura 4-24). Las señales de ^1H RMN a 6.51-6.57 ppm, 5.95-6.01 ppm y 5.55-5.57 ppm confirman la presencia de sistemas de dienos conjugados (Guillén y Ruiz, 2001). Estas señales presentan intensidades bajas en comparación con las señales características del aceite de maíz y en algunos tratamientos como 1, 6, 12 y 13 están ausentes, lo que confirma lo observado en el índice de peróxidos (4.2.3) y coeficientes de extinción específica K_{232} (4.3.1) donde la disminución del valor de IP y K_{232} corresponde a la degradación de los compuestos primarios de oxidación, mas que a un bajo grado de oxidación.

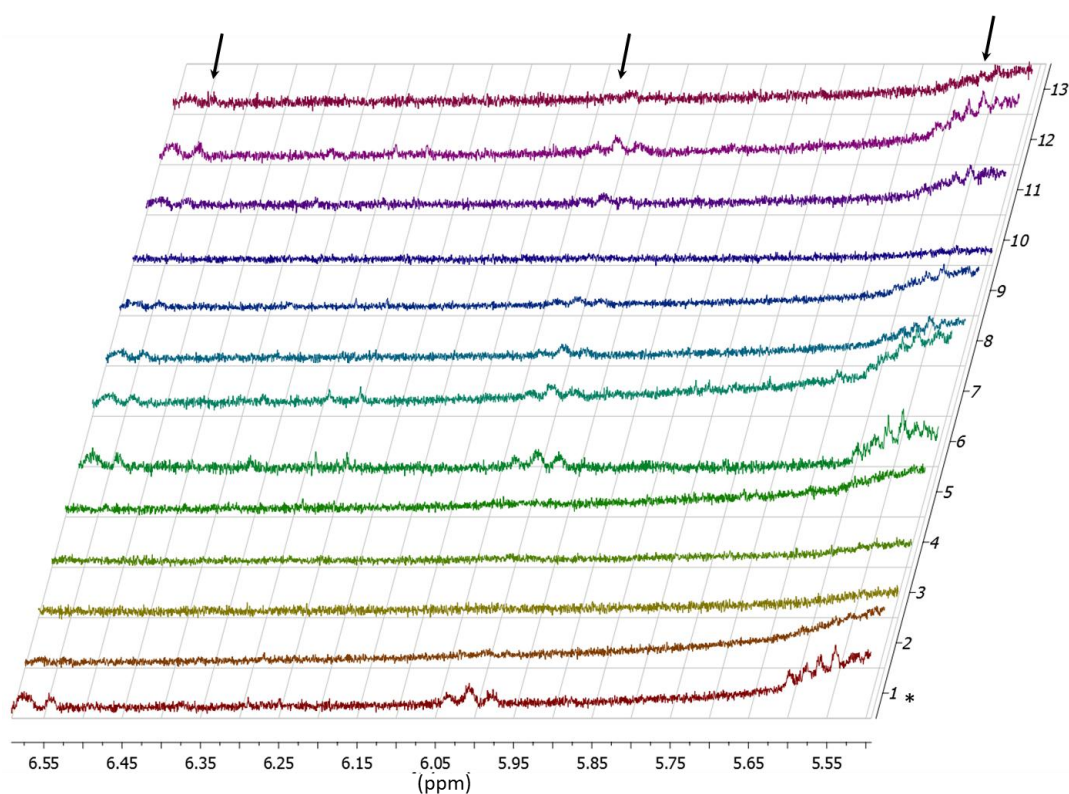


Figura 4-24. Región espectral asociada a dienos conjugados. Las flechas indican las señales detectadas. * Número de tratamiento de acuerdo al DCC (Tabla 3-2).

En referencia a las señales encontradas a 8.09-8.19 ppm debidas a protones de los hidroperóxidos (Figura 4-25), el espectro de ^1H RMN indica la presencia de hidroperóxidos en los tratamientos

1, 6, 7, 8, 11 y 12 que corresponden a las condiciones de nixtamalización: 0.75-8, 2.56-12, 1.5-6.34, 1.5-17.65, 1.5-12, 1.5-12 ((%) hidróxido de calcio-(h) tiempo de reposo), respectivamente.

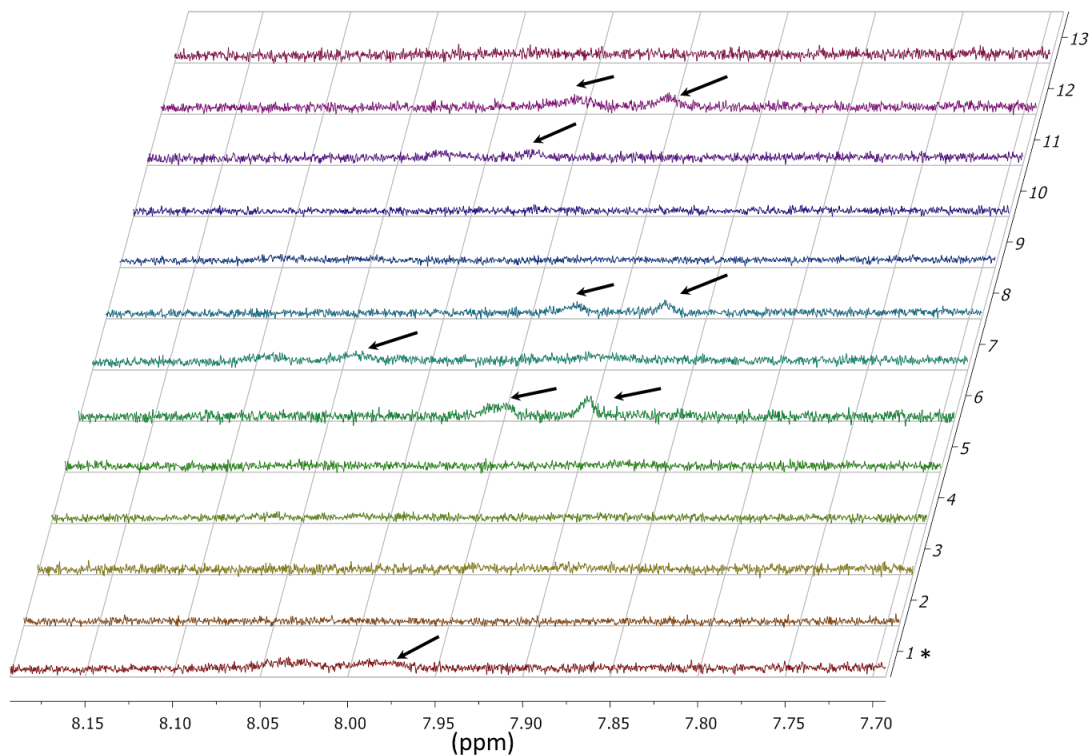


Figura 4-25. Región espectral asociada a Hidroperóxidos. Las flechas indican las señales detectadas. * Número de tratamiento de acuerdo al DCC (Tabla 3-2).

Aldehídos

Por otro lado, en un desplazamiento químico de 9.5-9.95 ppm para el aceite de maíz, las señales son atribuidas a productos de oxidación secundarios, particularmente aldehídos. Guillén y Goicoechea (2009), en un estudio realizado en aceite de maíz observaron señales en la región espectral de 9.3 a 10 ppm, específicamente en la región cercana a 9.748 ppm donde describen una señal de triplete debida a protones aldehídicos. Otros estudios en aceites ricos en ácido oleico como el aceite de oliva, avellana y cacahuate, al ser inducidos a un proceso de oxidación por calentamiento a 70°C en un ambiente de aire circulante se observó la presencia de señales en

un desplazamiento químico de 9.3 a 10 ppm, indicativas de protones de aldehídos (Guillén y Ruiz, 2005).

En referencia a los productos de oxidación secundarios particularmente aldehídos, localizados en un desplazamiento químico entre 8.90 y 10.00 ppm no se observan señales que correspondan al triplete característico de los aldehídos en las diferentes condiciones de nixtamalización (13 tratamientos).

La ausencia de señal para aldehídos en el espectro de ^1H -RMN se relaciona con lo obtenido en FTIR, donde tampoco fue posible apreciar la presencia de éstos, sin embargo, se encontraron bandas que corresponden a otros productos de oxidación secundaria como alcoholes (Figura 4-18), por lo que se infiere que ciertas condiciones del proceso de nixtamalización inducen la oxidación de AG.

CAPÍTULO 5 CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

5.1 Conclusiones

La presente investigación accedió a generar información trascendental en dos vertientes, una que hace referencia a la factibilidad de implementar un sistema en línea, que permita caracterizar y controlar el proceso de nixtamalización en tiempo real en función de los cambios de mayor relevancia en el grano de maíz. Y otro, en función de la caracterización del proceso, determinando el efecto que tienen las condiciones del tratamiento térmico-alcalino sobre la estabilidad oxidativa de los ácidos grasos, reconociendo los parámetros que induzcan el menor cambio en los AG del maíz. En este sentido se concluye que:

El uso de la técnica MALLS en tiempo real permitió caracterizar el proceso de nixtamalización a través del nejayote, confirmando que los mayores cambios en el grano de maíz fueron en la etapa de cocción, dichos cambios están particularmente relacionados con el desprendimiento del pericarpio del grano y el almidón como compuesto mayoritario del maíz. El sistema óptico para soluciones basado en MALLS, posee la capacidad para valorar los cambios debidos al calentamiento del almidón en presencia de diferentes concentraciones de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ sin introducir variables externas al sistema de estudio que alteren los datos obtenidos. El sistema óptico tiene además la capacidad de monitorear reacciones a concentraciones mínimas y con alta reproducibilidad, lo cual representa una ventaja en el estudio de distintas soluciones. El sistema óptico muestra un alto potencial para su aplicación en procesos industriales reales.

En referencia a las transformaciones inducidas a los lípidos del maíz por el proceso térmico-alcalino, la correlación del conjunto de las técnicas aplicadas para evaluar los parámetros analizados indicaron que la nixtamalización induce deterioro oxidativo de las muestras. Las técnicas FTIR, ^1H -RMN y FAMES expusieron la degradación del ácido linoleico cuando el maíz es nixtamalizado. Las variables que proveen la mayor evidencia de que la estabilidad oxidativa del aceite de harinas de maíz nixtamalizado es afectada por el proceso fueron el IP confirmado por FAMES y las señales en FTIR y ^1H -RMN. La demostración de la presencia de compuestos de oxidación secundaria particularmente alcoholes, fue señalada por K_{270} y FTIR.

