

UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO
FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
ÁREA TEMÁTICA EN BIOTECNOLOGÍA ALIMENTARIA



**CARACTERIZACIÓN DE LA OXIDACIÓN DE LÍPIDOS EXTRAÍDOS DE
HARINAS DE MAÍZ INSTANTÁNEAS NIXTAMALIZADAS SOMETIDAS A
CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO**

TESIS

Que para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Presenta:

Q.F.B. RAMÓN TELLO SANTILLÁN

Director de tesis:

D.C. HÉCTOR EDUARDO MARTÍNEZ FLORES

ÍNDICE GENERAL

	Página
ÍNDICE GENERAL	i
Índice de Tablas	vi
Índice de Figuras	vii
1.0 RESUMEN	1
Abstract	2
2.0 INTRODUCCIÓN	3
3.0 ANTECEDENTES	6
3.1 Generalidades del maíz	6
3.2 Clasificación del maíz	7
3.3 Estructura del grano de maíz	8
3.4 Composición química del grano de maíz	9
3.4.1 Almidón	9
3.4.2 Proteínas	9
3.4.3 Aceite y ácidos grasos	9
3.4.4 Fibra	10
3.4.5 Vitaminas	10
3.4.6 Minerales	11
3.5 Nixtamalización	11
3.5.1 Cambios en los lípidos del maíz inducidos por el proceso de nixtamalización	11

3.6	Lípidos	12
3.6.1	Clasificación de los lípidos.	13
3.6.2	Ácidos grasos	14
3.6.2.1	Ácidos grasos saturados	14
3.6.2.2	Ácidos grasos insaturados.	15
3.6.3	Ácidos grasos esenciales	17
3.6.3.1	Importancia y fuentes de los ácidos grasos esenciales	19
3.7	Oxidación de los lípidos	20
3.7.1	Productos de la oxidación de los lípidos.	22
3.7.2	Pérdida de lípidos por oxidación	23
3.8	Harinas de maíz nixtamalizado	24
3.9	Almacenamiento de tipo acelerado	25
4.0	JUSTIFICACIÓN	26
5.0	HIPÓTESIS	26
6.0	OBJETIVOS	27
6.1	Objetivo general	27
6.2	Objetivos específicos	27
7.0	ESTRATEGIA EXPERIMENTAL	28
7.1	Materia prima	28
7.1.1	Limpieza del grano	28
7.2	Propiedades físicas del grano	28
7.2.1	Tamaño del grano	28

7.2.2	Peso Hectolítrico	28
7.2.3	Índice de flotación	28
7.2.4	Dureza del grano	29
7.3	Composición química del grano	29
7.4	Determinación del tiempo óptimo de cocción del grano de maíz en función del desprendimiento de su pericarpio	30
7.5	Elaboración de las harinas de maíz nixtamalizadas	30
7.5.1	Nixtamalización (Cocción térmico-alkalina y reposo)	31
7.5.2	Lavado del nixtamal	31
7.5.3	Molienda del nixtamal	31
7.5.4	Secado del nixtamal	32
7.6	Almacenamiento de las harinas de maíz nixtamalizadas.	34
7.7	Extracción de grasa	35
7.7.1	Extracción directa	35
7.8	Métodos indirectos para la evaluación de la oxidación de los lípidos del maíz	36
7.8.1	Índice de yodo	36
7.8.2	Índice de saponificación	37
7.8.3	Índice de acidez	38
7.8.4	Índice de peróxido	39

7.9	Métodos directos para la evaluación de la oxidación de los lípidos del maíz. . . .	40
7.9.1	Espectroscopía UV/Vis	40
7.9.2	Espectroscopía de infrarrojo (FTIR)	41
7.9.3	Resonancia Magnética Nuclear	43
7.10	Diseño experimental y análisis estadístico	44
8.0	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
8.1	Materia prima	46
8.1.1	Limpieza del grano	46
8.2	Propiedades físicas del grano	46
8.2.1	Tamaño del grano	46
8.2.2	Peso Hectolítrico	47
8.2.3	Índice de flotación	47
8.2.4	Dureza del grano	47
8.3	Composición química del grano	48
8.4	Determinación del tiempo óptimo de cocción del grano de maíz en función del desprendimiento de su pericarpio. . . .	48
8.5	Elaboración de las harinas de maíz nixtamalizadas	49
8.5.1	Nixtamalización (Cocción térmico-alkalina y reposo)	49
8.5.2	Lavado, molienda y secado del nixtamal	50
8.6	Extracción del aceite	51

8.7	Métodos indirectos para la evaluación de la oxidación de los lípidos del maíz	53
8.7.1	Índice de yodo	54
8.7.2	Índice de saponificación	56
8.7.3	Índice de acidez	58
8.7.4	Índice de peróxidos	60
8.8	Diseño experimental y análisis estadístico	62
8.9	Espectroscopía UV/Vis	63
8.10	Espectroscopía de infrarrojo (FTIR)	69
8.11	Resonancia Magnética Nuclear (RMN)	75
9.0	CONCLUSIONES	84
10.0	REFERENCIAS	85

Índice de Tablas

Tabla	Título	Página
1	Ácidos grasos saturados.	15
2	Ácidos grasos insaturados.	17
3	Tiempos de cocción del maíz relacionados con el índice de flotación.	30
4	Factores de estudio involucrados en el diseño experimental.	44
5	Factores de estudio del diseño experimental.	45
6	Tamaño del grano de maíz “La Barca” en base a sus ejes principales.	46
7	Análisis químico proximal del maíz “La Barca”.	48
8	Resultados de los índices indirectos de acuerdo a los tratamientos del diseño experimental.	53
9	Factores de estudio del diseño experimental.	62
10	Asignación de las señales del espectro ^1H RMN del aceite de maíz puro “La Barca”. Las señales son de acuerdo a las Figuras 40 Y 41.	79

Índice de Figuras

Figura	Título	Página
1	<i>Cinteotl</i> , Dios Azteca del maíz.	6
2	Estructura del grano de maíz.	8
3	Estructura química del Ácido Linoleico, omega-6.	18
4	Estructura química del Ácido Linolénico, omega-3.	18
5	Dureza del grano de maíz.	29
6	Molino de piedras.	32
7	Secador tipo “flash dryer”.	33
8	Harina de maíz nixtamalizada.	33
9	Harinas de maíz almacenadas.	34
10	Equipo rotavapor.	35
11	Determinación del índice de yodo.	37
12	Determinación del índice de saponificación.	38
13	Determinación del índice de acidez.	39
14	Determinación del índice de peróxido.	40
15	Espectrofotómetro UV/Vis.	41
16	Espectrofotómetro de infrarrojo.	42
17	Equipo de Resonancia Magnética Nuclear.	43
18	Cocción de los granos de maíz.	49
19	Reposo de los granos de maíz cocidos.	50

20	Harinas de maíz empacadas al vacío.	51
21	Aceites de maíz almacenados en refrigeración.	52
22	Índice de yodo en función del tiempo de reposo (h) y días de almacenamiento.	54
23	Índice de yodo en función de la concentración de hidróxido de calcio (%) y días de almacenamiento.	55
24	Índice de saponificación en función del hidróxido de calcio (%) y tiempo de reposo (h).	57
25	Índice de saponificación en función del tiempo de reposo (h) y días de almacenamiento.	58
26	Índice de acidez en función del hidróxido de calcio (%) y tiempo de reposo (h).	59
27	Índice de acidez en función del hidróxido de calcio (%) y días de almacenamiento.	59
28	Índice de peróxido en función del tiempo de reposo (h) y días de almacenamiento.	60
29	Índice de peróxido en función del hidróxido de calcio (%) y tiempo de reposo (h).	61
30	Espectros Ultravioleta de aceite de maíz puro y tratado “La Barca”, en la región de 205 a 260 nm. (T) Tratamiento.	64
31	Coeficiente de extinción a 232 nm, en función del hidróxido de calcio (%) y días de almacenamiento.	66

32	Coeficiente de extinción a 232 nm, en función del hidróxido de calcio (%) y tiempo de reposo (h).	66
33	Coeficiente de extinción a 270 nm, en función del tiempo de reposo (h) y días de almacenamiento.	67
34	Coeficiente de extinción a 270 nm, en función del hidróxido de calcio (%) y tiempo de reposo (h).	68
35	Espectro de infrarrojo de aceite de maíz puro “La Barca”.	70
36	Espectros de infrarrojo de aceite de maíz puro y tratado “La Barca”, en la región de 4500 a 650 cm^{-1} . (T) Tratamiento y (Ctrl) Control.	71
37	Ampliación de los espectros de infrarrojo de aceite de maíz puro y tratado “La Barca”, en la región de 3090 a 2940 cm^{-1} . (T) Tratamiento.	73
38	Porcentaje de transmitancia de la señal A, en función del tiempo de reposo (h) y días de almacenamiento.	74
39	Porcentaje de transmitancia de la señal A, en función del hidróxido de calcio (%) y tiempo de reposo (h).	74
40	Espectro ^1H RMN de aceite de maíz puro “La Barca”.	77
41	Ubicación de los átomos de hidrógeno de las señales típicas de un espectro ^1H RMN para aceites vegetales en una molécula de ácido linoleico.	77
42	Expansión de la región entre 2.705 y 2.825 ppm del espectro ^1H RMN de aceite de maíz puro “La Barca”.	78

Caracterización de la oxidación de lípidos extraídos de harinas de maíz instantáneas nixtamalizadas sometidas a condiciones de almacenamiento. TELLO-SANTILLÁN, 2011.

43	Expansión de la región entre 5.6 y 6.8 ppm del espectro ¹ H RMN de aceite de maíz puro “La Barca”.	80
44	Expansión de la región entre 9.5 y 9.95 ppm del espectro ¹ H RMN de aceite de maíz puro “La Barca”.	81
45	Porcentaje de descomposición del ác. linoleico en función del hidróxido de calcio (%) y tiempo de reposo (h).	83
46	Porcentaje de descomposición del ác. linoleico en función del tiempo de reposo (h) y días de almacenamiento.	83

1.0 RESUMEN

El maíz es el principal cultivo en México, el contenido de lípidos en el maíz se reporta en un rango de 4.2 a 5.5%, del cual el 85% corresponde a los ácidos grasos insaturados (AGI) oleico, linoleico y linolénico; éstos dos últimos son esenciales en el desarrollo temprano del cerebro entre otras funciones en el organismo humano. Los AGI son susceptibles de oxidarse causando deterioro de los alimentos. El objetivo del presente trabajo fue evaluar los cambios oxidativos de los lípidos del maíz al variar las condiciones tanto del proceso térmico alcalino usado para elaborar harinas instantáneas como de su almacenamiento. Para elaborar las harinas instantáneas se utilizó el proceso de nixtamalización, que consiste de la cocción del maíz en una solución de hidróxido de calcio, seguido de un reposo de hasta 16 h, de una molienda y posterior deshidratación hasta obtener la harina instantánea. Para este estudio se utilizó la metodología de superficie de respuesta con tres variables independientes 1) concentración de hidróxido de calcio (0.75, 1.50 y 2.25%) 2) tiempo de reposo del grano de maíz (8, 12 y 16 h) 3) almacenamiento acelerado (13.5 y 27 días). A las harinas obtenidas se les extrajeron los lípidos y les fueron analizados los índices de yodo, de saponificación, de acidez y de peróxidos, así como el uso de técnicas espectroscópicas como UV/vis, FTIR y Resonancia Magnética Nuclear, para realizar un seguimiento en el proceso de oxidación de los lípidos. Esto permitió definir las condiciones idóneas de las variables de procesamiento, en el que existen mínimos cambios en los AGI.

ABSTRACT

Corn is the main crop in Mexico, the lipid content in maize is reported in a range of 4.2 to 5.5 %, which 85 % are unsaturated fatty acids oleic, linoleic and linolénico acids, the latter two are essential in early brain development and other functions in the human body. These fatty acids are susceptible to oxidation causing food spoilage. The aim of this study was to assess oxidative changes of lipids varying conditions of both the thermal process used to make flour alkaline snapshots and storage. To prepare instant meal was used Nixtamalization process considering the response surface methodology with three independent variables 1) concentration of calcium hydroxide (0.75, 1.5 and 2.25%), 2) dwell time of maize grains (8, 12 and 16 h) and 3) accelerated storage (13.5 and 27 days). Flours obtained lipids were extracted and analyzed them were iodine value, saponification, acid and peroxide value, as well as the use of spectroscopic techniques such as UV/Vis, FTIR and NMR to follow the process of lipids oxidation. This allowed us to define the best conditions of processing variables, where there are minimal changes in the unsaturated fatty acids.

2.0 INTRODUCCIÓN

La oxidación de los lípidos, o peroxidación, se refiere principalmente a la oxidación de los ácidos grasos insaturados (AGI) y es una de las causas principales de deterioro de los alimentos. Produce profundas preocupaciones económicas en la industria alimentaria, porque da lugar a la rancidez oxidativa que disminuye la calidad nutricional del alimento, y produce compuestos volátiles que imparten olores y sabores desagradables afectando su calidad sensorial. Generalmente se cree que la autooxidación, es decir, la reacción con el oxígeno molecular vía un mecanismo autocatalítico es la principal causa de las reacciones implicadas en el deterioro oxidativo de los lípidos, específicamente de los AGI cuyo mecanismo autocatalizado implica la participación de radicales libres. Una relativamente alta energía de activación, necesaria para la formación de los primeros radicales libres puede ser proporcionada por energía térmica, radioactividad natural, oxígeno singulete y otras fuentes (Kamal-Eldin y Pokorny, 2005) dando paso a la etapa de iniciación que generalmente es por la descomposición de un hidroperóxido, tal evento conduce a la etapa de propagación dando lugar a la formación de radicales peroxi (ROO^*), que a su vez extraen átomos de hidrógeno de los grupos α -metilénicos de otras moléculas de ácido insaturado (RH), para dar hidroperóxidos y nuevos radicales libres (R^*), los cuales reaccionan con el oxígeno y la secuencia de reacciones se repite. Los AGI, especialmente los ácidos di- y tri-insaturados, son más fácilmente convertidos en radicales libres que los ácidos grasos saturados ya que un átomo de hidrógeno es más fácilmente extraído de la molécula si un doble enlace está localizado sobre un átomo de carbono adyacente. Los hidroperóxidos son los productos primarios de la oxidación, su estructura depende del ácido graso original, así que se produce una mezcla de hidroperóxidos isómeros; y especialmente los de los ácidos grasos poliinsaturados, son muy inestables, producen nuevos radicales que alimentan la reacción, interaccionan con otras moléculas, se polimerizan e incrementan la

viscosidad, se oxidan, su ruptura genera compuestos secundarios y terciarios entre los que se encuentran aldehídos, cetonas, ésteres, oxoácidos, oxoésteres, compuestos aromáticos, epóxidos, ácido fórmico, ácidos grasos de bajo peso molecular, radicales alquilo y alcoilo. Los productos secundarios de la oxidación de los lípidos también son inestables; los aldehídos en particular son muy reactivos. La velocidad de oxidación se incrementa por varios factores como exposición al oxígeno, temperatura, irradiación, metales pesados y presencia de AGI; algunos factores inhibidores son los antioxidantes y las bajas temperaturas.

Por otro lado, el proceso térmico-alcalino (Nixtamalización) para la transformación de maíz a harina nixtamalizada, masa, tortilla y sus derivados, consiste en el cocimiento de los granos de maíz en una solución alcalina de hidróxido de calcio, un reposo posterior de hasta 16 h, seguido de dos a tres lavados del maíz cocido (nixtamal) y una molienda en molino de piedras de los granos de maíz para la producción de masa; posteriormente, ésta se moldea y se cuece para producir tortillas o es deshidratada, produciendo harina de maíz. En algunas áreas de México y Centro América la nixtamalización se lleva a cabo todavía a nivel del hogar. Es un proceso simple, sin embargo, lleva tiempo y requiere de mucho trabajo y esfuerzo físico, usando cantidades altas de energía, de agua y contaminando el ambiente. Sin embargo, en años recientes las harinas nixtamalizadas de maíz se producen industrialmente usando básicamente la misma tecnología descrita anteriormente. Cabe mencionar que las condiciones del proceso térmico-alcalino utilizado en la transformación del maíz varían en función de la región del país e incluso del tipo de producto que al industrial le interese obtener. Por ejemplo, se reporta el uso de hidróxido de calcio que va desde 0.5% hasta 3% (p/p), el tiempo de reposo que varía de 4 hasta 16 h, y el número e intensidad de los lavados. En función de la realización del proceso, este puede implicar condiciones propicias para dar inicio a la oxidación de los lípidos, (siendo los de mayor importancia por considerarse esenciales: el ácido linoleico (C18:2n-

6) y el ácido linolénico (C18:3n-3), además, en el caso de harinas nixtamalizadas, también su posterior almacenamiento. Las condiciones extremas del proceso térmico-alcálico pueden originar la oxidación de los lípidos.

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 ácidos grasos esenciales (ácido linoleico “omega 6” y ácido linolénico “omega 3”), que son de particular interés debido a que son indispensables para el desarrollo del sistema nervioso y el sentido de la vista del ser humano (Coronado y col., 2006).

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la variación de las condiciones del proceso térmico-alcálico y del tiempo de almacenamiento de harinas instantáneas de maíz nixtamalizadas sobre cambios oxidativos en los lípidos del maíz.

3.0 ANTECEDENTES

3.1 Generalidades del maíz

El maíz (*Zea mays*) es una planta monoica; sus inflorescencias masculinas y femeninas se encuentran en la misma planta. Si bien la planta es anual, su rápido crecimiento le permite alcanzar hasta los 2.5 m de altura, con un tallo erguido, rígido y sólido; algunas variedades silvestres alcanzan los 7 m de altura.

El cultivo de maíz tuvo su origen, con toda probabilidad, en América Central, especialmente en México, de donde se difundió hacia el norte hasta Canadá y hacia el sur hasta Argentina. La evidencia más antigua de la existencia del maíz, de unos 7000 años de antigüedad, ha sido encontrada por arqueólogos en el valle de Tehuacán (México) pero es posible que hubiese otros centros secundarios de origen en América (FAO, 1993). En la Figura 1 se muestra la imagen de adoración del maíz por la cultura Azteca.



Figura 1. *Cinteotl*, Dios Azteca del maíz.

3.2 Clasificación del maíz

1. *Zea mays indurata* o maíz cristalino: De endospermo duro y gránulos de almidón compacto. Es conocido en otros países como maíz *flint*. Este maíz se usa en la alimentación y como materia prima para la obtención de alcohol y almidón.
2. *Zea mays amylacea* o maíz amiláceo: De endospermo blando. Sus gránulos de almidón no son compactos. Este tipo de maíz se cultiva a pequeña escala.
3. *Zea mays everta* o maíz reventador o palomero: De granos pequeños. Su endospermo es muy duro y revienta al tostarse, formando palomitas o rosetas.
4. *Zea mays saccharata* a maíz dulce: Su endospermo tiene alrededor de 11% de azúcar. Al secarse toma un aspecto arrugado. Adecuado para consumo humano.
5. *Zea mays tunicata* o maíz tunicado: El grano puede tener diferentes tipos de endospermo. Se identifica por la presencia de glumas bien desarrolladas que cubren al grano.
6. *Zea mays cerea* o maíz céreo: Se distingue por su endospermo ceroso. Se utiliza en la elaboración de budines, gomas y adhesivos. El almidón está compuesto solo por amilopectina, en lugar de una mezcla de ésta con amilosa.
7. *Zea mays japonica*: Se clasifica como planta hortícola. Sus hojas son rayadas, las cuales tienen aplicaciones de tipo ornamental.
8. *Zea mays gracillina*: Es una planta hortícola enana.

3.3 Estructura del grano de maíz

El grano de maíz se divide fundamentalmente en cuatro partes, tal como se observa en la Figura 2: 1) pericarpio, 2) aleurona, 3) endospermo y 4) germen; en términos de porcentaje en relación al peso del grano el pericarpio representa 3-5%, aleurona 2-3%, endospermo 80-85% y el germen 10-12% (Yañez, 2005).

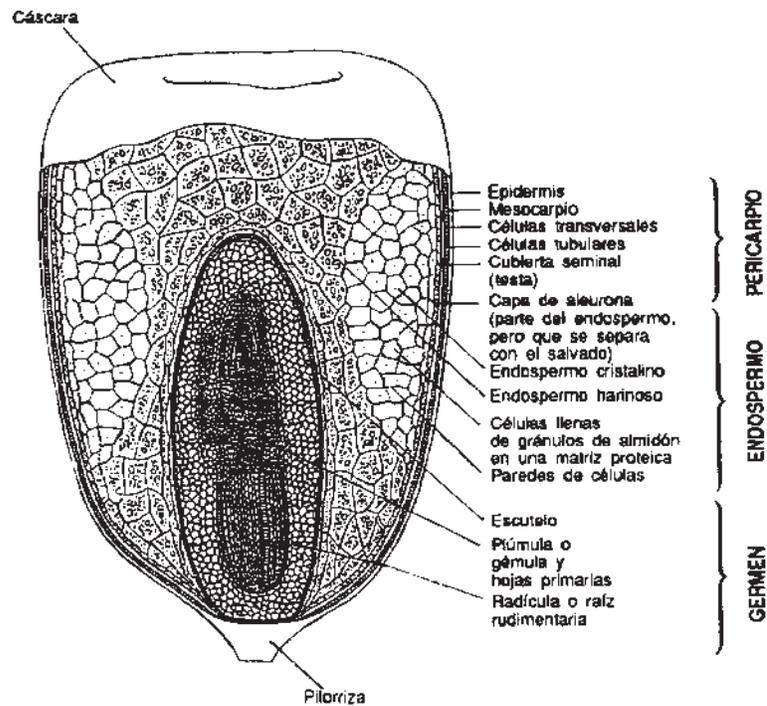


Figura 2. Estructura del grano de maíz.

3.4 Composición química del grano de maíz

Los principales componentes químicos del maíz son: almidón, proteínas y lípidos, conteniendo también cantidades menores de fibra cruda, azúcares, minerales y otras sustancias orgánicas, tales como vitaminas (Watson y Ramstad, 1987).

3.4.1 Almidón

Desde el punto de vista químico, el almidón es una mezcla de dos polisacáridos similares, la amilosa y la amilopectina; En el maíz puede estar compuesto de un 69-74% de amilopectina y de un 26-31% de amilosa (Badui, 2006). El almidón se ubica principalmente en el endospermo de los granos de maíz y llega a representar entre 72 a 76% del grano según lo reportado por Rodríguez-García y col., (2008).

3.4.2 Proteínas

Después del almidón, las proteínas constituyen el siguiente componente químico del grano por orden de importancia. En las variedades comunes, el contenido de proteínas puede oscilar entre el 8 y el 11% del peso del grano, y en su mayor parte se encuentran en el endospermo (FAO, 1993). (Rodríguez-García y col., 2008) reportaron datos similares en el contenido de proteína en granos de maíz para elaboración de tortillas y harinas nixtamalizadas, encontrándose entre 7.9 y 11%.

3.4.3 Aceite y ácidos grasos

El aceite del grano de maíz está fundamentalmente en el germen y viene determinado genéticamente, con valores que van del 3 al 18% (FAO, 1993). Del contenido total de lípidos del grano, cerca del 85% corresponde a ácidos grasos insaturados, el germen del maíz está formado del 33% de lípidos, y su

composición en términos de ácidos grasos libres en base a porcentaje en peso es: ácido linoleico 50-60%, ácido oleico 25-35%, ácido palmítico 7-11%, ácido esteárico 3-4%, ácido mirístico 1-2%, otros (> 18 átomos de carbono) 1-2% (Pflugfelder y col., 1988).

Otros autores (Rodríguez-García y col., 2008) reportan datos similares de contenido de ácidos grasos en diferentes variedades de maíz para elaboración de tortilla: ácido linoleico 43-48%, ácido oleico 34-40%, ácido palmítico 11-15%, ácido esteárico 2-3% y ácido linolénico <1%.

3.4.4 Fibra

Diferentes polisacáridos juegan un papel importante en la estructura del grano de maíz. Estos pueden clasificarse como sustancias pécticas, hemicelulosa y celulosa. Desde el punto de vista de ingestión humana, los componentes más importantes de la pared celular son: el pericarpio y el pedicelo, los cuales son fuentes importantes de fibra dietética (Gaytan-Martínez, 2004). La fibra dietaria total incluye dos porciones diferentes, fibra insoluble y fibra soluble. La fibra insoluble incluye celulosa, hemicelulosa y lignina. La fibra soluble de forma natural incluye pectinas, gomas y mucílagos.

3.4.5 Vitaminas

El grano de maíz contiene dos vitaminas liposolubles, la provitamina A o carotenoide y la vitamina E. La mayoría de los carotenoides se encuentran en el endospermo duro del grano y únicamente pequeñas cantidades en el germen, mientras que la vitamina E se halla principalmente en el germen. Las vitaminas hidrosolubles como tiamina, riboflavina y niacina se encuentran sobre todo en la capa de aleurona del grano de maíz, y en menor medida en el germen y el endospermo (FAO, 1993).

3.4.6 Minerales

La concentración de cenizas en el grano de maíz es aproximadamente del 1.3%. El germen es relativamente rico en minerales, con un valor medio del 11%, frente a menos del 1% en el endospermo. El germen proporciona cerca del 78% de todos los minerales del grano. El mineral que más abunda es el fósforo y el maíz tiene un bajo contenido de calcio (FAO, 1993).

3.5 Nixtamalización

Uno de los principales usos del maíz en México es en el proceso de nixtamalización también conocido como tratamiento térmico-alkalino, que da como producto central la masa, mediante la cual se preparan una variedad de productos como harinas nixtamalizadas y principalmente las tradicionales tortillas. El proceso involucra una parte de maíz entero y aproximadamente dos partes de solución al 1% de cal. La mezcla se calienta a 80°C durante 20 a 45 min con alguna agitación dejándola reposar de 8 a 14 h. El agua de remojo (nejayote) se desecha y el maíz se lava 2 o 3 veces con agua limpia, removiendo la cáscara y eliminando el exceso de cal e impurezas que el grano pudiera tener. Al maíz cocido se le llama “nixtamal” y de ahí el nombre de “nixtamalización”. El nixtamal es molido para obtener la masa y a partir de ella obtener tortillas, botanas y sus derivados.

3.5.1 Cambios en los lípidos del maíz inducidos por el proceso de nixtamalización

La conversión del maíz en masa y luego en tortilla involucra un proceso en el cual además del tipo de maíz, participan la adición de agua, de hidróxido de calcio (cal), tratamientos térmicos, periodos de remojo y la acción de la molienda.

Estos factores inducen cambios en la estructura del grano, en su composición química, en sus propiedades de funcionalidad y en valor nutritivo (Rodríguez García y col., 2008).

Este proceso trae como consecuencia la pérdida de componentes químicos del grano, las cuales se incrementan con el tiempo de cocimiento, altas concentraciones de cal y durante el reposo (García-Méndez, 2004).

Se sabe que los lípidos del maíz sufren cambios en contenido durante el proceso de nixtamalización, (Pflugfelder y col., 1988) informaron pérdidas de maíz a nixtamal, que variaron entre 5 y 14%. (Serna-Saldívar y col., 1987 citados por Rodríguez García y col., 2008) informaron pérdidas del 10.8% en extracto etéreo de maíz a tortilla. Por otro lado Martínez-Flores y col. (2002) reportaron pérdidas de un 10.3% de los lípidos del maíz durante el proceso de nixtamalización.