La correlación entre las variables de respuesta sugiere además, que puede existir un punto de optimización de los parámetros tiempo de reposo y concentración de hidróxido de calcio donde se presente el menor deterioro de los ácidos grasos entendido como una mayor estabilidad oxidativa. En este sentido, las condiciones del proceso térmico-alkalino que indujeron la mayor pérdida de la estabilidad oxidativa fueron tiempos de reposo prolongados y altas concentraciones de Ca(OH)_2 por lo que, el uso de Ca(OH)_2 a concentraciones menores o iguales a 0.75 % y tiempos de reposo inferiores a 12 h son indicadas para conseguir una mayor estabilidad en el aceite de maíz cuando es expuesto al proceso térmico-alkalino. Estos resultados son relevantes, considerando la importancia que tienen los ácidos grasos insaturados en la salud humana, además del impacto actual en la industria de alimentos, ya que uno de los retos más importantes en la industria es elaborar alimentos con alto valor nutricional.

5.2 Perspectivas

A partir de los estudios y discusiones presentados en esta Tesis Doctoral, las perspectivas futuras se ubican básicamente en dos direcciones.

En un primer plano estarían los trabajos destinados a complementar los aspectos de caracterización mostrados en relación a la estabilidad oxidativa de los ácidos grasos.

En concreto, se podría llevar a cabo un estudio sobre la determinación de Ca^{+2} por Espectroscopía de Absorción Atómica en el aceite de maíz nixtamalizado, que permita conocer la cantidad exacta del ion retenida en el aceite de maíz por cada tratamiento realizado y con ello inferir la correlación existente entre la cantidad de calcio remanente y los cambios ocurridos en los ácidos grasos.

También sería interesante realizar un estudio del efecto que tienen las condiciones de nixtamalización utilizadas en esta investigación, sobre los ácidos grasos cuando las harinas de maíz nixtamalizadas son expuestas a un período de almacenamiento, pudiendo usar la metodología de almacenamiento acelerado que acceda a obtener resultados a corto plazo.

Otro punto que sería interesante efectuar es optimizar detalles en las metodologías usadas, como la preparación de muestras para FAMES, desolventización del aceite al alto vacío, eliminación

de la humedad de la masa para la obtención del harina por liofilización y acortar el tiempo de análisis del aceite entre una y otra técnica.

En un segundo plano, se encontrarían los estudios relativos al monitoreo óptico del nejayote en tiempo real para el total de los tratamientos planteados en la presente investigación, poniendo especial énfasis en las condiciones del tratamiento térmico-alcálico que manifestaron el menor deterioro oxidativo del aceite de maíz nixtamalizado.

Complementario con dicho estudio, sería interesante también al tiempo del monitoreo, desarrollar la cinética de formación del nejayote considerando el contenido y tipo de sólidos totales que se depositan por efecto del propio tratamiento, de tal forma que conduzca al desarrollo de un modelo matemático que provea una aproximación factible entre los cambios que ocurren en el nejayote con los cambios que suceden en los ácidos grasos del maíz al ser nixtamalizado, proponiendo para tal fin, la aplicación del modelado de máxima probabilidad. Finalmente, sería de importancia implementar el sistema de monitoreo óptico en la industria destinada a la nixtamalización.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alezones J., Ávila M., Chassaigne A., Barrientos V., 2010. Caracterización del perfil de AG en granos de híbridos de maíz blanco cultivados en Venezuela. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 60(4):397-404
2. Alonso-Salces R.M., Holland M.V., Guillou C., 2011. ¹H-NMR fingerprinting to evaluate the stability of olive oil. Food Control, 22:2041-2046.
3. AOAC, 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Ed. by Association of the Official Analytical Chemistry. Arlington, USA
4. Arámbula-Villa G, Barrón-Ávila L, González-Hernández J, Moreno-Martínez E, Luna-Bárceñas G, 2001. Efecto del tiempo de cocimiento y reposo del grano de maíz (*Zea mays* L.) nixtamalizado, sobre las características fisicoquímicas, reológicas, estructurales y texturales del grano, masa y tortillas de maíz. Archivos Latinoamericanos de Nutrición 51(2): 187-194.
5. Araújo S.V., Luna F.M.T., Rola E.M., Azevedo D.C.S. Calvacante C.J., 2009. A rapid method for evaluation of the oxidation stability of castor oil FAME: of antioxidant type and concentration. Fuel Processing Technology, 90:1272-1277.
6. Archile A., Benítez B., Rangel L., Izquierdo P., Huerta-Leidenz N., Márquez E., 1997. Perfil de AG de las principales grasas y aceites disponibles para consumo en la ciudad de Maracaibo. Revista Científica, FCV-LUZ/Vol. VII, No. 3, 169-174.
7. Baccouri B., Ben-Temime S., Taamalli W., Daoud D., M'Sallem M. y Zarrouk M., 2007. Analytical characteristics of virgin olive oils from two new varieties obtained by controlled crossing on meski variety. Journal of Food Lipids, 14:19-34
8. Baran, Önal U., İhsan K., Semra T., 2004. Performance of some edible oils during heating in a steam pressure cooker. Journal of Food Lipids, 11: 234-241.
9. Bowen S.E., Gray D.A., Giraud Ch., Majzoobi M., Milla-Testa C.E., Bello-Pérez, Hill S.E., 2006. Lipid oxidation and amylopectin molecular weight changes occurring during storage of extruded starch simples. Journal of Cereal Science, 43:275–283.
10. Bedolla, S.; De Palacios, M.G.; Rooney, L.W.; Diehl, K.C.; Khan, M.N. 1983. Cooking characteristics of sorghum and corn for tortilla preparation by several cooking methods. Cereal Chemistry. 60(4):263-268.
11. Benitez E.I., Genovese D.B., Lozano J.E., 2007. Scattering efficiency of a cloudy apple juice: Effect of particles characteristics and serum composition. Food Research International, 40:915–922
12. Bressani R, Paz y Paz, Scrimshaw NS., 1958. Maize nutrient losses: chemical changes in corn during preparation of tortillas. Journal of Agriculture Food Chemistry, 6:770-773
13. Campo Mexicano, 2011. Situación actual y perspectivas del maíz en México 1996 – 2012. Consulta: noviembre 2011.

http://www.campomexicano.gob.mx/portal_siap/Integracion/EstadisticaDerivada/ComercioExterior/Estudios/Perspectivas/maiz96-12.pdf

14. Castillo V.K.C., Ochoa M.L.A., Figueroa C.J.D., Delgado L.E., Gallegos I.J.A., Morales C.J., 2009. Efecto de la concentración de hidróxido de calcio y tiempo de cocción del grano de maíz (*Zea mays* L.) nixtamalizado, sobre las características fisicoquímicas y reológicas del nixtamal. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 59(4):425-432.
15. Chaiyasit W., Elias R.J., McClements D.J. and Decker E.A., 2007. Role of physical structures in bulk oils on lipid oxidation. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 47:299-317. ISSN: 1040-8398.
16. Chávez-Servín J.L., Castellote A.I., Martín M., Chifré R., López-Sabater M.C., 2009. Stability during storage of LC-PUFA-supplemented infant formula containing single cell oil or egg yolk. Food Chemistry, 113:484-492
17. Choe E. And Min D.B., 2006. Mechanisms and Factors for Edible Oil Oxidation. Comprehensive Review in Food Science and Food Safety, 5(4):169.186
18. Dantas M.B., Albuquerque A.R., Barros A.K., Rodrigues Filho M.G., Antoniosi Filho N.R., Sinfrônio F.S.M., Rosenhaim R., Soledade L.E.B., Santos I.M.G., Souza A.G., 2011. Evaluation of the oxidative stability of corn biodiesel. Fuel, 90:773-778
19. Domingues M.M., Santiago S.P., Castanho M.A.R.B., Santos N.C., 2008. Review: What can light scattering spectroscopy do for membrane-active peptide studies?. Journal of Peptide Science, 14: 394-400.
20. Código Alimentario. Codex Stan 25-1981. Norma del Codex para el aceite de maíz comestible.
21. Colakoglu A.S., 2007. Oxidation kinetics of soybean oil in the presence of monoolein, stearic acid and iron. Food Chemistry, 101:724-728.
22. Dupont J., White P.J., Carpenter M.P., Schaefer E.J., Meydani S.N., Elson C.E., Woods M., Gorbach S.L., 1990. Food uses and Elath effects of corn oil. Journal of the American College of Nutrition, 9(5):438-470.
23. Dyer J.M., Stymne S., Green A.G., Carlsson A.S., 2008. High-value oils from plants. The Plant Journal, 54:640-655.
24. Fennema O.R., 2000. Química de los Alimentos. Capítulo 5: Lípidos. P.p. 270-376. Editorial ACRIBIA., ISBN: 84-200-0914-8
25. FAO, 1993. El maíz en la nutrición humana. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Colección FAO: Alimentación y nutrición, N°25) <http://www.fao.org/docrep/T0395S/T0395S00.htm#Contents> ISBN 92-5-303013-5. Consulta: diciembre 2011
26. FAO, 2009. (Food Agriculture Organization). Statistical databases. <http://faostat.fao.org/?lang=es> Consulta: noviembre, 2011.