3.6 Lípidos

La palabra lípido proviene del griego *lipos*, que significa grasa; originalmente se definía como “una sustancia insoluble en agua, pero soluble en disolventes orgánicos como cloroformo, hexano y éter de petróleo”; con esta consideración de solubilidad, existen muchos otros compuestos, como terpenos, vitaminas y carotenoides que también están incluidos. Sin embargo, algunos autores consideran como lípidos sólo a aquellas moléculas que son derivados reales o potenciales de los ácidos grasos y sustancias relacionadas; según esta definición, los aceites y las grasas se consideran por antonomasia como lípidos (Badui, 2006).

Los lípidos son grupos de compuestos constituidos por carbono, hidrógeno y oxígeno que integran cadenas hidrocarbonadas alifáticas o aromáticas, aunque también contienen fósforo y nitrógeno. Desempeñan muchas funciones en los tejidos, además de que son la fuente energética más importante, ya que cada gramo genera 9 Kcal (38.2 kJ) porque en su estructura contienen más átomos de carbono que las proteínas y los hidratos de carbono que producen 4 Kcal/g (17 kJ/g) cada uno (Badui, 2006).

Las grasas y los aceites son los principales lípidos que se encuentran en los alimentos, y contribuyen a la textura y, en general, a las propiedades sensoriales y de nutrición; no hay una distinción entre ambos grupos, aun cuando algunos consideran que las grasas son de origen animal y los aceites de origen vegetal, o bien, las grasas son sólidas a “temperatura ambiente”, mientras que los aceites son líquidos.

3.6.1 Clasificación de los lípidos

El número de sustancias consideradas como lípidos es muy grande y la manera de clasificarlas resulta difícil; existen diversos métodos para hacerlo, cada uno con sus propias ventajas y desventajas, pero todos se basan en las propiedades físicas o químicas que los caracterizan (Badui, 2006).

Una manera de clasificarlos es dividirlos en tres grandes grupos, en función de su estructura química:

1. Lípidos simples: Ésteres de ácidos grasos y alcoholes.
 - a. Grasas y aceites.
 - b. Ceras.
2. Lípidos compuestos: Lípidos simples conjugados con moléculas no lipídicas.
 - a. Fosfoglicéridos.

- b. Glucolípidos.
 - c. Lipoproteínas.
3. Lípidos asociados.
- a. Ácidos grasos (derivados de los lípidos simples).
 - b. Pigmentos.
 - c. Vitaminas liposolubles.
 - d. Esteroles.
 - e. Hidrocarburos.

3.6.2 Ácidos grasos.

Originalmente, estos ácidos se definieron como ácidos monocarboxílicos de cadena alifática con número par de átomos de carbono, y que para su estudio, se han dividido en dos grandes grupos que son los saturados y los insaturados.

En forma pura, todas las grasas y los aceites están constituidos exclusivamente por triacilglicéridos (o triglicéridos), los que a su vez son ésteres de ácidos grasos con glicerol; por consiguiente, dichos ácidos representan un gran porcentaje de la composición de los triglicéridos y en consecuencia de las grasas y los aceites.

3.6.2.1 Ácidos grasos saturados

Varían de 4 a 26 átomos de carbono (C) y su temperatura o punto de fusión aumenta con el peso molecular o largo de la cadena; así, los de C4 a C8 son líquidos a 25°C, mientras que los de C10 en adelante son sólidos (Tabla 1), y su solubilidad en agua es inversamente proporcional al peso molecular. Su nomenclatura se basa en el empleo de los nombres comunes, o bien añadiendo la terminación “oico” a la raíz griega que indica el tamaño de la cadena de átomos de carbono. Su numeración generalmente comienza a partir del grupo carboxilo cuyo carbono corresponde al número 1.

Tabla 1. Ácidos grasos saturados.

Nombre trivial	Nombre científico	Fórmula	Punto de fusión (°C)
Butírico	Butanoico	CH ₃ (CH ₂) ₂ COOH	-5.9
Caproico	Hexanoico	CH ₃ (CH ₂) ₄ COOH	-3.4
Caprílico	Octanoico	CH ₃ (CH ₂) ₆ COOH	16.7
Cáprico	Decanoico	CH ₃ (CH ₂) ₈ COOH	31.6
Láurico*	Dodecanoico	CH ₃ (CH ₂) ₁₀ COOH	44.2
Mirístico*	Tetradecanoico	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ COOH	54.4
Palmítico*	Hexadecanoico	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ COOH	63.0
Estéarico*	Octadecanoico	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COOH	69.4
Araquídico	Eicosanoico	CH ₃ (CH ₂) ₁₈ COOH	76.0
Behénico	Docosanoico	CH ₃ (CH ₂) ₂₀ COOH	79.9
Lignocérico	Tetracosanoico	CH ₃ (CH ₂) ₂₂ COOH	84.2
Cerótico	Hexacosanoico	CH ₃ (CH ₂) ₂₄ COOH	87.7

*Ácidos grasos saturados más comunes en alimentos.

3.6.2.2 Ácidos grasos insaturados

Debido a sus insaturaciones, estos compuestos tienen una gran reactividad química, ya que son propensos a la saturación y a transformaciones oxidativas y de isomerización. Son muy abundantes en los aceites vegetales y marinos; su temperatura de fusión disminuye con el aumento de las dobles ligaduras, y siempre es menor que la de los saturados para una misma longitud de cadena (Badui, 2006). Al igual que en el caso de los ácidos grasos saturados, los ácidos grasos insaturados pueden denominarse partiendo del nombre de los hidrocarburos insaturados de procedencia. Para indicar que se trata de ácidos grasos no saturados la terminación *anoico* se sustituye por *enoico*, precedida, en su caso de los términos *di*, *tri*, etc., que indica el número de dobles enlaces que contiene (Fennema, 2000).

Los de una insaturación se llaman monoenoicos o monoinsaturados, y a los de más de una se les denomina polienoicos o poliinsaturados; en el primer caso, la mayoría presenta la doble ligadura entre los carbonos 9 y 10. En forma natural, los poliinsaturados tienen sus dobles ligaduras como no conjugadas, es decir, están separadas por un grupo metileno, como ocurre con los ácidos linoleico, linolénico y araquidónico; lo contrario a esta distribución es la conjugación, en la que no existe dicho metileno de por medio.

-CH=CH-CH=CH- sistema de dobles ligaduras conjugadas.

-CH=CH-CH₂-CH=CH- sistema de dobles ligaduras no conjugadas.

Generalmente, el conteo de los átomos de carbono se inicia por el carboxilo; sin embargo, por razones de actividad biológica, los poliinsaturados se numeran de acuerdo con la posición del primer doble enlace con respecto al grupo metilo y se dividen en dos grupos: los omega-6, ω_6 (n-6), que lo tienen en el sexto carbono, como el ácido linoleico, y los ω_3 (n-3), con su primer doble enlace en el tercer carbono, como el ácido linolénico. El símbolo ω precede al número del carbono del doble enlace más cercano al grupo metilo final. Así, el oleico, que es el *cis*-9-octadecenoico, tiene un doble enlace en el carbono 9 a partir del metilo, y puede nombrarse como C18:1 ω_9 , que significa que es un ácido de 18 átomos de carbono, con una sola insaturación, la cual está a 9 carbonos del grupo metilo (Badui, 2006).

Tabla 2. Ácidos grasos insaturados.

Nombre trivial	Nombre científico	Fórmula	Punto de fusión (°C)
Palmitoleico	Hexadeca-9-enoico	C ₁₅ H ₂₉ COOH	-0.5
Oleico*	Octadeca-9-enoico	C ₁₇ H ₃₃ COOH	13
Linoleico*	Octadeca-9:12-dienoico	C ₁₇ H ₃₁ COOH	-5.0
Linolénico*	Octadeca-9:12:15-trienoico	C ₁₇ H ₂₉ COOH	-11.0
Araquidónico	Eicosa-5:8:11:14-tetraenoico	C ₁₉ H ₃₁ COOH	-49.5
Vaccénico	<i>trans</i> -Octadeca-11-enoico	C ₁₇ H ₃₃ COOH	40.0
Gadoleico	Eicosa-11-enoico	C ₁₉ H ₃₇ COOH	23.5
Erúcido	Docosa-13-enoico	C ₂₁ H ₃₉ COOH	38.0

*Ácidos grasos insaturados más comunes en alimentos.

3.6.3 Ácidos grasos esenciales

Los ácidos grasos esenciales (AGE) son clasificados estructuralmente por el número de átomos de carbono, dobles enlaces y proximidad del primer doble enlace al grupo metilo (omega) terminal de la cadena acilo del ácido graso.

De acuerdo a la posición del primer doble enlace de la cadena, denominado *omega*, contando a partir del extremo metilo, existen tres familias de ácidos grasos poliinsaturados ω -3, ω -6, ω -9. Algunos de estos ácidos grasos se clasifican como AGE porque no pueden ser sintetizados por el cuerpo humano y además son necesarios para funciones vitales, éstos son los de las familias ω -6 y ω -3, (Castro, 2002). Así, estos dos tipos de ácidos grasos, son esenciales para el cuerpo humano, porque no pueden ser formados *de novo* y necesitan ser ingeridos directamente de la dieta (Kitajka y col., 2004).

Los ácidos grasos de la familia n-3 tienen un doble enlace en el tercer carbono; mientras que los de la familia n-6 contienen un doble enlace en el sexto carbono.

La estructura química de los ácidos grasos es comúnmente abreviada enlistando el número de átomos de carbono, el número de dobles enlaces, y la localización del primer doble enlace a partir del grupo metilo terminal. Por ejemplo, el ácido docosahexaenóico (DHA) es representado como (22:6 n-3), indicando que tiene una longitud de cadena de 22 átomos de carbono con 6 dobles enlaces; el primer enlace insaturado insertado en el carbono 3 (SanGiovanni y Chew, 2005).

El ácido linoleico (18:2 n-6, Figura 3) es el precursor de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) omega-6, y el ácido α -linolénico (18:3 n-3, Figura 4) es el precursor de los PUFA omega-3. Estos ácidos grasos, y los que son formados a partir de ellos, son importantes constituyentes de las membranas biológicas y contribuyen a mantener la integridad estructural y funcional de las células y de los componentes celulares (Kitajka y col., 2004).

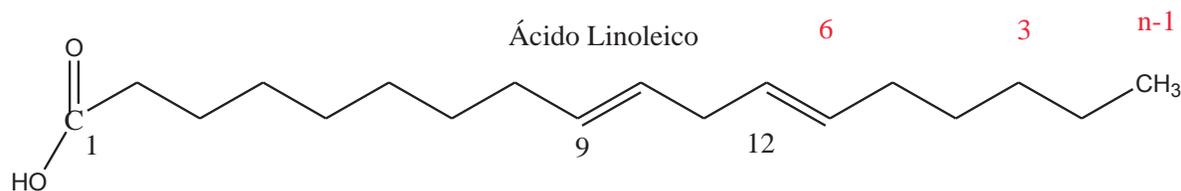


Figura 3. Estructura química del Ácido Linoleico, omega-6.

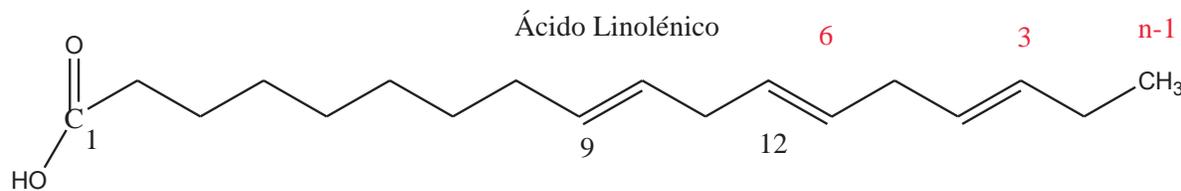


Figura 4. Estructura química del Ácido Linolénico, omega-3.

Como se mencionó, los ácidos grasos esenciales linoleico y linolénico son precursores de otros ácidos grasos esenciales, por lo tanto sufren una serie de reacciones de desaturación y elongación para dar origen a estos ácidos grasos de cadena más larga. El producto mayoritario de la ruta de los n-6 es el ácido araquidónico (ARA) (20:4 n-6) y los productos mayoritarios de la ruta n-3 son el ácido eicosapentaenóico (EPA) (20:5 n-3) y el ácido docosahexaenóico (DHA) (22:6 n-3) (Parker-Barnes y col., 2000).

3.6.3.1 Importancia y fuentes de los ácidos grasos esenciales

Los ácidos grasos n-6 están abundantemente presentes en aceites vegetales como el de soya, maíz, girasol y cártamo, mientras que los aceites de linaza y canola son ricos en ácidos grasos n-3. El EPA y el DHA pertenecen a la serie de los ácidos grasos n-3 y una fuente abundante de ellos son los pescados de agua fría y los mariscos, principalmente el salmón, la trucha y el arenque (Russo, 2009).

El ARA es el principal precursor de las prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos, que tienen una participación fundamental en la respuesta inmunológica. Mientras que el DHA y el EPA, participan en el crecimiento y desarrollo del cerebro, la retina, y son precursores de prostaglandinas de la serie-3 que inhiben la agregación plaquetaria (Cetin y col., 2009). Los tejidos neuronales como el cerebro, la retina y las membranas sinápticas particularmente contienen cantidades elevadas de DHA. Esto implica la acción de los ácidos grasos de este tipo en las funciones de sinapsis, y ya que los ácidos DHA cubren continuamente las neuronas, una alteración en la composición de los lípidos de la membrana puede alterar las funciones de las mismas por falta de fluidez (Coronado y col., 2006).