27. Fernández-Muñoz J.L., Rodríguez M.E., Pless R.C., Martínez-Flores H.E., Leal M., Martínez J.L., and Bolaños L., 2002. Changes in Nixtamalized Corn Flour Dependent on Postcooking Steeping Time. *Cereal Chemistry*, 79(1):162-166.
28. Flett K.L., y Corredig M., 2009. Whey protein aggregate formation during heating in the presence of κ -carrageenan. *Food Chemistry*, 115:1479-1485.
29. Flores-Farías R., Martínez-Bustos F., Salinas-Moreno Y., Ríos E., 2002. Caracterización de harinas comerciales de maíz nixtamalizado. *Agrociencia*, 36:557-567.
30. García-Méndez S., 2004. Estudio nutricional comparativo y evaluación biológica de tortillas de maíz elaboradas por diferentes métodos de procesamiento. Tesis Maestría en Ciencias en Tecnología Avanzada. Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada, IPN; Querétaro, México.
31. Gardner H.W. and Inglett G.E., 1971. Food products from corn germ: Enzyme activity and oil stability. *Journal of Food Science*, 36(4):645-643.
32. Gómez, M.H. 1988. Physicochemical characteristics of fresh masa from alkaline process corn and sorghum and Maite dry masa flour. PhD Dissertation, Texas A& M University, College Station, TX.
33. Gómez Mh, McDonough CM, Rooney LW, Waniska RD. 1989. Changes in corn and sorghum during nixtamalization and tortilla baking. *Journal of Food Science*, 54:330-336.
34. González-Rojas K., García-Salazar J.A., Matus-Gardea J.A., Martínez-Saldaña T., 2011. Vulnerabilidad del mercado nacional de maíz (*Zea mays* L.) ante cambios exógenos internacionales. *Agrociencia*, 45:733-744.
35. Gopinath A., Puhan S., Nagarajan G., 2009. Theoretical modeling of iodine value and saponification value of biodiesel fuels from their fatty acid composition. *Renewable Energy*, 34:1806–1811.
36. Guillén M.D. y Cabo N., 2002. Fourier transform infrared spectra data versus peroxide and anisidine values to determine oxidative stability of edible oils. *Food Chemistry*, 77:503-510.
37. Guillén, M.D., Ruiz, A. 2001. High resolution ^1H nuclear magnetic resonance in the study of edible oils and fats. *Trends in Food Science & Technology*, 12:328-338.
38. Guillén, M.D., Ruiz, A., Cabo, N., Chirinos, R., Pascual, G. 2003. Characterization of Sancha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) Oil by FTIR Spectroscopy and ^1H -NMR. Comparison with Linseed Oil. *Journal American Oils Chemists' Society*, 80(8):755-762.
39. Guillen M.D., y Goicoechea E., 2009. Oxidation of corn oil at room temperature: Primary and secondary oxidation products and determination of their concentration in the oil liquid matrix from ^1H nuclear magnetic resonance data. *Food Chemistry*, 116:183-192
40. Guillen M.D., y Uriarte P.S., 2012. Aldehydes contained in edible oils of a very different nature after prolonged heating at frying temperature: Presence of toxic oxygenated α,β -unsaturated aldehydes. *Food Chemistry*, 131:915–926.

41. Gurr M.I., Harwood J.L., Frayn K.N., 2005. *Lipid Biochemistry, An Introduction*. Blackwell Publishing, 5th Edition. ISBN 13:978-0632-05409-1
42. Gutiérrez-Urbe J.A., Rojas-García C., García-Lara S., Serna-Saldivar S.O., 2010. Phytochemical analysis of wastewater (nejayote) obtained after lime-cooking of different types of maize kernels processed into masa for tortillas. *Journal of Cereal Science*, 52:410-416.
43. Guzmán E., Baeten V., Fernández-Pierna J.A., García-Mesa J.A., 2011. Application of low-resolution Raman spectroscopy for the analysis of oxidized olive oil. *Food Control*, doi:10.1016/j.foodcont.2011.05.025
44. Hemming F.W. and Hawthorne, 2008. *Lipid Analysis: Introduction to Biotechniques*. Editorial Taylor & Francis. ISBN 1 872748 98 8
45. Indarti E., Majid M.I.A., Hashim R., Chong A., 2005. Direct FAME synthesis for rapid total lipid analysis from fish oil and cod liver oil. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18:161–170
46. JoeMin L., Dong-Hawn K., Pahn-Shick Ch., JaeHwan L., 2007. Headspace-solid phase microextraction (HS-SPME) analysis of oxidized volatiles from free fatty acids (FFA) and application for measuring hydrogen donating antioxidant activity. *Food Chemistry*, 105:414-420.
47. Johnson S., Saikia N., 2009. Fatty acids profile of edible oils and fats in India. Centre for Science and Environment. www.cseindia.org.
48. Kamal-Eldin, A., Pokorny, J. 2005. Lipid oxidation products and methods used for their analysis. En: *Analysis of lipid oxidation*. Edited by Afaf Kamal-Eldin and Jan Pokorn. American Oil Chemists' society press. Champaign, Ill. USA. 1-7 pp. DOI: 10.1201/9781439822395.ch1
49. Knothe Gerhard, 2002. Review: Structure Indices in FA Chemistry. How Relevant is the Iodine Value?. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79(9):847-854.
50. Knothe G., Dunn R.O., 2003. Dependence of oil stability index of fatty compounds on their structure and concentration and presence of metals. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 80:1021-1026
51. Kowalski R., 2007. GC Analysis of change in the fatty acid composition of sunflower and olive oils heated with quercetin, caffeic acid, protocatechuic acid, and butylated hydroxyanisole. *Acta Chromatographica* No. 18. 5th International Symposium on Chromatography of Natural Products.
52. Lara-Menchaca, J., 2004. Estudio del mecanismo de incorporación del agua y el calcio en el pericarpio del grano de maíz nixtamalizado. Tesis profesional para obtener el grado de Doctor en Tecnología Avanzada, Centro de Investigaciones en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada, Unidad Altamira. Altamira, Tamaulipas, México.

53. Laria J., Meza E., Peña J.L., 2007. Water and calcium uptake by corn kernel during alkaline treatment with different temperature profiles. *Journal of Food Engineering*, 78:288-295
54. Liu J-M., DeMichele S., Bergana M., Bobik E., Hastilow Ch. Jr., Chuang L-T., Mukerji P., and Huang Y-S., 2001. Characterization of oil exhibiting high γ -Linolenic acid from a genetically transformed canola strain. *Journal of the American Oil Chemists' society*, 78(5):489-493
55. López-Duarte A.L., Vidal-Quintanar R.L., 2009. Oxidation of linoleic acid as a marker for shelf life of corn flour. *Food Chemistry*, 114:478–483.
56. Maggio R.B., Valli E., Bendini A., Gómez-Caravaca A.M., Toschi T.G., Cerradini L., 2011. A spectroscopic and chemometric study of virgin olive oils subjected to thermal stress. *Food Chemistry*, 127:216-221.
57. Martínez-Bustos, F, Martínez-Flores, HE, Sanmartín-Martínez, E, Sánchez-Sinencio, F, Chang YK, Barrera-Arellano, D, Rios, E. 2001. Effect of the components of maize on the quality of masa and tortillas during the traditional nixtamalisation process. *Journal of Science. Food Agriculture*, 81:1455-1462.
58. Martínez-Flores H.E., Martínez-Bustos, F., Figueroa, J.D.C., Gonzalez-Hernandez, J. 2002. Nutritional studies and biological assays in corn tortillas made from fresh masa prepared by extrusion and nixtamalization proceses. *Journal of Food Science*, 67:1196-1199.
59. Martínez-Flores H.E., M.G. Garnica-Romo, V.J.U. Romero, J.B. Yahuaca. 2006. Evaluating the quality of lipids during alkaline cooking of corn. *Journal of Food Lipids*, 13(2):177-185.
60. Martínez-Herrera M.L. and Lachance P.A., 2006. Corn (*Zea mays*) kernel hardness as an index of the alkaline cooking time for tortilla preparation. *Journal of Food Science*, 4(2):377-380.
61. Méndez A.I. and Falqué E., 2007. Effect of storage time and container type on the quality of extra-virgin olive oil. *Food Control*, 18:521-529.
62. Méndez-Montealvo G., Solorza-Feria J., Velázquez del Valle M., Gómez-Montiel N., Pardes-López O., Bello-Pérez L.A., 2005. Composición química y caracterización calorimétrica de híbridos y variedades de maíz cultivadas en México. *Agrociencia*, 39:267-274.
63. Méndez-Montealvo G., García-Suárez F.J., Paredes-López O., Bello-Pérez L.A., 2008. Effect of nixtamalization on morphological and rheological characteristics of maize starch. *Journal of Cereal Science*, 48:420-425.
64. Mendoza-Sánchez P., López D., Kongraksawech T., Vázquez P., 2005. Laser metrology in food related systems. *Proceedings of the Eighth International Symposium on Laser Metrology*. SPIE, Bellingham, Washington, USA, 347-354p

65. Milán-Carrillo J., Gutiérrez-Dorado R., Cuevas-Rodríguez E.O., Garzón-Tiznado J.A., Reyes-Moreno C., 2004. Nixtamalized flour from quality protein maize (*Zea mays* L). Optimization of alkaline processing. *Plant Foods for Human Nutrition*, 59:35-44.
66. Mildner-Szkudlarz S., Jeleń H.H., Zawirska-Wojtasiak R., Wąsowicz E., 2003. Application of headspace-solid phase microextraction and multivariate analysis for plant oils differentiation. *Food Chemistry*, 83:515-522.
67. Moreau R.A., Lampi A.M., Hicks K.B., 2009. Fatty Acid, Phytosterol and Polyamine Conjugate Profiles of Edible Oils Extracted from Corn Germ, Corn Fiber, and Corn Kernels. *Journal of the American Oil Chemists'society*, 86:1209-1214. DOI 10.1007/s11746-009-1456-6
68. Muik B., Lendl B., Molina-Díaz A., Ayora-Cañada M.J., 2005. Direct monitoring of lipid oxidation in edible oils by Fourier transform Raman spectroscopy. *Chemistry and Physics of Lipids*, 134:173-182.
69. Muik B., Lendl B., Molina-Díaz A., Valcarcel M., Ayora-Cañada M.J., 2007. Two-dimensional correlation spectroscopy and multivariate curve resolution for the study of lipid oxidation in edible oils monitored by FTIR and FT-Raman spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*, 593:54-67.
70. Navarro-García G., Bringas-Alvarado L., Pacheco-Aguilar R., 2004. Nueva Herramienta para el Estudio de la Oxidación de los AG, una de las Causas Fundamentales de la Pérdida de Calidad de los Alimentos para la Acuicultura. *Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 16-19 Noviembre, 2004. Hermosillo, Sonora, México.
71. Naz S., Siddiqi R., Sheikh H., Sayeed S.A., 2005. Deterioration of olive, corn and soybean oils due to air, light, heat and deep-frying. *Food Research International*, 38: 127-134
72. NMX-F-030-1985. Alimentos. Aceite comestible puro de maíz. Foods. Edible pure corn oil. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas. <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-030-1985.PDF>
73. NMX-FF-034/1-SCFI-2002. Productos alimenticios no industrializados para consumo humano –cereales- parte I: Maíz blanco para proceso alcalino para tortillas de maíz y productos de maíz nixtamalizado –Especificaciones y métodos de prueba.
74. Nogueira-Terrones H., Herman-Lara E., García-Alvarado M.A., y Monroy-Rivera J.A., 2004. Drying Kinetics and Sorption Isotherms of the Nejayote. *Drying Technology*, 22(9):2173–2182.
75. Nuñez-Santiago M.C., Santoyo E., Bello-Pérez L.A., Santoyo-Gutierrez S. 2003. Rheological evaluation of non-Newtonian Mexican nixtamalised maize and dry processed masa flours. *Journal of Food Engineering*, 60:55–66
76. Odabasoglu F., Halici Z., Cakir A., Halici M., Aygun H., Suleyman H., Cadirci E., Atalay F., 2008. Beneficial effects of vegetable oils (corn, olive and sunflower oils) and

- α -tocopherol on anti-inflammatory and gastrointestinal profiles of indomethacin in rats. *European Journal of Pharmacology*, 591:300-306.
77. OMS, 2003. Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic diseases. World Health Organization Technical Report Series No. 916. (TRS 916). <http://www.who.int/dietphysicalactivity/publications/trs916/en/>
 78. Ortega, EI, Villegas, E, and Vasal SK. 1986. A comparative study of protein changes in normal and quality protein corn during tortilla making. *Cereal chemistry*, 63:446-451.
 79. Ortíz-Alvarado J.D., 2010. Desarrollo y aplicación de instrumentación para la medición de espacimientto de luz láser. Tesis Doctorado en Tecnología Avanzada. Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada, IPN; Querétaro, México.
 80. Palacios-Fonseca A.J., Vázquez-Ramos C., Rodríguez-García M.E., 2009. Physicochemical characterizing of industrial and traditional nixtamalized corn flours. *Journal of Food Engineering*, 93:45-51.
 81. Papadopoulou D., Roussis G.I., 2008. Inhibition of corn oil by N-acetyl-cysteine and glutathione. *Food Chemistry*, 109:624-629.
 82. Papadimitriou V., Sotiroudis T.G., Xenakis A., Sofikiti N., Stavyiannoudaki V., Chaniotakis N.A., 2006. Oxidative stability and radical scavenging activity of extra virgin olive oils: An electron paramagnetic resonance spectroscopy study. *Analytica Chimica Acta*, 453(8):573-574.
 83. Paradiso V.M., Gomes T., Nasti R., Caponio F., Summo C., 2010. Effects of free fatty acids on the oxidative processes in purified olive oil. *Food Research International*, 43:1389-1394.
 84. Paredes-López O., 2006. Los alimentos mágicos de las culturas indígenas Mesoamericanas. 1ª edición; Fondo de Cultura Económica. http://www.fondodeculturaeconomica.com/librerias/libro/Los_alimentos_magicos_de_las_culturas_indigenas_mesoamericanas/046212R
 85. Paredes-López O., Guevara-Lara F., Bello-Pérez L.A., 2009. La Nixtamalización y el Valor Nutritivo del Maíz. *Ciencias [en línea]* 2009, (Octubre-Marzo) : [fecha de consulta: 9 de noviembre de 2011] Disponible en: <<http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=64412119010>> ISSN 0187-6376
 86. Paulsen S., Watson S., Singh M., 2003. Measurement and Maintenance of Corn Quality. In: *Corn: Chemistry and Technology*, 2003, White, P.J, Jhonson L.A., editors. 2nd ed. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists pp. 159-219.
 87. Paz-Antolín I. y Molero-Meneses M., 2000. Aplicación de la espectrofotometría UV-visible al estudio de la estabilidad térmica de aceites vegetales comestibles. *Grasas y Aceites*, 51(6):424-428.
 88. Pflugfelder R.L., Rooney L.W., y Waniska D.R., 1988. Dry matter losses in commercial corn masa production. *Journal of Cereal Chemistry*, 65:127-132.

89. Pinto R.C., Locquet N., Rutledge D.N., 2010. Preliminary studies on the mid-infrared analysis of oils direct heating on an ATR diamond crystal. *Food Chemistry*, 120:1170-1177.
90. Plascencia-González G., 1998. Comportamiento de maíz pigmentado en la elaboración de frituras, empleando el método de nixtamalización tradicional y harina instantánea preparada por un proceso hidrotérmico. Tesis profesional. Universidad Autónoma de Chapingo. Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Chapingo, México.
91. Qing Z., Ji B., Zude M., 2007. Predicting Soluble Solids content and firmness in apple fruit by means of laser light backscattering image analysis. *Journal of Food Engineering*, 82:58-67
92. Quintanar-Guzmán A., Jaramillo-Flores M.E., Solorza-Feria J., Méndez-Montealvo M.G., Wang Y.J., 2011. Rheological and thermal properties of masa as related to changes in corn protein during nixtamalization. *Journal of Cereal Science*, 53:139-147
93. Ramírez-Wong B., y Ortega F., 1994. Evaluación de las propiedades reológicas y texturales de masa y tortilla de maíz comercial. *Revista de Ciencias Alimentarias*, 2(1):1-8.
94. Rangel-Meza E., Muñoz-Orozco A., Vázquez-Carrillo G., Cuevas-Sánchez J., Merino-Castillo J., Miranda-Colín S., 2004. Nixtamalización, Elaboración y Calidad de Tortilla de Maíces de Ecatlán, Puebla, México. *Agrociencia*, 38: 53-61.
95. Rendón-Villalobos J.R., Bello-Pérez L.A., Agama-Acevedo E., Islas-Hernández J.J., 2009. Composition and characteristics of oil extracted from flaxseed added corn tortilla. *Food Chemistry*, 117:83-87
96. Rodríguez P., San Martín M.E., y González C.E., 2001. Calorimetría diferencial de barrido y rayos X del almidón obtenido por nixtamalización fraccionada. *Superficie y Vacío*, 13, 61-65.
97. Rodríguez-García M.E., Serna-Saldívar S.O., Sánchez-Sinencio F., 2008. Nixtamalización, del maíz a la tortilla. Aspectos nutrimentales y toxicológicos. Editorial Universidad Autónoma de Querétaro. México.
98. Romero-Vázquez J.U., 2005. Tesis: Efecto de la concentración de hidróxido de calcio y el tiempo de reposo en la calidad de los lípidos del maíz tratados por nixtamalización. Tesis de Licenciatura, Escuela de Químico Farmacobiología, UMSNH.
99. Rooney, L. W. and E. L. Suhendro. 1999. Perspectives on nixtamalization (alkaline cooking) of maize for tortilla and snacks. *Cereal Foods World*, 44(7) 466-470.
100. Ruiz-Gutiérrez M.G., Quintero-Ramos A., Meléndez-Pizarro C.O., Lardizábal-Gutiérrez D., Barnard J., Márquez-Melendez R., Talamás-Abbud R., 2010. Changes in mass transfer, thermal and physicochemical properties during nixtamalization of corn with and without agitation at different temperatures. *Journal of Food Engineering*, 98: 76-83.
101. SAS. Statistical Analysis System. 1995. SAS, User's Guide. The Institute Cary, NC.

102. Sefa-Dedeh S., Cornelius B., Sakyi-Dawson E., Ohene-Afoakwa E., 2004. Effect of nixtamalization on the chemical and functional properties of maize. *Food Chemistry*, 86:317-324.
103. Serna-Saldivar SO, Gomez MH, Almeida-Dominguez HD, Islas-Rubio A, Rooney LW. 1993. Method to evaluate the lime-cooking properties of corn (*Zea mays*). *Cereal Chemistry*, 70:762-764.
104. Sherazi S.T.H., Kandhro A., Mahesar S.A., Bhangar M.I., Younis-Talpur M., Sarfraz-Arain, 2009a. Application of transmission FT-IR spectroscopy for the trans fat determination in the industrially processed edible oils. *Food Chemistry*, 114:323-327.
105. Sherazi S.T.H., Younis-Talpur M., Mahesar S.A., Kandhro A.A., Sarfraz-arain, 2009b. Main fatty acid classes in vegetable oils by SB-ATR-Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Talanta*, 80:600-606.
106. Thomaidis N.S. and Georgiou C.A., 1999. Review: Edible oil analysis by flow injection. *Laboratory Automation and Information Management*, 34:101-114.
107. Valderrama-Bravo C., Rojas-Molina A., Gutiérrez-Cortez E., Rojas-Molina I., Oaxaca-Luna A., De la Rosa-Rincón E., Rodríguez-García M.E., 2010. Mechanism of calcium uptake in corn kernels during the traditional nixtamalization process: Diffusion, accumulation and percolation. *Journal of Food Engineering*, 98:126-132.
108. Valls V., Goicoechea M., Muñiz P., Saez G.T., Cabo J.R., 2003. Effect of corn oil and vitamin E on the oxidative status of adipose tissues and liver in rat. *Food Chemistry*, 81:281-286
109. Vidal-Quintanar, R.L., Love, M.H., Love, J.A., White, P.J., Johnson. L.A. 2003. Lipid-oxidation-limited shelf-life of nixtamalized instant corn masa. *Journal of Food Lipids*, 10:153-163.
110. Vivas NE, Waniska RD, Rooner LW. 1987. Effect of tortilla production on protein in sorghum and maize. *Cereal Chemistry*, 64:384-389.
111. Vlachos, N., Skopelitis, Y., Psaroudaki, M., Konstantinidou, V., Chatzilazarou, A., Tegou, E. 2006. Applications of Fourier transform-infrared spectroscopy to edible oils. *Analytica Chimica Acta*, 573-574:459-465.
112. Winkler-Moser J.K. and Breyer L., 2011. Composition and oxidative stability of crude oil extracts of corn germ and distillers grains. *Industrial Crops and Products*, 33:572-578.
113. Xin Qi, Hou Zhi Ling, Tian Jian Long, Yu Zhu; 2006. The rapid determination of fat and protein content in fresh raw milk using the laser light scattering technology. *Optics and Lasers in Engineering*, 44: 858–869
114. Yahuaca-Juárez B., Ortíz-Alvarado J.D., Martínez-Flores H.E., Pless R.C., Vázquez-Landaverde P.A., Bello-Pérez L.A., Huerta-Ruelas J.A., 2012. Laser-Light Scattering System Used to Evaluate the Effect of Calcium Hydroxide on the Properties of Amylopectin. *Journal of Analytical Methods*, DOI 10.1007/s12161-012-9525-0

115. Yáñez-Ortega Y., 2005. Nixtamalización por extrusión de las fracciones del grano de maíz para la obtención de harinas instantáneas. Tesis profesional para obtener el grado de Maestro en Tecnología Avanzada, Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada, Instituto Politécnico Nacional. México, D.F.
116. Yang H., Irudayaraj J., Paradkar M., 2005. Discriminant analysis of edible oils and fats by FTIR, FT-NIR and FT-Raman spectroscopy. *Food Chemistry*, 93:25–32
117. Yu X., Voort F.R., Sedman J., 2007. Determination of peroxide value of edible oils by FTIR spectroscopy with the use of the spectral reconstitution technique. *Talanta*, 74:241-246.