Los DHA también pueden cambiar la traducción de la señal fotorreceptora en el proceso visual, una de las más importantes. Lo anterior ocurre porque la composición lipídica de la membrana correspondiente afecta la habilidad de los fotones para transformar la rodopsina a su estado activo (Coronado y col., 2006).

Sobre el sistema cardiovascular, los ácidos grasos n-3 tienen efectos antitrombóticos y antiarrítmicos, aumentan el tiempo de sangrado evitando la adherencia de plaquetas en las arterias, previene la aterosclerosis al reducir las concentraciones de colesterol en plasma, son útiles en pacientes hipertensos, ya que contribuyen a bajar la presión sanguínea y reducen la concentración de triglicéridos en plasma, disminuyen el colesterol total (Castro, 2002).

3.7 Oxidación de los lípidos

La oxidación de los lípidos se refiere a la oxidación de ácidos grasos insaturados, siendo una de las causas de deterioro de los alimentos. Este proceso es de preocupación en la industria alimentaria, ya que da lugar a la rancidez oxidativa disminuyendo la calidad nutricional del alimento, además de generar compuestos volátiles que imparten olores y sabores desagradables afectando su calidad sensorial.

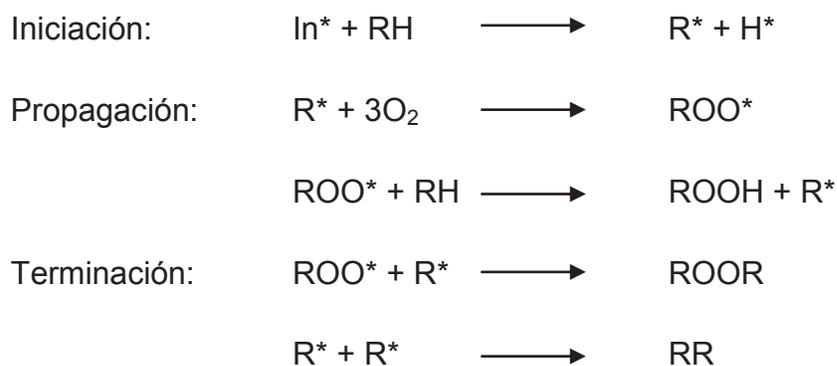
La velocidad de oxidación se incrementa por varios factores como exposición al oxígeno, temperatura, irradiación, metales pesados y presencia de AGI, por lo que el proceso de nixtamalización para la transformación de maíz a harina nixtamalizada, masa, tortillas y sus derivados, puede implicar condiciones propicias para dar inicio a la oxidación de los lípidos contenidos en el maíz, siendo los de mayor importancia por considerarse esenciales: el ácido linoleico y el ácido linolénico.

Las reacciones de oxidación de los lípidos consisten de las siguientes etapas: i) formación de radicales libres lipídicos, iniciándose el proceso de oxidación; ii) formación de hidroperóxidos como productos de reacción primarios; iii) formación de productos secundarios de la oxidación; y iv) formación de productos terciarios de la oxidación. Cabe mencionar que el mecanismo de reacción es muy complejo. (Kamal-Eldin y Pokorny, 2005).

En una interpretación desde un punto de vista más general, el mecanismo completo de la oxidación de los lípidos involucra tres etapas:

- (1) Iniciación: formación de radicales libres.
- (2) Propagación: reacción en cadena de los radicales libres.
- (3) Terminación: formación de productos no radicales.

De forma simple, el mecanismo se puede resumir de la siguiente manera:



(R: alquilo lipídico).

En el paso de iniciación, un ácido graso radical conocido como radical alquilo es formado por sustracción de un átomo de hidrógeno de un ácido graso en presencia de un iniciador (In^{*}). Una vez que se forma el radical alquilo, el radical libre se puede deslocalizar sobre un sistema de doble enlace dando lugar en el caso de los ácidos grasos poliinsaturados, a la formación de un sistema de dobles

enlaces conjugados. La facilidad de formación de los radicales alquilo en los ácidos grasos aumenta con el incremento de la insaturación (Chaiyasit y col., 2007). El paso de propagación involucra la adición del oxígeno al radical alquilo dando lugar a la formación del radical peroxilo (ROO^*), el cual tiene una energía mayor que el radical alquilo. El radical peroxilo puede extraer un átomo de hidrógeno de otra molécula de ácido graso insaturado y producir un hidroperóxido (ROOH) y un nuevo radical alquilo. La interacción de dos radicales libres para formar especies no radicales terminará el proceso (Chaiyasit y col., 2007). El calor, la catálisis por metales y la luz ultravioleta y visible pueden acelerar la formación de radicales libres de los ácidos grasos. La energía requerida para remover un átomo de hidrógeno de un ácido graso es dependiente de la posición del átomo de hidrógeno en la molécula. El átomo de hidrógeno adyacente al doble enlace, especialmente el hidrógeno unido al carbono entre dos dobles enlaces, es removido fácilmente. El hidrógeno en el carbono 11 del ácido linoleico es removido a 50 kcal/mol (Choe y Min, 2006).

3.7.1 Productos de la oxidación de los lípidos

Los productos primarios de la oxidación de los lípidos, los hidroperóxidos, son relativamente estables a temperatura ambiente y en ausencia de metales. Sin embargo, en presencia de metales o a altas temperaturas, estos son rápidamente descompuestos a radicales alcoxi y después forman aldehídos, cetonas, ácidos, ésteres, alcoholes e hidrocarburos de cadena corta (Choe y Min, 2006), (Kamal-Eldin y Pokorny, 2005).

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).

3.7.2 Pérdida de lípidos por oxidación

Los aceites vegetales como el aceite de maíz no son productos estables y los factores responsables de su baja estabilidad son la luz, oxígeno, temperatura, grado de insaturación y la presencia o ausencia de antioxidantes (Baran y col., 2004).

Los lípidos del maíz nixtamalizado han sido poco investigados y algunos de los reportes se limitan a pérdidas de esos compuestos por efecto del procesamiento (Plugfelder y col., 1988; Martínez-Flores y col., 2002). Otros estudios fueron realizados para observar cambios en lípidos sometidos al tratamiento térmico-alcalino del maíz, como el de Vidal-Quintanar y col. (2003), en el que 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 en los lípidos, no obstante, 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 que ocurren en los lípidos del maíz al variar las condiciones del cocimiento térmico-alcalino del maíz. La investigación sólo contempló la etapa del cocimiento del maíz sin reposo, variándose la concentración del hidróxido de calcio (0-3%). En este estudio se detectaron modificaciones de los lípidos, no obstante la medición de los cambios se hizo indirectamente, evaluándose los índices de yodo, de saponificación, de acidez y de peróxidos.

3.8 Harinas de maíz nixtamalizado

La industria de harina de maíz nixtamalizado en México data de 1949 y ha ganado popularidad entre la población urbana porque elimina las labores intensivas y tediosas del proceso tradicional (Flores-Farías y col., 2002). Recientemente en México, se consumen 800 millones de tortillas por día, de las cuales el 60% de ellas son hechas a partir de harinas instantáneas (Ayala-Rodríguez y col., 2008).

La producción industrial de harina de maíz nixtamalizado está basada en el método tradicional de nixtamalización, sistematizado a una producción a gran escala. El proceso incluye básicamente las etapas de recepción, selección, limpieza, almacenamiento del grano, cocimiento alcalino, molienda del grano cocido y la obtención de la masa que es deshidratada, cernida, clasificada y envasada (Rooney y Suhendro, 1999, citados por Flores-Farías, 2002). Y donde las principales modificaciones hechas sobre el método tradicional, incluyen la reducción en los tiempos cocción alcalina y de reposo del grano cocido (Flores-Farías, 2000).

La ventaja práctica de utilizar harinas de maíz nixtamalizado es que únicamente se debe rehidratar con agua para obtener la masa, la cual es moldeada y cocida para obtener las tortillas. Esto reduce considerablemente el costo de mano de obra, la inversión para equipo, los problemas asociados con la adquisición del grano de maíz y la generación de desechos durante la elaboración del nixtamal. Por esto, la producción de harinas de maíz nixtamalizado se ha incrementado significativamente en los últimos años. Las desventajas del uso de harinas de maíz nixtamalizado son su mayor precio, el sabor y la textura de las tortillas, comparadas con la de masa, por ello los productores de harinas de maíz intentan optimizar los procesos con mejoras en la calidad (Bello-Pérez y col., 2002).

3.9 Almacenamiento de tipo acelerado

La evaluación ideal de vida útil de los alimentos es a temperatura ambiente, no obstante, la prueba es costosa y consume tiempo, especialmente para productos con bajo contenido de humedad donde es de esperarse que tengan un tiempo de vida útil de varios meses. La posibilidad de acelerar las reacciones de degradación que ocurren durante el almacenamiento, reduciendo considerablemente la duración de las pruebas ha sido demostrada por algunos autores en varios alimentos de baja humedad y donde la temperatura es el factor más común utilizado para pruebas de almacenamiento acelerado (Verardo y col., 2009).

En cuanto a la oxidación de los lípidos, este es un proceso que se produce muy lentamente a temperatura ambiente, por lo tanto, se deben emplear métodos acelerados para estimar la estabilidad oxidativa o el periodo de inducción de las reacciones de autooxidación en un periodo de tiempo relativamente corto (Gómez y col., 2004). Varios parámetros físicos o químicos pueden ser usados para acelerar estas reacciones, y consecuentemente el desarrollo de la rancidez; dichos parámetros son la temperatura, catálisis por metales, aumento en la presión parcial de oxígeno, etc. Sin embargo, como la velocidad de reacción aumenta exponencialmente con la temperatura, este parámetro es el más utilizado para acelerar el proceso de oxidación (Gómez y col., 2004). Cabe destacar que ninguno de estos parámetros es controlado en la producción y comercialización de las harinas instantáneas (Vidal-Quintanar y col., 2003).

4.0 JUSTIFICACIÓN

No se encuentran en la literatura resultados de estudios específicos sobre los efectos de la variación de las condiciones del proceso térmico-alcalino y del tiempo de almacenamiento de harinas instantáneas nixtamalizadas en la caracterización de la oxidación de lípidos que van en detrimento del valor nutricional de los AGE presentes en dichas harinas.

Debido al alto consumo de maíz nixtamalizado en México, sobre todo en las comunidades rurales donde llega a representar la principal fuente de la ingesta diaria de calorías, y tomando en cuenta que los ácidos grasos esenciales, particularmente el linoleico presente en el grano de maíz, es esencial para el ser humano, las tortillas de maíz pueden servir como un vehículo para el abastecimiento de dichos ácidos grasos esenciales.

Por otro lado, una optimización de las variables de proceso (concentración de hidróxido de calcio y tiempo de reposo), ayudaría a proponer en el sector industrial las condiciones ideales de proceso en las que ocurran los menores cambios en la composición y estructura de los lípidos del maíz nixtamalizado.

5.0 HIPÓTESIS

Ocurrirán cambios oxidativos en los lípidos del maíz y sufrirán alteraciones significativas en su estructura por efecto de la variación de las condiciones del proceso térmico-alcalino en harinas instantáneas almacenadas.

6.0 OBJETIVOS

6.1 General

Evaluar el efecto de la variación de las condiciones del proceso térmico-alkalino y del tiempo de almacenamiento de harinas instantáneas de maíz sobre cambios oxidativos en lípidos del maíz.

6.2 Específicos

- Analizar la composición química y del contenido de lípidos del maíz sin procesar.
- Cocimiento del maíz variando las condiciones del proceso térmico-alkalino (concentración de hidróxido de calcio y tiempo de reposo).
- Almacenar las harinas instantáneas en condiciones de temperatura.
- Caracterización oxidativa de los lípidos del maíz contenidos en las harinas instantáneas almacenadas.

7.0 ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

7.1 Materia prima

Se utilizó maíz blanco destinado comúnmente para la elaboración de tortillas y harinas nixtamalizadas. Fue maíz de endospermo semi-cristalino cosechado en el municipio de La Barca, Jalisco y fue adquirido en el mercado de abastos de la ciudad de Morelia, Michoacán.

7.1.1 Limpieza del grano

A los granos de maíz se le separaron las diferentes impurezas que contenían debido a los diferentes procesos de manejo a los que estuvo sometido el maíz desde su cosecha.

7.2 Propiedades físicas del grano

7.2.1 Tamaño del grano

El tamaño de los granos de maíz se determinó seleccionando al azar 20 granos. Con la ayuda de un Vernier se midieron los tres ejes principales del grano: xy, yz, xz.

7.2.2 Peso Hectolítrico

El peso Hectolítrico (PH) se definió en función del peso de los granos de maíz contenidos en un volumen de 500 ml; la masa obtenida de los granos se reportó en Kg/hl de acuerdo a la Norma Mexicana (NMX-FF-034/1-SCFI-2002).

7.2.3 Índice de flotación

En una solución de nitrato de sodio al 41% con una densidad de 1.250 g/ml, se vertieron 100 granos de maíz limpios (libres de impurezas), los cuales se agitaron durante 30 seg con un agitador de vidrio para separarlos. Se dejaron

reposar por 1 min y después de transcurrido ese tiempo se contó el número de granos que flotaron en la solución. Se empleó un volumen de 300 ml de la solución, contenidos en un vaso de 600 ml (NMX-FF-034/1-SCFI-2002).

7.2.4 Dureza del grano

Se seleccionaron al azar 10 granos de maíz, la parte más dura del grano, que se observa en la Figura 5, se comprimió hasta su fractura con una sonda plana de 5 mm de diámetro, conectada a un texturómetro Texture Analyzer, modelo TA-XT2t. La prueba se realizó a una velocidad de 0.5 mm/s y a una distancia de penetración de 2.0 mm. La prueba se realizó por triplicado.

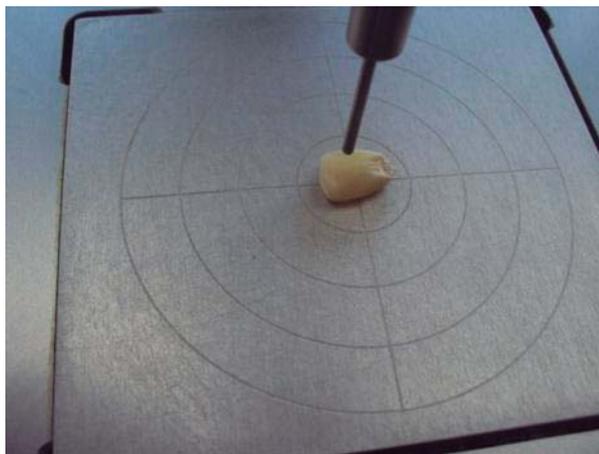


Figura 5. Dureza del grano de maíz.

7.3 Composición química del grano

Se determinó el contenido de proteína, lípidos, humedad y cenizas de acuerdo a los métodos recomendados por la AACC (2000). El contenido de fibra dietética se determinó siguiendo el método de Prosky y col. (1988).

7.4 Determinación del tiempo óptimo de cocción del grano de maíz en función del desprendimiento de su pericarpio

Es posible predecir el tiempo de nixtamalización adecuado para un tipo de maíz sobre la base de su dureza; lo anterior se realiza mediante la técnica de índice de flotación (IF). Por lo tanto se estableció el tiempo óptimo de cocción para este tipo de maíz de acuerdo al resultado obtenido en su Índice de flotación (7.2.3), tomando en cuenta lo que dicta la Norma Mexicana (NMX-FF-034/1-SCFI-2002).

Tabla 3. Tiempos de cocción del maíz relacionados con el Índice de flotación.

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

Fuente: NMX-FF-034/1-SCFI-2002.

7.5 Elaboración de las harinas de maíz nixtamalizadas

Las harinas de maíz nixtamalizadas fueron elaboradas en el CINVESTAV-IPN, unidad Querétaro de acuerdo con las descripciones realizadas en las secciones 7.5.1 a la 7.5.4; una vez elaboradas, las harinas fueron empacadas en bolsas al alto vacío y almacenadas en refrigeración hasta su posterior análisis.

7.5.1 Nixtamalización (Cocción térmico-alkalina y reposo)

El maíz se coció en una solución alcalina en una relación 1:2 (maíz/agua), a una temperatura de 94 °C y un tiempo de 40 min. Las diferentes concentraciones de hidróxido de calcio y los tiempos de reposo se efectuaron de acuerdo a lo establecido en el diseño experimental, mencionado líneas abajo. Para llevar a cabo el lavado, molienda y secado del nixtamal, se tomó en cuenta el método tradicional utilizado en la industria nixtamalera.

7.5.2 Lavado del nixtamal

El nixtamal se depositó en una bandeja tipo colador en la cual se dejó caer un chorro de agua corriente por un tiempo de 5 min, los granos de maíz fueron removidos manualmente, para de esta forma, eliminar los residuos de nejayote. Una vez concluido el lavado, el nixtamal fue depositado en bandejas de plástico para ser sometido al proceso de molienda.

7.5.3 Molienda del nixtamal

La molienda del nixtamal se realizó en un molino de piedras marca FUMASA (Fig. 6), el nixtamal se hizo pasar a través de un tornillo sin fin hacia la parte central de las piedras, que al girar de forma opuesta una a la otra llevan a cabo la molienda del grano, la masa obtenida de los granos molidos, se va depositando en un contenedor que se encuentra en la parte inferior del molino.

Caracterización de la oxidación de lípidos extraídos de harinas de maíz instantáneas nixtamalizadas sometidas a condiciones de almacenamiento. TELLO-SANTILLÁN, 2011.



Figura 6. Molino de piedras.

7.5.4 Secado del nixtamal

Una vez obtenida la masa, ésta se depositó en bandejas de plástico donde de forma manual se dividió en fragmentos de menor tamaño para permitir una reducción en la humedad hasta obtener una masa de baja humedad al tacto. Esta masa fue llevada a un secador tipo “flash dryer” (Fig. 7), en donde se introdujo a un dispositivo de alimentación y un flujo de gases calientes hace recorrer la masa a través del sistema de tubos de secado, en donde después de un tiempo de 3 a 4 seg y una temperatura de 260 °C, se obtuvo la harina de maíz de polvo fino y baja humedad (Fig. 8). La harina se dejó atemperar a temperatura ambiente para ser empacada al vacío y almacenada en refrigeración.

Caracterización de la oxidación de lípidos extraídos de harinas de maíz instantáneas nixtamalizadas sometidas a condiciones de almacenamiento. TELLO-SANTILLÁN, 2011.



Figura 7. Secador tipo "flash dryer".



Figura 8. Harina de maíz nixtamalizada.

7.6 Almacenamiento de las harinas de maíz nixtamalizadas

Las harinas de maíz instantáneas fueron colocadas en bolsas de papel y almacenadas en una cámara ambiental Biotronette Mark III (Fig. 9) a una temperatura de 50 °C, el tiempo de almacenamiento en días se determinó de acuerdo a lo establecido en el diseño experimental para cada uno de los tratamientos.



Figura 9. Harinas de maíz almacenadas.

7.7 Extracción de grasa

7.7.1 Extracción directa

Para la extracción de grasa en las diferentes harinas de maíz instantáneas, cada muestra fue colocada directamente con el solvente (hexano) en frascos de vidrio ámbar en una relación de 200 g de muestra en 500 ml de solvente durante un periodo de 24 h; los frascos se agitaron vigorosamente durante 5 min cada 4 h. Posteriormente se decantó el solvente y se filtró para ser desolventizado en un equipo rotavapor Yamato, modelo BM100 (Fig. 10).



Figura 10. Equipo rotavapor.

7.8 Métodos indirectos para la evaluación de la oxidación de los lípidos del maíz

Los índices de yodo, de saponificación, de acidez y de peróxido, se determinaron de acuerdo a los métodos de la AOAC (1990).

7.8.1 Índice de yodo

Se determinó por el método de Hanus (AOAC, 1990). Este método consistió en romper los enlaces dobles de los lípidos y saturarlos con los halógenos de yodo y bromo. Una vez saturados se procedió a la adición de yoduro de potasio que liberó el yodo en forma estequiométrica de tal forma que pudo ser cuantificado por titulación con una solución de tiosulfato de sodio estandarizada.

PROCEDIMIENTO:

En un matraz Erlenmeyer se pesaron 0.25 g de aceite, se le adicionaron 10 ml de cloroformo y 25 ml de la solución de Hanus; se dejó reposar en oscuridad por un periodo de 30 min para que ocurra la reacción de halogenación y se corrió un blanco a la par. Transcurrido ese tiempo se agregaron al matraz 10 ml de una solución de KI al 15 % y se agitó vigorosamente. Posteriormente se adicionaron 100 ml de agua destilada recién hervida y fría, el yodo liberado se tituló con una solución de tiosulfato de sodio 0.1 N. Se adicionó 1 ml de almidón en solución como indicador de tal manera que aparece una coloración azul que desaparece en el punto de equivalencia (Fig. 11).



Figura 11. Determinación del índice de Yodo.

7.8.2 Índice de saponificación

Se determinó de acuerdo al método de la AOAC (1990). El índice de Saponificación se considera como el peso en miligramos de KOH que se requiere para saponificar completamente un gramo de grasa; este índice es inversamente proporcional al peso molecular promedio de los ácidos grasos. El método se basó en la adición de hidróxido de potasio en la cantidad precisa para que solo reaccione con los ácidos grasos libres, cuya concentración se determina previamente.

PROCEDIMIENTO:

En un matraz Erlenmeyer se pesaron 5 g de aceite, se le agregaron 50 ml de potasa (KOH) alcohólica y se corrió un blanco a la par. Se conectó el matraz a un condensador y se llevó a ebullición lenta y constante por un periodo de 2 horas para que la muestra saponificara, finalizada la saponificación se enjuagó el condensador con unos cuantos ml de potasa alcohólica, se retiró el condensador, se agregaron al matraz 0.5 ml de fenolftaleína como indicador y se tituló con una solución de HCl 1 N (Fig. 12).

Caracterización de la oxidación de lípidos extraídos de harinas de maíz instantáneas nixtamalizadas sometidas a condiciones de almacenamiento. TELLO-SANTILLÁN, 2011.



Figura 12. Determinación del índice de saponificación.

7.8.3 Índice de acidez

Se determinó de acuerdo al método de la AOAC (1990). Este método tuvo como principio medir la cantidad de hidróxido de sodio necesario para neutralizar los ácidos grasos libres presentes en la muestra.

PROCEDIMIENTO:

En un matraz Erlenmeyer se pesaron 10 g de aceite, se le agregaron 30 ml de alcohol neutralizado y 1 ml de fenolftaleína como indicador. Se tituló con una solución de NaOH 0.01 N (Fig. 13).

Caracterización de la oxidación de lípidos extraídos de harinas de maíz instantáneas nixtamalizadas sometidas a condiciones de almacenamiento. TELLO-SANTILLÁN, 2011.



Figura 13. Determinación del índice de acidez.

7.8.4 Índice de peróxido

Se determinó por el método oficial de la AOAC (1990). Este método se basó en la capacidad de los peróxidos, productos de la oxidación de las grasas, de oxidar el ión yoduro de yoduro de potasio y producir yodo que se valora con una solución de tiosulfato.

PROCEDIMIENTO:

En un matraz Erlenmeyer se pesaron 5 g de aceite, se le adicionaron 30 ml de solución Ác. Acético / Cloroformo y se agitó hasta su disolución, posteriormente se agregaron 0.5 ml de solución saturada de KI y se dejó reposar 1 min, después del cual se le adicionaron 30 ml de agua destilada. Se tituló lenta y cuidadosamente con solución 0.01 N de tiosulfato de sodio, se agregaron 0.5 ml de solución de almidón como indicador y se continuó la titulación hasta la desaparición del color azul (Fig. 14). Se corrió un blanco a la par.

Caracterización de la oxidación de lípidos extraídos de harinas de maíz instantáneas nixtamalizadas sometidas a condiciones de almacenamiento. TELLO-SANTILLÁN, 2011.



Figura 14. Determinación del índice de peróxido.

7.9 Métodos directos para la evaluación de la oxidación de los lípidos del maíz

7.9.1 Espectroscopia UV/vis

El espectro ultravioleta de un compuesto es generalmente medido en el rango de 220-400nm, aunque el rango visible hasta 800nm también puede ser cubierto por el mismo instrumento. Este tipo de espectroscopia es utilizada principalmente para confirmar la presencia de ácidos grasos que contienen sistemas de dobles enlaces conjugados formados como resultado de la autooxidación (Christie, 1982). Ciertos grupos funcionales como el carbonilo o los dobles enlaces absorben fuertemente la luz UV a ciertas longitudes de onda (Hemming and Hawthorne, 2008), así que la mejor ayuda para la identificación de lípidos es hacer un barrido de absorción en un cierto rango de longitud de onda. Para ello, se utilizó un equipo espectrofotómetro marca JENWAY modelo 6405 UV/Vis (Fig. 15). Las muestras fueron analizadas a través de un barrido de 190 a 780nm, para la identificación de sistemas de dobles enlaces conjugados.



Figura 15. Espectrofotómetro UV/Vis.

7.9.2 Espectroscopia de infrarrojo (FTIR)

La absorción de luz infrarroja (IR) produce aumentos en las frecuencias de alargamiento y flexión de los enlaces entre los átomos, así, los enlaces que caracterizan los grupos funcionales tienen frecuencias específicas a las cuales absorben y bandas de absorción características en la región infrarroja del espectro. Por consiguiente, la absorción en la región infrarroja se puede usar para identificar los tipos de grupos funcionales presentes en una molécula (Fox y Whitesell, 2000). Existen compuestos que muestran una absorción máxima en el rango infrarrojo, las vibraciones moleculares de estiramiento o flexión dan lugar a muchas bandas de absorción en la región IR (Hemming and Hawthorne, 2008). Cabe mencionar que los productos de la oxidación de los lípidos son compuestos de bajo peso molecular como aldehídos y cetonas, y que los posibles cambios ocurridos en aceites de maíz sometidos a tratamiento térmico-alcalino y almacenamiento acelerado pueden ser monitoreados por este tipo de espectroscopía; por lo tanto, se hizo el seguimiento a la oxidación de los lípidos especialmente por esta técnica. Se utilizó un equipo espectrofotómetro de infrarrojo marca Perkin Elmer, modelo Spectrum GX (Fig. 16).

Caracterización de la oxidación de lípidos extraídos de harinas de maíz instantáneas nixtamalizadas sometidas a condiciones de almacenamiento. TELLO-SANTILLÁN, 2011.



Figura 16. Espectrofotómetro de infrarrojo.

7.9.3 Resonancia Magnética Nuclear

Esta técnica es útil para identificar la estructura de moléculas orgánicas. El estudio de la interacción electromagnética con la materia es llamada espectroscopia y la Resonancia Magnética Nuclear (RMN) emplea pulsos de radio frecuencia para inducir transiciones entre los niveles de energía magnéticos del núcleo atómico, al grabar esas transiciones se obtiene un espectro de RMN. De esta forma, la espectroscopia de RMN está basada en las transiciones entre los estados de espín nuclear (Carey, 1999). Con esta metodología se pueden distinguir los tipos específicos de ácidos grasos contenidos en un aceite, y se detectan cambios estructurales en ellos que ocurren cuando los aceites son sometidos a un proceso de calentamiento, como en el caso del proceso térmico-alcalino usado en este proyecto (Kamal-Eldin y Pokorny, 2005). Los espectros de RMN ^1H se obtuvieron con un equipo Varian Mercury Plus de 400 MHz (Fig. 17), utilizando CDCl_3 como disolvente y TMS como referencia interna. Los desplazamientos químicos están dados en partes por millón.