PUBLICACIONES

Artículos en revistas JCR

1. **Laser Light Scattering System Used to Evaluate the Effect of Calcium Hydroxide on the Properties of Amylopectin.** Berenice Yahuaca-Juárez, Juan de Dios Ortíz-Alvarado, Héctor Eduardo Martínez-Flores, Reynaldo C. Pless, Pedro A. Vázquez-Landaverde, Luis Arturo Bello-Pérez, Jorge Adalberto Huerta-Ruelas. Food Analytical Methods (Publicado, DOI 10.1007/s12161-012-9525-0). (ANEXO 1)
2. **Monitoring the oil oxidation in corn flour from grains processed with alkaline cooking by use of peroxide value, UV and FTIR.** B. Yahuaca-Juárez, H.E. Martínez-Flores, J.A. Huerta-Ruelas, R.C. Pless, P. A. Vázquez-Landaverde, R. Tello Santillán. Plant Foods for Human Nutrition (Aceptado, DOI 10.1007/s11130-012-0332-y).
3. **Effect of thermal-alkaline processing conditions on values of corn oil quality.** B. Yahuaca-Juárez, H.E. Martínez-Flores, J.A. Huerta-Ruelas, R.C. Pless, P. A. Vázquez-Landaverde, R. Tello Santillán. CyTA-Journal of Food (Aceptado).

Artículos en extenso, memorias de congresos internacionales con refereo

1. **Optical temperature behavior of a starch-water mixture** Proc. SPIE, Vol. 7499, 74991F (Dec. 3, 2009). Juan de Dios Ortiz-Alvarado; Berenice Yahuaca-Juárez; Pedro Vázquez-Landaverde; Eduardo Morales-Sánchez; Héctor E. Martínez-Flores; Alfredo Canto-Pérez; Jorge A. Huerta-Ruelas <http://dx.doi.org/10.1117/12.848949>

Artículos en extenso, memorias de congresos nacionales con refereo

1. **Caracterización del nejayote durante la nixtamalización del maíz por la técnica de luz láser esparcida.** Yahuaca Juárez Berenice, Huerta Ruelas Jorge Adalberto, Martínez Flores Héctor Eduardo. IX Encuentro, Participación de la Mujer en la Ciencia, CIO. León, Guanajuato. Marzo, 2012.
2. **Perfil de AG en aceite de maíz nixtamalizado.** Berenice Yahuaca-Juárez, Ramón Tello-Santillán, Héctor E. Martínez-Flores, Jorge A. Huerta-Ruelas, Juan de D. Figueroa-Cárdenas, Pedro A. Vázquez-Landaverde. XIV Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Monterrey, Nuevo León. Marzo, 2012.
3. **Índice de yodo en aceite de harinas de maíz nixtamalizadas a diferentes condiciones térmico-alcálinas y bajo almacenamiento acelerado.** R. Tello-Santillán, B. Yahuaca-Juárez, H.E. Martínez-Flores. VIII Encuentro Participación de la Mujer en la Ciencia, CIO. León, Guanajuato. Marzo, 2011.

4. **Efecto del tiempo de remojo del maíz en el proceso de nixtamalización.** Yahuaca-Juárez B., Martínez-Flores H.E., Huerta-Ruelas J.A. VII Encuentro Participación de la Mujer en la Ciencia, CIO. León, Guanajuato. Marzo, 2010.
5. **Sistema de monitoreo de procesos térmicos en la industria alimenticia mediante esparcimiento de luz láser.** Canto-Pérez A., Ortiz-Alvarado J.D., Yahuaca-Juárez B., Huerta-Ruelas J.A. Encuentro de Investigación en Ingeniería Eléctrica, ENINVIE. Zacatecas, Zacatecas. Enero, 2010.
6. **Contenido de aceite y características físicas de tres variedades de maíz (Zea mays).** Yahuaca-Juárez B., Tello-Santillán R., Martínez-Flores H.E., Huerta-Ruelas J.A. XII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Guanajuato, Guanajuato, 2010.
7. **Evaluación de la calidad oxidativa de tres aceites comerciales en condiciones de almacenamiento acelerado.** Tello-Santillán R., Yahuaca-Juárez B., Martínez-Flores H.E. XII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Guanajuato, Guanajuato, 2010.
8. **Oil extraction of corn nixtamalized flour for two methodologies.** Yahuaca-Juárez B., Tello-Santillán R., Martínez Flores H.E., Huerta-Ruelas J.A. 4th International Congress on Food Science and Food Biotechnology in Developing Countries. Boca del Río, Veracruz, 2010.
9. **Peroxide value of three commercial edible vegetable oils of soybean, canola and corn.** Tello-Santillán R., Yahuaca-Juárez B., Martínez-Flores B. 4th International Congress on Food Science and Food Biotechnology in Developing Countries. Boca del Río, Veracruz, 2010.

Laser Light Scattering System Used to Evaluate the Effect of Calcium Hydroxide on the Properties of Amylopectin

Berenice Yahuaca-Juárez · Juan de Dios Ortíz-Alvarado · Héctor Eduardo Martínez-Flores · Reynaldo C. Pless · Pedro A. Vázquez-Landaverde · Luis Arturo Bello-Pérez · Jorge Adalberto Huerta-Ruelas

Received: 7 July 2012 / Accepted: 4 November 2012
© Springer Science+Business Media New York 2012

Abstract The alkaline cooking process produces important changes in the components of the maize kernel during the production of corn tortillas. A relevant role in these changes has been ascribed to the structural characteristics of the corn starch, mainly in the amylopectin polymer. The objective of the present study was to use an optical system to measure light transmission and scattered light in suspensions of: (1) amylopectin and (2) amylopectin added with calcium hydroxide. Heated suspensions of amylopectin (0.5 %), calcium hydroxide (0.025 and 0.25 %), and a solution combining 0.5 % of amylopectin with 0.025 % of calcium hydroxide were tested. The partial integrated scattering and variance (measure of spreading of scattered light) were calculated. A clear relationship was found between the optical signals as a function of amylopectin structural changes. Laser light Scattering optical system was validated to be used as an

instrument to follow real-time changes in solutions during their heating like amylopectin–calcium hydroxide solution.

Keywords Amylopectin · Calcium hydroxide · Light scattering · Light transmission

Introduction

The nixtamalization process consists of the cooking and steeping of maize kernels in aqueous calcium hydroxide suspension. This process is the main step in the conversion of maize grains into masa or instant corn flour, both used as starting materials in the preparation of snacks and tortillas (Quintanar-Guzmán et al. 2009). Simultaneous processes of water and calcium diffusion occur during the nixtamalization process, producing important changes in some chemical compounds of the corn kernels, affecting the final product's physicochemical characteristics (Sefa-Dedeh et al. 2004; Quintanar-Guzmán et al. 2009). Thus, the interaction with calcium ions could influence structural changes in the starch, resulting in important changes in the viscosity of cooked maize flour or fresh masa (Mondragón et al. 2006). Approximately 86–89 % of the maize endosperm is starch. Starch granules contain mainly two types of molecules, amylopectin and amylose, both consisting of a large number of glucose covalently linked by glycosidic bonds. The amylopectin/amylose ratio varies with the starch source (Demirbas 2007). In the corn tortilla production, the use of corn with semicrystalline endosperm is preferred. In this kind of corn, the amylopectin/amylose ratio is approximately 75:25 in starch granules. Amylose is a linear macromolecule with mostly $\alpha(1\rightarrow4)$ linked D-glucopyranosyl units and less than 0.5 % of the glucose residues in $\alpha(1\rightarrow6)$

B. Yahuaca-Juárez · R. C. Pless · P. A. Vázquez-Landaverde · J. A. Huerta-Ruelas (✉)
Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada, Instituto Politécnico Nacional, Colinas del Cimatario, Cerro Blanco 141, Querétaro, Querétaro, Mexico C.P. 76090
e-mail: jhuertar@ipn.mx

B. Yahuaca-Juárez · H. E. Martínez-Flores
Facultad de Química Farmacobiología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán, Mexico

J. de Dios Ortíz-Alvarado
Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería Campus Guanajuato del IPN, Silao, Guanajuato, Mexico

L. A. Bello-Pérez
Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Instituto Politécnico Nacional, Yauhtepec, Morelos, Mexico

Published online: 30 November 2012

 Springer

linkages. Amylopectin is a very large, highly branched polymer of glucose molecules linked by $\alpha(1\rightarrow4)$ bonds and up to about 5 % of the glucose residues in $\alpha(1\rightarrow6)$ branch points. It has a highly ordered, crystalline structure (Whistler and BeMiller 1999). The contributions of amylose and amylopectin to the viscoelastic properties of starch are not clear (Klucinec and Thompson 2002). To understand the formation of masa through the nixtamalization process, it is necessary to study the interaction between starch (amylose and amylopectin) and calcium hydroxide (Fernández-Muñoz et al. 2002). Also, it is important to take into account the effect of pH on starch gelatinization. Changes in crystallinity behavior of tortillas have been reported as a function of calcium hydroxide (Mondragón et al. 2004). It has been shown previously that during alkaline cooking, crystallinity of maize starch is reduced and tends to be recovered during steeping and cooling due to a recrystallization process. Although other reports showed that the crystallinity increased along with lime cooking at concentrations lower than 0.2 %, a reversal tendency was observed as lime concentration approached 1 %. This behavior was attributed to calcium-induced cross-linking of starch. The masa viscosity profiles may change significantly as a function of pH for both the native starch and the modified starch. In general, alkaline pH values have a negative effect on viscosity as a result of bond hydrolysis and changes in the molecular integrity of the granule. Alkaline pH values can actually improve the gelatinization of the starch in the early stages of heating (Fernández-Muñoz et al. 2002). Using 2–5 % Ca(OH)₂ suspension during nixtamalization increases the pH value (Toro-Vázquez and Gómez-Aldapa 2001).

The physicochemical properties of starch depend on the interaction of several factors, including the amylose-to-amylopectin ratio and the organization of the biopolymer chains inside the granule (Toro-Vázquez and Gómez-Aldapa 2001). Starch gelatinization involves loss of birefringence and crystallinity, swelling, solubilization of amylose and of some external chains of amylopectin, and an increase in viscosity resulting in the formation of a paste or a gel (Rob and Hosney 1998). Several authors have studied heat-induced changes in starch using techniques such as X-ray diffraction (Zobel et al. 1988; Vermeylen et al. 2005), dielectric properties (Roudaut et al. 1999), oscillatory rheometry (Hansen et al. 1991), the viscosity of starch–water mixtures (Hagenimana and Ding 2005), and differential scanning calorimeter (DSC) (Knutson 1990; Chang and Liu 1991). DSC has been widely used because it provides measurements of the onset, peak, and final temperatures for starch gelatinization; besides, it is possible to measure gelatinization enthalpy to obtain a quantitative estimation of crystallinity and the structural order in the starch granule.