Figura 17. Equipo de Resonancia Magnética Nuclear.

7.10 Diseño experimental y análisis estadístico

La metodología de superficie de respuesta (MSR) es la estrategia experimental y de análisis que permite resolver el problema de encontrar las condiciones de operación óptimas de un proceso, es decir, aquellas que dan por resultado “valores óptimos” de una o varias características de calidad del producto (Gutierrez y De La Vara, 2008). En el diseño experimental establecido, se desarrolló una matriz de tratamientos de acuerdo a la metodología de superficie de respuesta, en la que se consideran tres factores de estudio con tres niveles (Tabla 4). El análisis de superficie de respuesta de los resultados se realizó con el programa estadístico JMP V.6.0.

Tabla 4. Factores de estudio involucrados en el diseño experimental.

Factores de estudio	Niveles		
Ca(OH)₂ (%)	0.75	1.5	2.25
Tiempo de reposo (h).	8	12	16
Almacenamiento acelerado (Días).	0	13.5	27

Se estableció un diseño central compuesto para tres factores con tres niveles cada uno, resultando la matriz de la Tabla 5 que muestra un total de 20 tratamientos considerando seis repeticiones en el punto central.

Tabla 5. Factores de estudio del diseño experimental.

Tratamiento	Concentración de hidróxido de calcio (%)	Tiempo de reposo (h)	Almacenamiento (días)
1	0.75	8	0
2	2.25	8	0
3	0.75	16	0
4	2.25	16	0
5	0.75	8	27
6	2.25	8	27
7	0.75	16	27
8	2.25	16	27
9	0.23	12	13.5
10	2.76	12	13.5
11	1.5	5.27	13.5
12	1.5	18.72	13.5
13	1.5	12	9.19
14	1.5	12	36
15	1.5	12	13.5
16	1.5	12	13.5
17	1.5	12	13.5
18	1.5	12	13.5
19	1.5	12	13.5
20	1.5	12	13.5

8.0 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Materia prima

8.1.1 Limpieza del grano

Los granos de maíz se sometieron a limpieza para eliminarles impurezas; la separación se hizo manualmente, y de acuerdo a la NMX-FF-034/1-SCFI-2002, se consideran impurezas a cualquier material extraño distinto al grano de maíz como son: ramas, hojas, maderos, piedras, etc. También se separaron los granos quebrados, que son aquellos que carecen de alguna de sus partes y que tienen un tamaño inferior al 50 % del grano (NMX-FF-034/1-SCFI-2002).

8.2 Propiedades físicas del grano

8.2.1 Tamaño del grano

En la Tabla 6 se presentan los valores obtenidos para el tamaño de los granos de maíz. En comparación con lo reportado por Cervantes-Guerrero y col. (2008) en donde evaluaron 10 razas de maíz que se cultivaron en México y que son utilizadas para elaborar tortillas, el maíz de “La Barca” utilizado en este estudio, tuvo un tamaño (12 mm largo, 8,75 mm ancho y 4,55 mm espesor) que cae dentro de los rangos reportados por estos autores, en el que reportan medidas de 19.02 a 9.2 mm de largo, 15.19 a 7.45 mm de ancho, y 5.88 a 4.18 mm de espesor.

Tabla 6. Tamaño del grano de maíz “La Barca” en base a sus ejes principales.

Grano	Tamaño del grano (mm)		
	Largo	Ancho	Espesor
Maíz “La Barca”	12.3	8.75	4.55

8.2.2 Peso Hectolítrico

El Peso Hectolítrico (PH) es una forma de medir la densidad del grano de maíz, el cual consiste en determinar la masa del grano por unidad de volumen. Según lo señalado por Salinas y col. (1992) los maíces con endospermo duro presentan mayores PH que los de endospermo suave, por lo que son más densos. De acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NMX-FF-034/1-SCFI-2002 el maíz blanco para la elaboración de tortilla de maíz y productos de maíz nixtamalizado de calidad comercial debe tener una densidad mínima de 74 kg/hl. El valor obtenido de PH para el maíz “La Barca” fue de 81.78 Kg/hl, y corresponde al valor requerido para que sean considerados como granos de calidad comercial.

8.2.3 Índice de flotación

La prueba de índice de flotación (IF) se basó en el modelo propuesto en la norma NMX-FF-034/1-SCFI-2002, que evalúa la dureza del grano medida por el IF, y determina el tiempo de cocción en el proceso de nixtamalización. El maíz blanco sometido a un proceso alcalino para tortillas de maíz y productos de maíz nixtamalizado debe tener un IF máximo de 40. El índice de flotación para el maíz “La Barca” fue de 17, lo que indica que el grano de maíz utilizado en este trabajo es de endospermo duro, y que su tiempo óptimo de cocción en el proceso de nixtamalización debe ser de 40 min.

8.2.4 Dureza del grano

La dureza es una de las características más estudiadas del grano de maíz por su relación con la calidad de la tortilla. La dureza se define como la fuerza en Kg-F necesaria para el rompimiento del grano.

La dureza del grano de maíz “La Barca” fue de 21.9 Kg-F; este valor se encuentra por encima de lo reportado por Becerra-Eguía y col. (2008) quienes reportaron valores de dureza de 15.601 Kg-F, 13.585 Kg-F y 13.217 Kg-F para las variedades de maíz “Bolita”, “Blanco” y “Sinaloa”, respectivamente. Sin embargo, el IF del grano de maíz “La Barca” lo clasifica como un grano de dureza adecuada para ser sometido al proceso de nixtamalización.

8.3 Composición química del grano

Los resultados obtenidos en la caracterización del maíz “La Barca” se presentan en la Tabla 7.

Tabla 7. Análisis químico proximal del maíz “La Barca”.

Análisis	Maíz “La Barca”
Humedad	5.8 %
Cenizas	1.67%
Proteína	9.84 %
Grasa	5.87%
Fibra dietética	21.6 %

8.4 Determinación del tiempo óptimo de cocción del grano de maíz en función del desprendimiento de su pericarpio

El tiempo óptimo de cocción se determinó manualmente al obtener un fácil desprendimiento del pericarpio del grano, y en ésta prueba se correlacionó el tiempo de cocimiento del grano con la determinación del índice de flotación, ya que ambas pruebas nos permitieron obtener el tiempo óptimo de cocimiento que fue de 40 min, para el de grano de maíz “La Barca”.

8.5 Elaboración de las harinas de maíz nixtamalizadas

8.5.1 Nixtamalización (Cocción térmico-alkalina y reposo)

Para elaborar las harinas de maíz nixtamalizadas, los granos de maíz se cocieron en solución alcalina (Fig. 18) a una temperatura de 94 °C durante un tiempo de 40 min (esto determinado por el índice de flotación); el tiempo de reposo (Fig. 19) y la concentración de hidróxido de calcio se modificaron de acuerdo con los tratamientos descritos en el diseño experimental.



Figura 18. Cocción de los granos de maíz.

Caracterización de la oxidación de lípidos extraídos de harinas de maíz instantáneas nixtamalizadas sometidas a condiciones de almacenamiento. TELLO-SANTILLÁN, 2011.



Figura 19. Reposo de los granos de maíz cocidos.

8.5.2 Lavado, molienda y secado del nixtamal

Una vez terminado el tiempo de reposo se desechó el agua de cocción (nejayote) y los granos de maíz fueron lavados en un chorro de agua corriente para eliminar los residuos de pericarpio; después del lavado se molió el nixtamal en un molino de piedras para obtener la masa de maíz, la cual fue deshidratada en un secador tipo “flash dryer”, donde finalmente se obtuvieron las diferentes harinas que fueron empacadas en bolsas al alto vacío (Fig. 20). Las harinas de maíz nixtamalizadas fueron almacenadas en refrigeración.

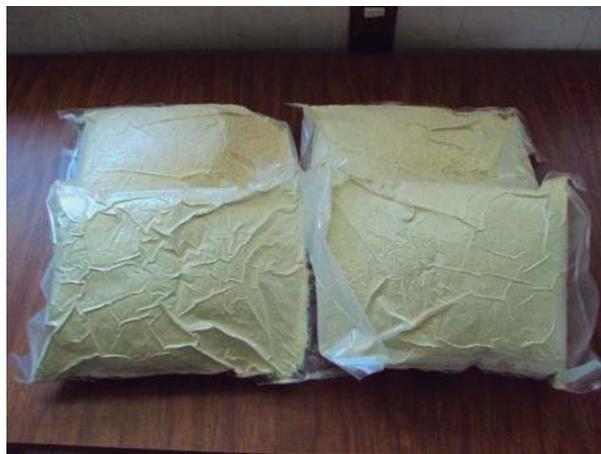


Figura 20. Harinas de maíz empacadas al vacío.

8.6 Extracción del aceite

La extracción de aceite se realizó de acuerdo a la metodología descrita en el apartado (7.7.1), mediante extracción directa. Una vez que los aceites de maíz de los distintos tratamientos fueron filtrados y desolventizados, se colocaron en frascos de color ámbar y se almacenaron en refrigeración hasta ser utilizados para sus posteriores análisis. Se partió de una cantidad de 2.5 Kg de harina nixtamalizada procesada en cada tratamiento, de la cual se obtuvieron entre 40 y 50 ml de aceite de maíz por tratamiento, cantidad que fue suficiente para el total de las pruebas establecidas en este proyecto. Los aceites extraídos fueron almacenados en refrigeración hasta el momento de su análisis (Fig. 21).

Caracterización de la oxidación de lípidos extraídos de harinas de maíz instantáneas nixtamalizadas sometidas a condiciones de almacenamiento. TELLO-SANTILLÁN, 2011.



Figura 21. Aceites de maíz almacenados en refrigeración.

8.7 Métodos indirectos para la evaluación de la oxidación de los lípidos del maíz

Tabla 8. Resultados de los índices indirectos de acuerdo a los tratamientos del diseño experimental.

	TRATAMIENTOS			ÍNDICES			
	Hidróxido de Calcio	Reposo	Almacenamiento	Yodo	Peróxidos	Saponificación	Acidez
1	0.75	8	0	89.3	120.4	785.4	0.03
2	0.75	8	27	64.0	112.4	848.2	0.26
3	0.75	16	0	80.7	18.4	549.8	0.02
4	0.75	16	27	76.6	116.8	843.7	0.16
5	2.25	8	0	102.0	74	702.4	0.02
6	2.25	8	27	80.2	97.2	807.8	0.07
7	2.25	16	0	80.2	26.4	655.2	0.02
8	2.25	16	27	68.0	124.8	774.2	0.15
9	0.239	12	13.5	96.4	60.8	754.0	0.04
10	2.76	12	13.5	75.6	82	814.6	0.08
11	1.5	5.27	13.5	92.4	92.4	850.5	0.07
12	1.5	18.72	13.5	87.8	80.4	801.1	0.05
13	1.5	12	9.19	88.8	48	758.5	0.02
14	1.5	12	36	87.8	113.2	706.9	0.10
15	1.5	12	13.5	89.3	62.8	686.7	0.02
16	1.5	12	13.5	96.4	79.6	778.7	0.03
17	1.5	12	13.5	100.5	98.4	821.3	0.06
18	1.5	12	13.5	94.4	62.8	742.8	0.03
19	1.5	12	13.5	89.3	72	713.6	0.02
20	1.5	12	13.5	104.6	70	783.2	0.02

En la Tabla 8 Se muestran los resultados obtenidos de los índices de yodo, peróxidos, saponificación y acidez para cada una de las combinaciones de los 20 tratamientos obtenidos en el diseño experimental, estos resultados se discuten a continuación.

8.7.1 Índice de yodo

El índice de yodo se expresa en términos del número de centigramos de yodo absorbidos por gramo de muestra (por ciento de yodo absorbible), y con el se mide el grado de insaturación de las grasas y los aceites; sin embargo, este método no ofrece información respecto a la distribución y localización de las dobles ligaduras de las moléculas de los lípidos.

Los cambios en los valores de índice de yodo por efecto de los diferentes tratamientos no fueron estadísticamente significativos ($P>0.05$), sin embargo, en la Figura 22 se puede observar una tendencia de disminución del índice de yodo conforme aumentó el tiempo de reposo y los días de almacenamiento. Estos datos coinciden con los de Romero (2004), quien reportó una disminución marcada en cuanto al índice de yodo en aceite de maíz al variar las condiciones de nixtamalización, en este caso el índice de yodo disminuyó al aumentar la concentración de hidróxido de calcio de 0 a 2.5% y el tiempo de reposo de 0 a 24 h.

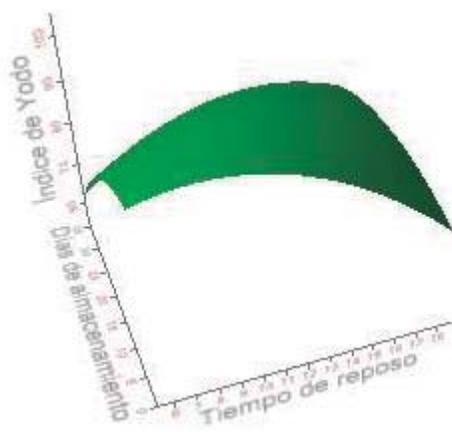


Figura 22. Índice de yodo en función del tiempo de reposo (h) y días de almacenamiento.

Caracterización de la oxidación de lípidos extraídos de harinas de maíz instantáneas nixtamalizadas sometidas a condiciones de almacenamiento. TELLO-SANTILLÁN, 2011.

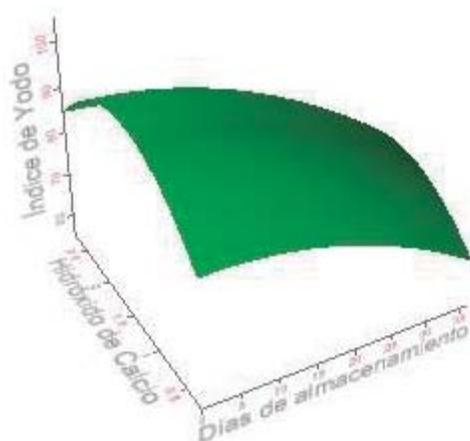


Figura 23. Índice de yodo en función de la concentración de hidróxido de calcio (%) y días de almacenamiento.

Farhoosh y col. (2008) reportaron valores de índice de yodo de 103 a 128 para aceite de maíz puro y en este trabajo se obtuvieron valores por debajo de los reportados por ellos, lo que sugiere que el índice de yodo se vio afectado por las condiciones del proceso térmico-alcalino. Dichos valores de disminución de este índice se pueden explicar, debido a que el hidróxido de calcio al formar una solución de pH alcalino y otros factores agregados como la temperatura durante el cocimiento y el almacenamiento, pudieran llegar a promover cambios estructurales en los lípidos del maíz lo que puede llegar a provocar una disminución del grado de insaturación de estas grasas.

Un consumo excesivo de grasas saturadas está asociado a diversos padecimientos como la obesidad, enfermedades de la vesícula biliar, algunos tipos de cáncer y sobre todo a niveles altos de colesterol, lo que promueve la obstrucción de las arterias, al depositarse la grasa en sus paredes produciendo

rigidez y disminuyendo el volumen del riego sanguíneo, causando así problemas de aterosclerosis. Se ha reportado que los ácidos grasos insaturados como el ácido linoleico, reducen lesiones ateroscleróticas en conejos y hámster, así como también reduce el colesterol total, los triglicéridos, el colesterol LDL “malo” e incrementa el colesterol HDL “bueno” (Yeonhwa Park, 2009). Los granos de maíz contienen en su mayoría ácidos grasos insaturados principalmente ácido linoleico, por lo que se considera como una buena fuente de estos ácidos grasos insaturados.

La metodología de superficie de respuesta permite determinar las condiciones óptimas de una respuesta, para el caso del índice de yodo se debe tener presente que entre mayor sea su valor, el contenido de AGI es mayor, en este análisis, se establecieron las condiciones óptimas en las que se obtiene un máximo en el contenido de este índice sometido a las condiciones de proceso de los distintos tratamientos; para la concentración de hidróxido de calcio fue de 1.5%, un tiempo de reposo de 11 h y sin ningún día de almacenamiento.

8.7.2 Índice de saponificación

El índice de saponificación se considera como el peso en miligramos de hidróxido de potasio que se requiere para saponificar completamente un gramo de grasa; este índice es inversamente proporcional al peso molecular promedio de los ácidos grasos libres. Generalmente, los ácidos grasos se encuentran en forma esterificada integrando los triglicéridos y cuando se llegan a encontrar en estado libre es muy probable que haya ocurrido una hidrólisis del enlace éster. La saponificación es una reacción química entre un ácido graso y un compuesto alcalino, en la que se obtiene como principal producto la sal de dicho ácido y de dicha base. Durante el proceso de nixtamalización los granos de maíz son cocidos en presencia de un compuesto alcalino como es el hidróxido de calcio,

este y otros factores pueden promover reacciones de saponificación de los ácidos grasos presentes en el grano de maíz.

Romero (2004), reportó que al aumentar la concentración de hidróxido de calcio durante el proceso de nixtamalización, el índice de saponificación tendió a aumentar, y que al aumentar el tiempo de reposo, el índice de saponificación también aumentó.

Por otro lado, en el análisis de este trabajo se observó que a distintas condiciones de proceso hubo un efecto significativo ($P < 0.05$) sobre el índice de saponificación. Para el caso de las condiciones óptimas donde se busca un menor índice de saponificación, el diseño indicó que se debe cocer el grano de maíz con una concentración de hidróxido de calcio de 0.8%, un tiempo de reposo de 13 h y sin almacenamiento. Por lo tanto, se observó que a concentraciones elevadas de hidróxido de calcio y cuando las harinas de maíz fueron sometidas a condiciones de almacenamiento las reacciones de saponificación se vieron favorecidas. A continuación se muestran los gráficos de superficie de respuesta tridimensional para el índice de saponificación.

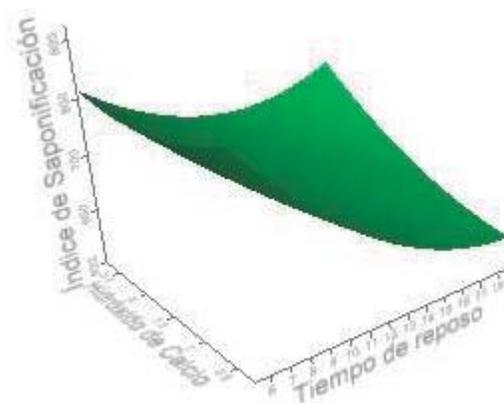


Figura 24. Índice de saponificación en función del hidróxido de calcio (%) y tiempo de reposo (h).

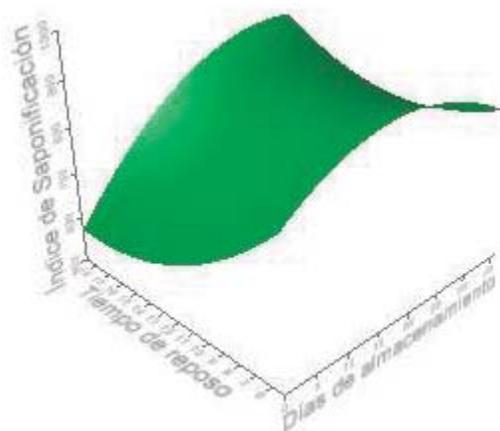


Figura 25. Índice de saponificación en función del tiempo de reposo (h) y días de almacenamiento.

8.7.3 Índice de acidez

Este índice es valorado como la cantidad de hidróxido de sodio necesario para neutralizar los ácidos grasos libres presentes en la muestra. Los ácidos grasos libres son formados durante la oxidación, hidrólisis y pirolisis como resultado del rompimiento de los enlaces de los triglicéridos (Baran y col., 2004). Estos mismos autores reportaron que al calentar el aceite de maíz, el contenido de ácidos grasos libres aumentó significativamente por efecto de la temperatura.

De acuerdo con lo anterior, pueden ocurrir reacciones de hidrólisis lentas, catalizadas por las altas temperaturas y el pH alcalino proporcionado por el hidróxido de calcio. Romero (2004), reportó un aumento del índice de acidez conforme hubo un incremento en la concentración de hidróxido de calcio durante el proceso de nixtamalización, y un aumento notable de este índice a un tiempo de reposo de 24 h.

Caracterización de la oxidación de lípidos extraídos de harinas de maíz instantáneas nixtamalizadas sometidas a condiciones de almacenamiento. TELLO-SANTILLÁN, 2011.

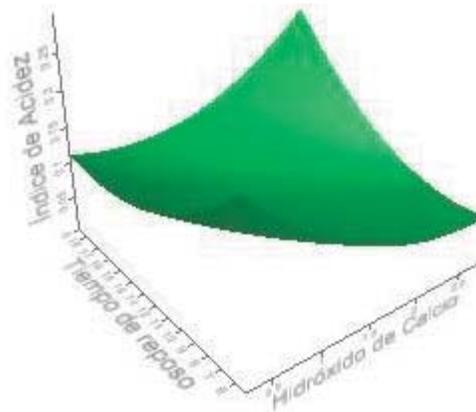


Figura 26. Índice de acidez en función del hidróxido de calcio (%) y tiempo de reposo (h).

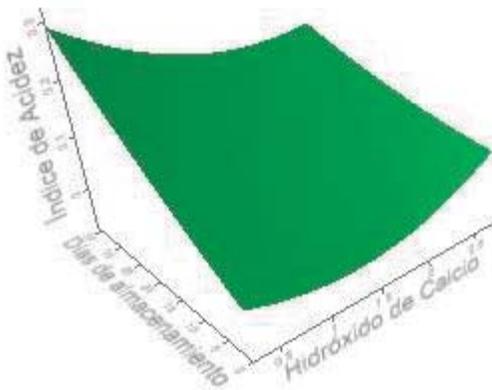


Figura 27. Índice de acidez en función del hidróxido de calcio (%) y días de almacenamiento.

En las Figuras 26 y 27 se muestra la superficie de respuesta para el índice de acidez. Las condiciones óptimas para el mínimo de porcentaje de acidez en función de los tratamientos realizados en este trabajo, se estimó en una concentración de hidróxido de calcio de 1.1%, un tiempo de reposo de 11.5 h y

sin almacenamiento. Lo que indica que al aumentar la concentración de hidróxido de calcio este índice también se aumentó y conforme pasaron los días de almacenamiento también se vio aumentado el índice de acidez de forma considerable.

8.7.4 Índice de peróxidos

El índice de peróxidos es una de las pruebas químicas más ampliamente utilizadas para determinar la calidad de grasas y aceites, es una medida de oxidación en sus etapas iniciales (Baran y col., 2004). Un descenso significativo del índice de peróxidos después de alcanzar valores máximos confirma que los peróxidos, los cuales son formados en las etapas iniciales de la oxidación, son compuestos inestables y son altamente susceptibles a sufrir cambios que resultan en la formación de productos secundarios de la oxidación (Danowska y col., 2005). Baran y col. (2004) reportaron una tendencia de aumento en el contenido de índice de peróxidos en aceite de maíz expuesto a 121 °C y 1 atm de presión en un tiempo de 60 min.

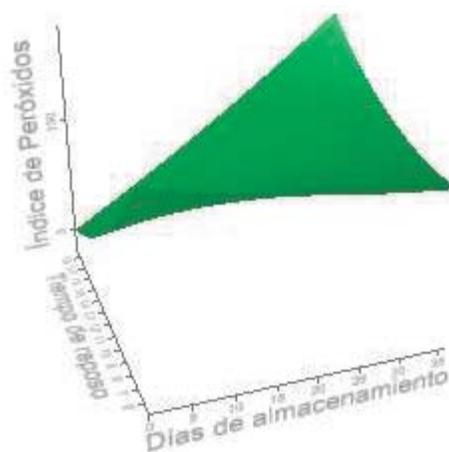


Figura 28. Índice de peróxidos en función del tiempo de reposo (h) y días de almacenamiento.

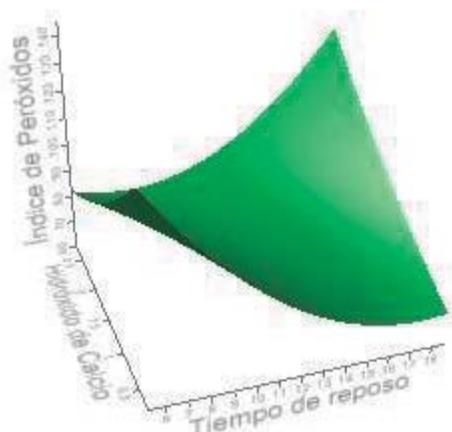


Figura 29. Índice de peróxidos en función del hidróxido de calcio (%) y tiempo de reposo (h).

Las condiciones óptimas para el mínimo valor de peróxidos en función de los tratamientos realizados en este trabajo, se estima en una concentración de hidróxido de calcio de 0.35%, un tiempo de reposo de 7 h y sin almacenamiento. Las distintas condiciones de proceso tuvieron un efecto significativo ($P < 0.05$) sobre el índice de peróxidos, las variables que tuvieron mayor influencia sobre el efecto fueron el tiempo de reposo, los días de almacenamiento, así como la interacción entre estas dos variables. Cabe mencionar que los hidroperóxidos son compuestos inestables y que comienzan a descomponerse tan pronto como se forman, por lo que es posible encontrar valores bajos de índice de peróxidos en productos oxidados.

8.8 Diseño experimental y análisis estadístico

En la Tabla 9 se presenta la matriz desarrollada que muestra un total de 20 tratamientos considerando seis repeticiones en el punto central.

Tabla 9. Factores de estudio del diseño experimental.

Tratamiento	Concentración de hidróxido de calcio (%)	Tiempo de reposo (h)	Almacenamiento (días)
1	0.75	8	0
2	2.25	8	0
3	0.75	16	0
4	2.25	16	0
5	0.75	8	27
6	2.25	8	27
7	0.75	16	27
8	2.25	16	27
9	0.23	12	13.5
10	2.76	12	13.5
11	1.5	5.27	13.5
12	1.5	18.72	13.5
13	1.5	12	9.19
14	1.5	12	36
15	1.5	12	13.5
16	1.5	12	13.5
17	1.5	12	13.5
18	1.5	12	13.5
19	1.5	12	13.5
20	1.5	12	13.5

8.9 Espectroscopia UV/Vis

El estudio de la estabilidad oxidativa de los aceites, y por tanto de su calidad, puede llevarse a cabo midiendo parámetros como el coeficiente de extinción. Concretamente, la medida de la absorbancia a longitudes de onda comprendida entre 232 nm y 274 nm permite conocer el grado de alteración sufrido por el aceite durante el proceso al que ha sido sometido, en este caso nixtamalización y almacenamiento. Esto se debe a que los compuestos de oxidación primarios (peróxidos e hidroperóxidos), formados durante la oxidación del aceite, absorben a 232 nm, mientras que los productos de oxidación secundarios (aldehídos, cetonas, etc), lo hacen a longitudes de onda más altas que llegan hasta los 274 nm (Paz y Molero, 2000). Por lo tanto, la absorción específica a 232 nm y a 270 nm se asocia al contenido de hidroperóxidos y de dienos y trienos conjugados (Muik y col., 2005).