Because of its importance in the nixtamalized foods, the behavior of starch and its components (amylose and

amylopectin) under processing conditions should be monitored accurately to ensure product quality and functionality. Although useful, the previously mentioned techniques to characterize changes in starch properties have some disadvantages: (1) they involve sampling from the production mainstream and (2) the analytical procedures take place off-line, delaying results that would be valuable for a continuous production facility if only they were available immediately (Cheng et al. 2006). On the other hand, some industries use optical methodologies such as laser light scattering to analyze various systems such as nanoparticles, peptides, proteins, maltodextrin, and sugar particles; at present, some industries use this methodology (Mendoza-Sánchez et al. 2005) to analyze fat and protein content in fresh raw milk (Qi et al. 2006) or in cloudy apple juice (Benitez et al. 2007), and to predict soluble-solids content and firmness in apple fruit (Qing et al. 2007). The objective of the present work was to evaluate the usefulness of optical measurements for monitoring changes in heated suspensions of amylopectin with added calcium hydroxide.

Materials and Methods

Solutions Preparation

A 0.5 % suspension of amylopectin (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) and 0.025 and 0.25 % suspensions of calcium hydroxide (Ca(OH)₂) (Powder 1372-01 J.T. Baker) were prepared in distilled water. To evaluate the effect of Ca(OH)₂ on amylopectin, a suspension containing 0.5 % amylopectin and 0.25 % Ca(OH)₂ was prepared. All solutions were heated to 85 °C, with optical measurements performed permanently during the heating and cooling process.

Optical Setup

A schematic diagram of the optical setup is shown in Fig. 1. A semiconductor laser module (Model LTG65012A5-T, Lasermate Group, Inc., Pomona, CA) with emission at 643 nm was used. The laser beam was modulated at 3 kHz to improve the signal-to-noise ratio, and passed through the sample contained in a temperature-controlled thin-layer optical cell (0.5 mm path length and 0.4 ml volume). A photodiode array (PDA-C216 Advanced Photonix) containing 16 sensors, allowing scattered light intensity to be monitored in several positions simultaneously, was used as detector. Electric signals obtained with the photodiode array corresponded to scattered light intensity in a range of $\pm 10^\circ$ relative to the laser beam; an analog multiplexer (MAX306 Maxim Inc.) sequentially transferred the electrical signals generated to a signal conditioning circuit, composed of a current-to-voltage converter and a band-pass filter tuned to the frequency of the laser modulation signal, resulting in a

very efficient rejection of noise and disturbances. A signal-conditioning circuit was built with a low-noise operational amplifier (OPA4228, Burr-Brown Inc.). The signals obtained from the conditioning circuit were transferred to a personal computer using a data acquisition card (PCI6024E National Instruments Inc). Electrical signals were sampled at 24 kHz and 12 bits of resolution. The data acquisition card also generated the laser modulation signal. The 16-element intensity values of a water sample were used to evaluate the system stability in time and to define a baseline for the scatter pattern.

PDA Signals

There were 16 signals obtained from the photodiode array (PDA). Statistical quantities can be defined as descriptive parameters of the scatter, assuming its shape approximates a normal distribution centered on the PDA. In this work, two parameters were calculated. The first one was the arithmetic sum of all 16 photodiodes. This parameter was called partial integrated scattering (PIS), which describes the amount of light transmitted through the sample as scattered light. The second parameter, termed variance, is a measure of the spreading of the scattered light and by its definition did not depend on the scale used nor on the initial laser intensity; and it was calculated as:

$$S_d = \sum_{i=1}^n (i - \bar{i})^2 P_i$$

where i is the particular diode number in the PDA, P_i is the scattering intensity at diode i normalized to the sum of all intensities detected by the PDA. In this setup, $n=16$ and $\bar{i}=8$.

Heating Process

A 100-W commercial heating resistor fitted to a glass chamber custom-built to contain the sample cell was used. The chamber had two holes for entry and exit of the laser beam, allowing the light to pass through the sample solutions. A type T thermocouple in direct contact with the solution was employed to measure the temperature during the experiment. A programmable temperature controller (Micromega CN77000) governed the current supply to the heating resistor to achieve the desired temperature profile for the starch–water mixture: 30 to 90 °C at 3 °C/min. The temperature controller transmitted the actual temperature to a PC using a serial port.

Multi Angle Laser Light Scattering (MALLS)

In the sample container (Fig. 1), equipped with an optical cell, were placed 0.4 ml of each sample suspension. The heating range applied to the suspensions was from 30 to

85 °C with an increase of 3 °C/min. During the heating process, a laser beam was passed through each suspension. The generated signals of laser light scattering were recorded with the photodiode array. Four typical scattered light patterns are shown in Fig. 2. Figure 2a and b are patterns of a suspension of 0.5 % amylopectin/water at 30 and 70 °C, respectively. Figure 2c and d are patterns from a suspension of 0.5 % amylopectin/0.25 % Ca(OH)₂ at 30 and 70 °C.

Differential Scanning Calorimetry

DSC measurements were performed using a differential scanning calorimeter (Mettler Toledo). Amylopectin (5 %)/Ca(OH)₂ (0.25 %) suspension in distilled water was prepared. Forty microliters was weighed directly in a silver pan, and the pan was sealed hermetically. The pans were heated from 25 to 90 °C at a rate of 10 °C/min.

Rapid Visco Analyzer

The relative viscosities of the amylopectin/Ca(OH)₂ suspension was determined using a pasting viscometer (Rapid Visco Analyser: Anton Paar). The sample was adjusted to 5 % amylopectin and 0.25 % Ca(OH)₂ in distilled water. The sample was heated over 5 min from 30 to 90 °C at a rate of 12 °C/min, and the sample was then cooled down to 30 °C/5 min.

Experiment Outline

In order to evaluate the performance of the MALLS optical system, three different sets of samples were prepared: (a) organic phase, amylopectin/water (0.5 %) suspensions heated to 85 °C twice with intermediate cooling down to 30 °C, (b) inorganic phase (Ca(OH)₂/water (0.025 and 0.25 %) suspensions were heated to 85 °C and measured also during cooling time, and (c) two-phase system, amylopectin (0.5 %)/Ca(OH)₂ (0.25 %)/water suspensions heated and cooled in same temperature interval.

Data Analysis

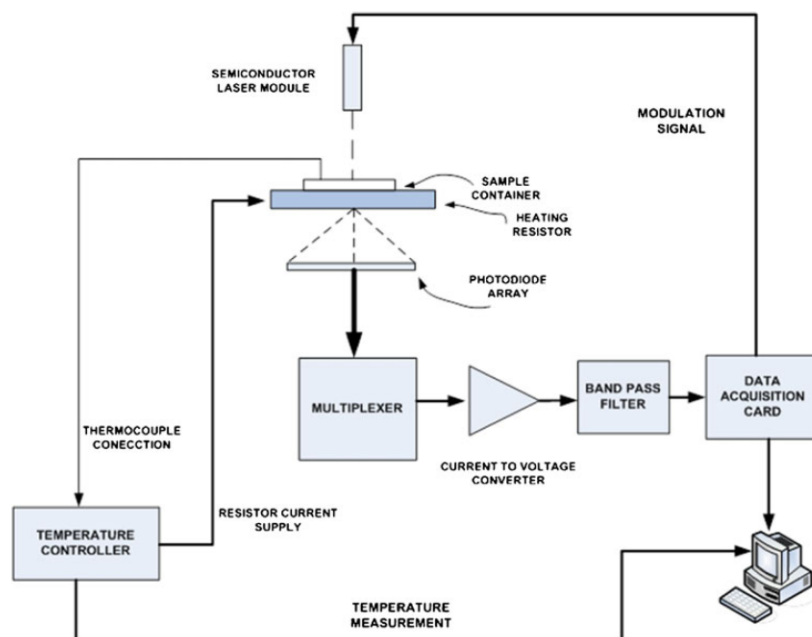
LabView™ (Version 8 Express, National Instruments Inc.) was used to collect sample temperature and optical signals during heating and cooling processes. Experimental values were plotted against temperature and time using OriginLab® (version 7.5, OriginLab Corporation Inc., Northampton, MA).

Results and Discussion

General Description of the Optical System

Figure 2 shows the typical scattering patterns for a 0.5 % amylopectin/water suspension at (a) 30 °C and (b) 70 °C;

Fig. 1 Schematic optical setup for transmission and scattered light measurement



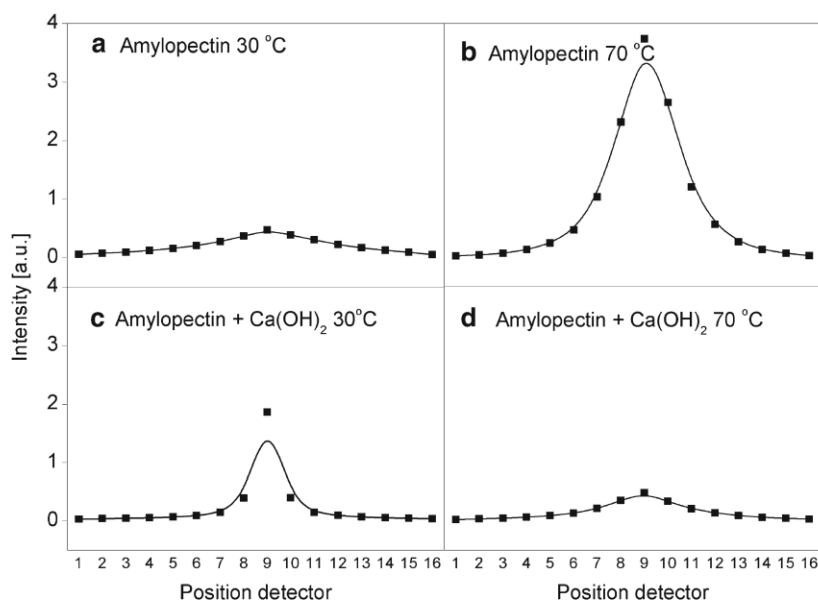
and to 0.5 % amylopectin/0.25 % $\text{Ca}(\text{OH})_2$ suspension to (c) 30 °C and (d) 70 °C. Patterns of scattered light are composed of 16 signals in a line. Scattered light has a circularly symmetric pattern with no angular distribution dependence, so no angular alignment of the linear detector array was necessary. Size and form of scatter distribution can be correlated to sample/process behavior. These 16 signals were

used to calculate PIS and variance.

Organic-Phase Measurements

PIS and variance values from optical measurements with amylopectin solutions are shown as a function of temperature in Fig. 3a. Gelatinization of the corn starch takes place

Fig. 2 Examples of scattered light signals obtained with the photodiode array of: 0.5 % amylopectin/water suspension heated to **a** 30 °C, **b** 70 °C, and 0.5 % amylopectin/0.25 % $\text{Ca}(\text{OH})_2$ suspension heated to **c** 30 °C and **d** 70 °C



over the range from 60 °C (onset) up to 72 °C (completion). Starch gelatinization produces disorganization of starch components accompanied by lixiviation of amylose, and loss of birefringence, of order, and of crystalline structure (Roger et al. 1999). The temperature and energy requirements for gelatinization are a function of the degree of physical junction of regions between amylose molecules, or between amylopectin molecules, or between amylose and amylopectin molecules (Klucinec and Thompson 2002). In the present study, when we applied temperature to an amylopectin-based suspension, high relative changes in scattered signals were observed around 65 °C. Around 60 °C, where light scattering (variance) decreases, a lesser extent change in PIS was observed. Around 65 °C, a large change was registered associated to the formation of a transparent solution. Figure 3b shows the PIS signal obtained during a heating-cooling-heating sequence, reflecting an irreversible process due to amylopectin change in particle size and/or structure induced by heating. Initial development of the gel firmness during gelatinization of starch is attributed to the formation of leached-out amylose matrix gel. The swollen gelatinized granules are embedded by the gel matrix, thus reinforcing the amylose gel matrix. The amylopectin staling within the gelatinized granule is the cause of increased firmness of starch gel during storage (Villareal et al. 1997). One of the most used techniques to measure the pasting profile of starchy materials where the sample is submitted to heating and cooling steps is through the use of a rapid visco analyzer (RVA) equipment. This equipment measures the changes in the viscosity of the starch-water mixture as it is subjected to a controlled heating ramp. The resultant graph of viscosity as a function of temperature and time parameters is called pasting profile. In this study, the observed behavior in the heated starch optical plot, shown in Fig. 5c, had some similarities with that obtained by Morris (1990) using the RVA equipment. Light scattering did not change up to a temperature of about

50 °C; further heating caused scattering to increase. The pasting profile reported by Hosoney et al. (1986) for heated starch showed an increase in viscosity at about the same temperature (50 °C) used in this study, mainly due to swelling of starch granules. When these molecules increase their volume, a greater interaction between light and molecules is expected in the form of light scattering since more molecular surface is available to reflect incident light. In the case of starch granules, the swelling continues at a fairly constant rate until a maximum swelling is reached at about 70 °C. This is the point where the maximum viscosity takes place (Hosoney et al. 1986). This is consistent with our results where the maximum in light scattering was observed when the amylopectin was heated at 75 °C. Beyond this temperature range (70–75 °C), a decrease in scattered light was observed. According to the pasting profile graph, after 70–75 °C, starch granules began to be destroyed by heat and shear rate, releasing some lineal chains from the small amount of amylose and perhaps some long external chains of the amylopectin molecule, in a process termed starch gelatinization-solubilization (Morris 1990); then, the starch granules, bigger in size, that were originally suspended in water did not show a longer interaction with the incident light, and a more spacious network allows the light to pass through the sample, explaining the observed decrease in scattered light. This behavior of the scattered light was also observed in the variance plot, where the amplitude of the scattered light decreased from 50 to 70 °C since a more focused light ray impinged in the detector array was observed.

Inorganic-Phase Measurements

The PIS signal from the calcium hydroxide-water solution is shown in Fig. 4 as a function of temperature for two concentrations of calcium hydroxide, 0.025 and 0.25 %. The sample with the highest calcium hydroxide concentration (0.25 %) showed a decrease in PIS signal at 42 °C

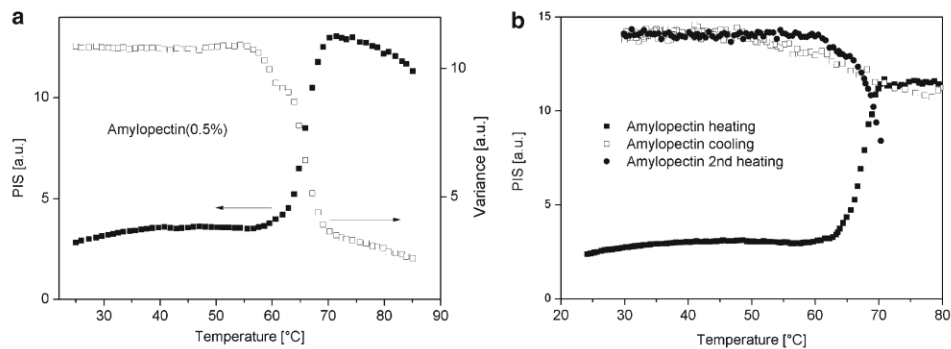
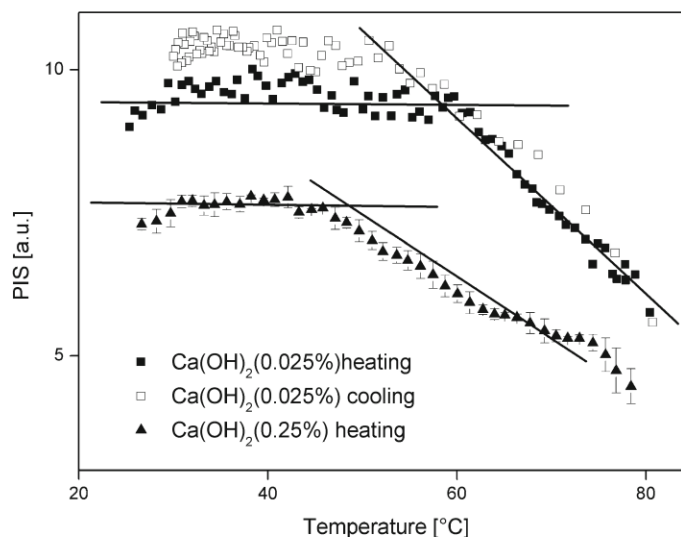


Fig. 3 a PIS (black squares) and variance (white squares) signals as function of temperature in 0.5 % amylopectin–water suspension, b PIS signal during a 0.5 % amylopectin–water suspension heating–cooling–heating sequence. (black squares) heating (white squares) cooling

Fig. 4 PIS as function of temperature (°C) in a Ca(OH)₂-water solution at different concentrations, measured also during cooling



compared with the sample studied at a low concentration (0.025 %) where the PIS signal decreased when the temperature applied reached 60 °C. This can be explained in terms of thermal agitation, which produces the movement of the particles in the suspensions, which in turn decrease the PIS of the light. High concentration of Ca(OH)₂ molecules increases the scattering of laser light, reducing the PIS signal. During the cooling step, a completely reversible process was observed without change in physical and chemical properties of the suspension due to no significant changes in calcium hydroxide molecules. Small changes in signal level during cooling can be related to some water evaporation changing concentration.

Organic Phase and Two-Phase Comparison

Figure 5 shows the following comparison plots of the amylopectin/water and amylopectin/Ca(OH)₂/water suspensions as a function of temperature with different techniques: (a) variance and (b) PIS with MALLS, (c) DSC and (d) RVA. The error bars shown in some points were calculated as standard deviation of three recorded signals, to provide a measure of the stability and reproducibility of signals. In RVA measurements, error bars are smaller than symbol size. PIS and variance optical signals did not change considerably at temperatures below 45 °C, showing no interaction of amylopectin with calcium hydroxide. Around 50 °C, the optical signal observed reflects possible chemical reaction originated by the interaction between amylopectin and calcium hydroxide. At 55 °C a variance maximum and a PSI minimum observed. To RVA curves, the increase amylopectin/calcium hydroxide suspension

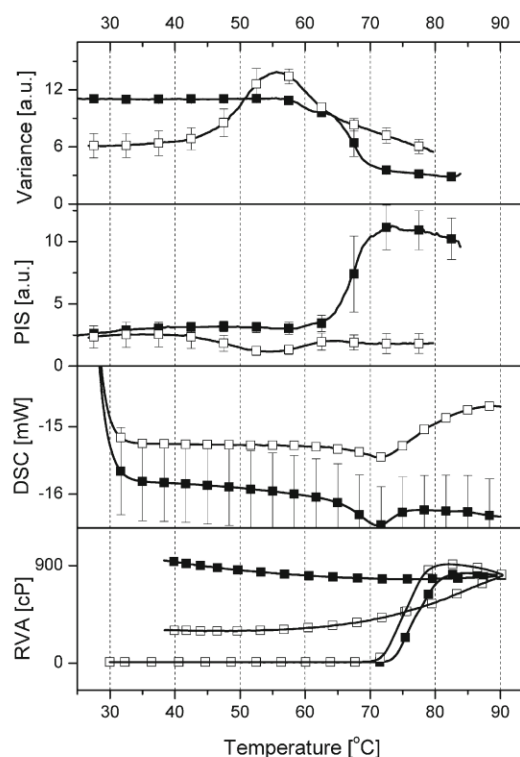


Fig. 5 Comparison of variance, PIS, DSC, and RVA signals as function of temperature (°C) in an amylopectin-water suspension (black squares) and amylopectin/Ca(OH)₂-water suspension (white squares). Clear sensitivity of optical signals to Ca(OH)₂ presence in suspension can be appreciated

was at 72 °C, while that of DSC the endothermic change associated with amylopectin/calcium hydroxide structural changes was at 65 °C. RVA and DSC changes were identified in a temperature range of 68 and 82 °C in contrast to PSI and variance changes given between 48 and 68 °C. The above is based on the optical of light system descriptive parameters that indicate that the amount transmitted through the suspension in form of scattered light (PIS) and the extension of the scattered light on the photodiode array (variance) is observed before chemical and/or structural changes in the heated suspensions take place; up to 45 °C, an opaque and turbid suspension decreases variance. From 50 to 65 °C, an opaque gel starts to form, spreading much of the laser light passed through suspension, which can be seen with a high value of the variance and a low value of PSI. Subsequently, at temperatures over 68 °C, structural changes in the amylopectin begin to occur, associated with loss of crystalline order turning the transparent gel, minimizing light scattering thereby decreasing the variance and increasing PSI. To RVA and DSC, the changes were detected just when the amylopectin crystalline order transformation occurs. This behavior shows the potential of the optical system to study this type of interaction in suspensions at low concentration of chemical compounds such as calcium hydroxide and amylopectin. The capability of the optical system used in this study to monitor the behavior of amylopectin as a component of starch is very important, considering the role of amylopectin in the gelatinization phenomena (Morris 1990; Hwang et al. 1999; Miles et al. 1985).

Conclusions

The present work, demonstrated that changes associated with amylopectin properties under different conditions can be studied by optical signals obtained from scattered light and measured with a 16-channel detector array. The heating of amylopectin and amylopectin–calcium hydroxide suspensions resulted in clear changes in scattered light parameters. The scatter signal behavior depends on the rearrangement of amylopectin chains due to heating of the amylopectin–water mixture, which is influenced by the calcium hydroxide present in the suspension. These findings point out the potential of optical systems for the measurement of starch properties and their components at low concentration, usually achieved only by other techniques like differential scanning calorimeter, rheometry, and X-ray diffraction, but with higher concentrations and off-line. Furthermore, optical systems offer the capability and adaptability of in-line measurement of changes in starch properties in some industrial processes, such as the thermal-alkaline

process to produce corn tortillas, instant noodles, and beverage industry.

Acknowledgments Berenice Yahuaca Juárez is grateful to PROMEP and CONACYT for the scholarship she received for her Doctoral studies. Juan de Dios Ortíz-Alvarado acknowledges a scholarship from CONACYT during his graduate studies. This work was partially supported by CONACYT and the Secretaría de Investigación y Posgrado of the Instituto Politécnico Nacional (SIP-IPN).

Conflict of Interest The authors declare that no conflict of interest exists related to this publication.

References

- Benitez EI, Genovese DB, Lozano JE (2007) Scattering efficiency of a cloudy apple juice: effect of particles characteristics and serum composition. *Food Res Int* 40:915–922
- Chang SM, Liu LC (1991) Retrogradation of rice starches studied by differential scanning calorimetry and influence of sugars, NaCl and lipids. *J Food Sci* 56:564–570
- Cheng Y, Meng B, Cheng M, Liu X, Hua Z (2006) Laser-light-scattering study of structure and dynamics of waxy corn amylopectin in dilute aqueous solution. *Carb Polym* 64:190–196
- Demirbas A (2007) Biodegradable plastics from renewable resources. *Energy Sources Part A* A29:419–424
- Fernández-Muñoz JL, Rodríguez ME, Pless RC, Martínez-Flores HE, Leal M, Martínez JL, Baños L (2002) Changes in nixtamalized corn flour dependent on postcooking steeping time. *Cereal Chem* 79:162–166
- Hagenimana A, Ding X (2005) A comparative study on pasting and hydration properties of native rice starches and their mixtures. *Cereal Chem* 82:70–76
- Hansen LM, Hoseney RC, Faubion JM (1991) Oscillatory rheometry of starch water systems: effect of starch concentration and temperature. *Cereal Chem* 68:347–351
- Hoseney RC, Zeleznak KJ, Yost DA (1986) A note on the gelatinization of starch. *Starch-Starke* 38:407–409
- Hwang CH, Heldman DR, Chao RR, Taylor TA (1999) Changes in specific heat of corn starch due to gelatinization. *J Food Sci* 64:141–144
- Klucinec JD, Thompson DB (2002) Amylopectin nature and amylase–amylopectin ratio as influences on the behavior of gels of dispersed starch. *Cereal Chem* 79:24–35
- Knutson CA (1990) Annealing of maize starches at elevated temperatures. *Cereal Chem* 67:376–384
- Mendoza-Sánchez P, López D, Kongraksawech T, Vázquez P (2005) Laser metrology in food related systems. Proceedings of the Eighth International Symposium on Laser Metrology. SPIE, Bellingham, Washington, pp 347–354
- Miles MJ, Morris VJ, Orford PD, Ring SG (1985) The roles of amylose and amylopectin in the gelation and retrogradation of starch. *Carb Res* 135:271–281
- Mondragón M, Bello-Pérez LA, Agama E, Melo A, Betancour-Ancona D, Peña JL (2004) Effect of nixtamalization on the modification of the crystalline structure of maize starch. *Carbohydr Polym* 55:411–418
- Mondragón M, Mendoza-Martínez AM, Bello-Pérez LA, Peña JL (2006) Viscoelastic behavior of nixtamalized maize starch gels. *Carb Polym* 65:314–320

- Morris VJ (1990) Starch gelation and retrogradation. *Trends Food Sci Technol* 1:2–6
- Qi X, Hou ZL, Tian JL, Yu Z (2006) The rapid determination of fat and protein content in fresh raw milk using the laser light scattering technology. *Opt Laser Eng* 44:858–869
- Qing Z, Ji B, Zude M (2007) Predicting soluble solids content and firmness in apple fruit by means of laser light backscattering image analysis. *J Food Eng* 82:58–67
- Quintanar-Guzmán A, Jaramillo-Flores ME, Mora-Escobedo R, Chel-Guerrero L, Solorza-Feria J (2009) Changes on the structure, consistency, physicochemical and viscoelastic properties of corn (*Zea mays* sp.) under different nixtamalization conditions. *Carbohydr Polym* 78:908–916
- Rob JH, Hoseney RC (1998) In: Eliasson (ed) *Interactions: the keys to cereal quality*. The American Association of Cereals Chemists, Inc, St. Paul, p 56
- Roger P, Bello-Pérez LA, Colonna P (1999) Contribution of amylose and amylopectin to the light scattering behavior of starches in aqueous solution. *Polymer* 40:2897–6909
- Roudaut G, Maglione M, Le Meste M (1999) Relaxations below glass transition temperature in bread and its components. *Cereal Chem* 76:78–81
- Sefa-Dedeh S, Cornelius B, Sakyi-Dawson E, Ohene-Afoakwa E (2004) Effect of nixtamalization on the chemical and functional properties of maize. *Food Chem* 86:317–324
- Toro-Vázquez JF, Gómez-Aldapa CA (2001) Chemical and physicochemical properties of maize starch after industrial nixtamalization. *Cereal Chem* 78:543–550
- Vermeylen R, Goderis B, Reynaers H, Delcour JA (2005) Gelatinization related structural aspects of small and large wheat starch granules. *Carb Polym* 62:170–181
- Villareal CP, Hizukuri S, Juliano BO (1997) Amylopectin staling of cooked milled rices and properties of amylopectin and amylose. *Cereal Chem* 74:163–167
- Whistler RL, BeMiller JN (1999) *Carbohydrate Chemistry for Food Scientists*. Eagan Press, St. Paul, p 117, 119, 123p
- Zobel HF, Young SN, Rocca LA (1988) Starch gelatinization: an X-ray diffraction study. *Cereal Chem* 65:443–449

ANEXO 2

Plant Foods Hum Nutr
DOI 10.1007/s11130-012-0332-y

ORIGINAL PAPER

Oil Oxidation in Corn Flour from Grains Processed with Alkaline Cooking by Use of Peroxide Value, UV and FTIR

B. Yahuaca-Juárez · H. E. Martínez-Flores ·
J. A. Huerta Ruelas · R. C. Pless · P. A. Vázquez-
Landaverde · R. Tello Santillán

© Springer Science+Business Media New York 2013

Abstract The objective of this work was to evaluate the effect of alkaline cooking on the oxidative stability of oil in corn flour. A central composite design was used to study the combined effect of lime concentration (%) and steep time (h) on peroxide value (PV); specific extinction coefficients at 232 nm and 270 nm (K_{232} and K_{270}); and FTIR absorbance at 3009 cm^{-1} , 3444 cm^{-1} , and 3530 cm^{-1} in oils from corn flour obtained by alkaline cooking. The results indicate that lime concentration and steep time affected the PV, K_{232} , and K_{270} . A decrease of 2.56 % was observed in the IR absorption bands, corresponding to the polyunsaturated fatty acids. The FTIR spectra also showed absorption bands related to the secondary oil oxidation products.

Keywords Alkaline cooking · Stability oxidative · Corn oil

Introduction

Maize is the leading cereal in the world and a staple for millions of people in Latin America, where it is generally consumed as tortillas [1, 2]. In recent years, corn tortillas and their derivatives, such as tortilla chips, have been

introduced to the United States of America, Europe, Asia, and South America. The alkaline cooking (nixtamalisation) of corn grains is used to elaborate tortillas and tortilla chips [3]. The nixtamalisation consists of cooking the corn grains with water and calcium hydroxide (lime) for a period of 40–70 min, followed by a steeping time of 12–16 h in the alkaline cooking solution. Afterwards, the cooked and steeped grains (nixtamal) are washed to eliminate the lime residues and milled to obtain the masa flour used to produce tortillas or tortilla chips.

The original corn contains approximately 3–7 % lipids, located mainly in the germ. The fatty-acid constituents of these lipids are 50–60 % linoleic acid, 25–30 % oleic acid, 7–10 % palmitic acid and 1–2 % others. During alkaline cooking and steeping, calcium ions and water diffuse through the germ and endosperm, causing changes in their molecular structure, thus modifying the physicochemical, rheological properties, and textural characteristics of nixtamal, masa, and tortillas [4]. Reports indicate that at least 4 h of the steep time are necessary because it is during this stage when major changes take place [5]. The chemical structure of the lipids contained in corn germ renders them very susceptible to chemical change due to their high level of unsaturation [6]. In this regard, the nixtamalisation process may promote fatty acid oxidation, particularly that of oleic, linoleic, and linolenic acids [7].

Lipid oxidation is the term used to describe the complex sequence of chemical interactions between unsaturated fatty acid acyl groups in lipids with active oxygen species. Usually, oil is oxidised when exposed to heat, ultraviolet light, metals, enzymes, some radical or non-radical oxygen species ($^3\text{O}_2$, $^1\text{O}_2$, O_3 , H_2O_2 , ROOH, O_2^- , $\cdot\text{OH}$, RO \cdot , ROO \cdot), air, or moisture [6, 7].

Oil oxidation occurs through a free radical mechanism. In the initiation step, a fatty acid radical, known as the alkyl radical ($\text{L}\cdot$), is formed by abstraction of a hydrogen in the

B. Yahuaca-Juárez · J. A. Huerta Ruelas · R. C. Pless ·
P. A. Vázquez-Landaverde
Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología
Avanzada, IPN, Querétaro, Mexico

B. Yahuaca-Juárez · H. E. Martínez-Flores · R. T. Santillán
Facultad de Químico Farmacobiología, Universidad Michoacana
de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Mexico

H. E. Martínez-Flores (✉)
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo,
Tzintzuntán 173, Col. Matamoros,
Morelia, Mich. C.P. 58098, Mexico
e-mail: hedu65@hotmail.com