En la Figura 30 se presentan los espectros de absorción Uv-vis de los distintos tratamientos y del control donde según lo reportado por Kapoor y col. (2005), el ácido linoleico presenta una máxima absorbancia en la región cercana a los 200 nm. En la Figura se puede ver claramente como la muestra control tiene una absorbancia máxima cercana a los 215 nm, región donde las absorbancias de los aceites tratados se van reduciendo y absorbiendo a longitudes de onda más altas, específicamente cerca de la región a 232 nm lo que indica la formación de compuestos hidroperóxidos por efecto de las condiciones de nixtamalización y almacenamiento.

Caracterización de la oxidación de lípidos extraídos de harinas de maíz instantáneas nixtamalizadas sometidas a condiciones de almacenamiento. TELLO-SANTILLÁN, 2011.

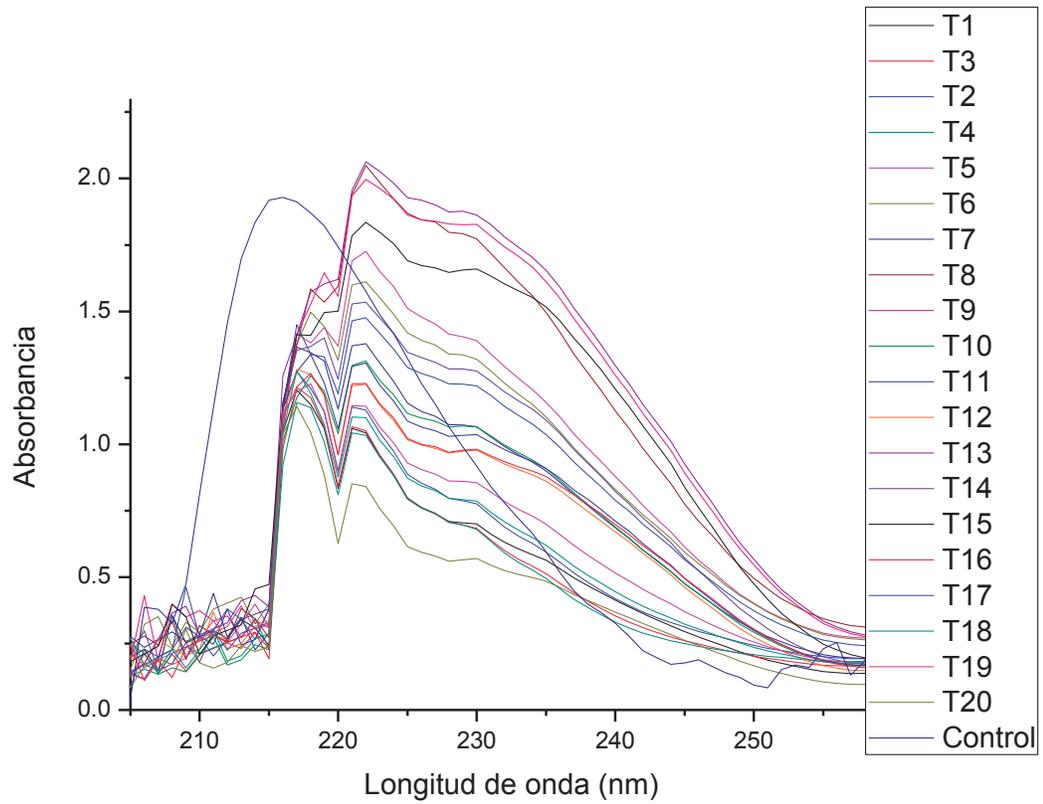


Figura 30. Espectros Ultravioleta de aceite de maíz puro y tratado “La Barca”, en la región de 205 a 260 nm. (T) Tratamiento.

Los aceites se diluyeron en hexano para poder ser leídos en el espectrofotómetro UV/Vis, a partir de las absorbancias se calculó el coeficiente de extinción específica a longitudes de onda de 232 nm y 270 nm lo que permite la identificación de la naturaleza del aceite así como seguir la evolución de su degradación (Paz y Molero, 2000). Este cálculo se lleva a cabo a partir de la siguiente ecuación: $K_{\lambda} = D_{\lambda} / C$, donde K_{λ} es el coeficiente de extinción específica para cada longitud de onda, D_{λ} es la absorción leída en el espectrofotómetro y C es la concentración de la dilución en g/100ml.

La superficie de respuesta en relación al coeficiente de extinción a 232 nm de los aceites de harinas nixtamalizadas se muestra en las Figuras 31 y 32. El efecto de los diferentes tratamientos no fue estadísticamente significativo ($P < 0.05$), pero se puede apreciar en la Figura 31 que al aumentar los días de almacenamiento el K 232 nm también aumenta, lo que no se aprecia al aumentar el hidróxido de calcio, sin embargo, al combinarse el aumento de hidróxido de calcio con el aumento de los días de almacenamiento, el K 232 nm aumentó considerablemente lo que indica que a estas condiciones de proceso se favorece la formación de hidroperóxidos. En la Figura 32 incluso se aprecia que al aumentar la concentración de hidróxido de calcio el K 232 nm disminuye y que después de un tiempo de reposo de 12 h también tiende a disminuir el K 232 nm, pero combinando valores altos dentro del rango establecido para estos parámetros el K 232 nm tendió a verse aumentado por efecto de esta combinación de factores.

La superficie de respuesta en relación al coeficiente de extinción a 270 nm de los aceites de harinas nixtamalizadas, se muestra en las Figuras 33 y 34. El efecto de los diferentes tratamientos no fue estadísticamente significativo ($P < 0.05$), sin embargo, en la Figura 33 se observan tendencias de aumento del K 270 nm a tiempos de reposo prolongados y a mayor almacenamiento, así como en la combinación de estos 2 factores. Mientras que en la Figura 34 se observa que a concentraciones por encima del 2% de hidróxido de calcio el K 270 nm aumentó, así mismo al combinar estas concentraciones de hidróxido de calcio con tiempos de reposo prolongados.

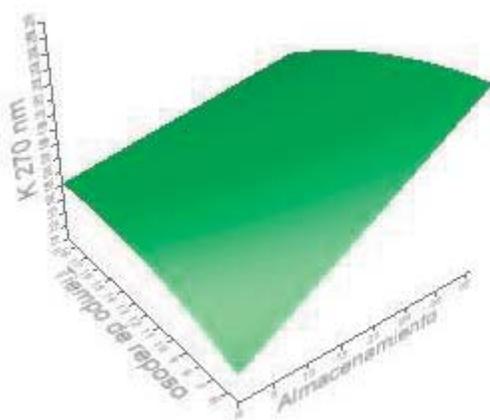


Figura 33. Coeficiente de extinción a 270 nm, en función del tiempo de reposo (h) y días de almacenamiento.

Caracterización de la oxidación de lípidos extraídos de harinas de maíz instantáneas nixtamalizadas sometidas a condiciones de almacenamiento. TELLO-SANTILLÁN, 2011.

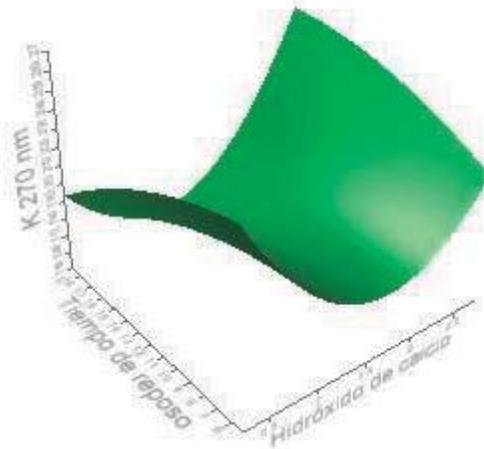


Figura 34. Coeficiente de extinción a 270 nm, en función del hidróxido de calcio (%) y tiempo de reposo (h).

8.10 Espectroscopia de Infrarrojo (FTIR)

La espectroscopía de infrarrojo es una herramienta versátil que se aplica a la determinación cualitativa y cuantitativa de especies moleculares de todo tipo, sus aplicaciones se dividen en tres grandes categorías relacionadas con las regiones espectrales del infrarrojo. La región más utilizada es la región del infrarrojo medio que se extiende entre aproximadamente 670 y 4.000 cm^{-1} (2.5 y $14.9\text{ }\mu\text{m}$), (Skoog y col., 2001). La absorción de un fotón de radiación infrarroja excita a la molécula desde el estado vibracional más bajo, o fundamental, a uno más alto. Estas vibraciones moleculares incluyen los modos de tensión y flexión. Una molécula puede tener un gran número de vibraciones distintas y el espectro de infrarrojo de moléculas diferentes, como la huella dactilar y los copos de nieve, son distintos. La superposición de sus espectros de infrarrojo es una prueba de que dos compuestos son el mismo (Carey, 1999).

La Figura 35 muestra el espectro de infrarrojo para el aceite de maíz puro. La banda **A** en 3009 cm^{-1} , es el resultado de la vibración de tensión de los dobles enlaces CH cis olefínicos ($=\text{CH}$). El alto valor de la frecuencia de esta banda indica su riqueza en grupos acilo poliinsaturados. La banda **B** a 2954 cm^{-1} indica un movimiento de tensión asimétrica de grupos metilo ($-\text{CH}_3$ tensión asimétrica). Las bandas **C** y **D** resultantes de las vibraciones de tensión asimétricas y simétricas de los grupos metileno (CH_2) aparecen en 2923 y 2854 cm^{-1} , respectivamente. La banda **E**, perteneciente a la vibración de tensión del grupo carbonilo ($-\text{C}=\text{O}$) de los triglicéridos, aparece a 1745 cm^{-1} , este valor es uno de los más observados en aceites vegetales y es característico de aceites con un alto grado de insaturación. La pequeña banda **F** asignada para la vibración de tensión de los dobles enlaces ($\text{C}=\text{C}$) cis di-sustituido de los grupos acilo insaturados, aparece a 1653 cm^{-1} . La banda **G** que es el resultado de las vibraciones de flexión de los grupos (CH_2 y CH_3) aparece a 1459 cm^{-1} .

La banda **H** corresponde a las vibraciones simétricas de flexión de los grupos (CH_3) a 1377 cm^{-1} mientras que, las bandas **I** y **J** ubicadas a 1238 cm^{-1} y 1160 cm^{-1} respectivamente, están asociadas con los modos de tensión de los grupos éster (C-O) y con los modos de flexión del grupo (CH_2). La banda **K** a 1119 cm^{-1} , cuya intensidad disminuye cuando el grado de insaturación de la muestra aumenta, significa que la ausencia de la banda **K** en un espectro de aceite indica que el aceite es altamente insaturado. La banda **L** asociada con la vibración de tensión del grupo (C-O) en los ésteres, aparece en 1099 cm^{-1} , la frecuencia de esta banda también está ligeramente relacionada a la proporción de grupos acilo monoinsaturados y poliinsaturados en la muestra. Mientras que la banda **M** presente a 723 cm^{-1} , corresponde a vibraciones de los grupos metileno (CH_2).

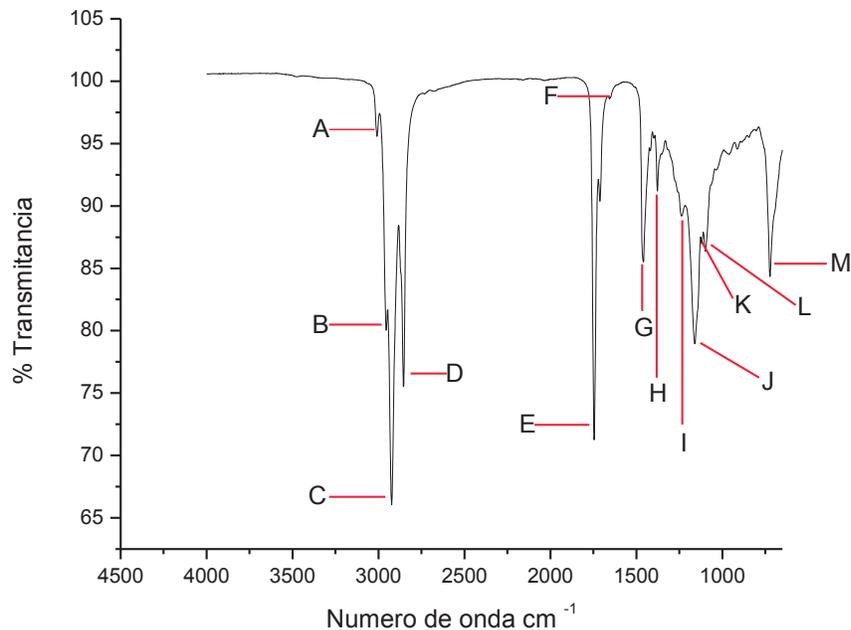


Figura 35. Espectro de Infrarrojo de aceite de maíz puro “La Barca”.

La Figura 36 nos muestra los espectros de infrarrojo de los veinte tratamientos considerados en el diseño experimental, así como el espectro del aceite de maíz control en donde se puede observar que los espectros son prácticamente iguales, por lo cual, mediante esta técnica no se aprecian grandes variaciones en los espectros de absorción de los distintos aceites de maíz sometidos a diferentes condiciones de proceso; algo a destacar es que la composición del aceite en los espectros de infrarrojo afecta la posición exacta de las bandas, lo que significa que al cambiar la composición de los ácidos grasos en el aceite, las bandas del espectro se ven modificadas ya sea en intensidad de la señal o por desplazamiento, algo que se aprecia solo ligeramente en los espectros de la Figura 36.

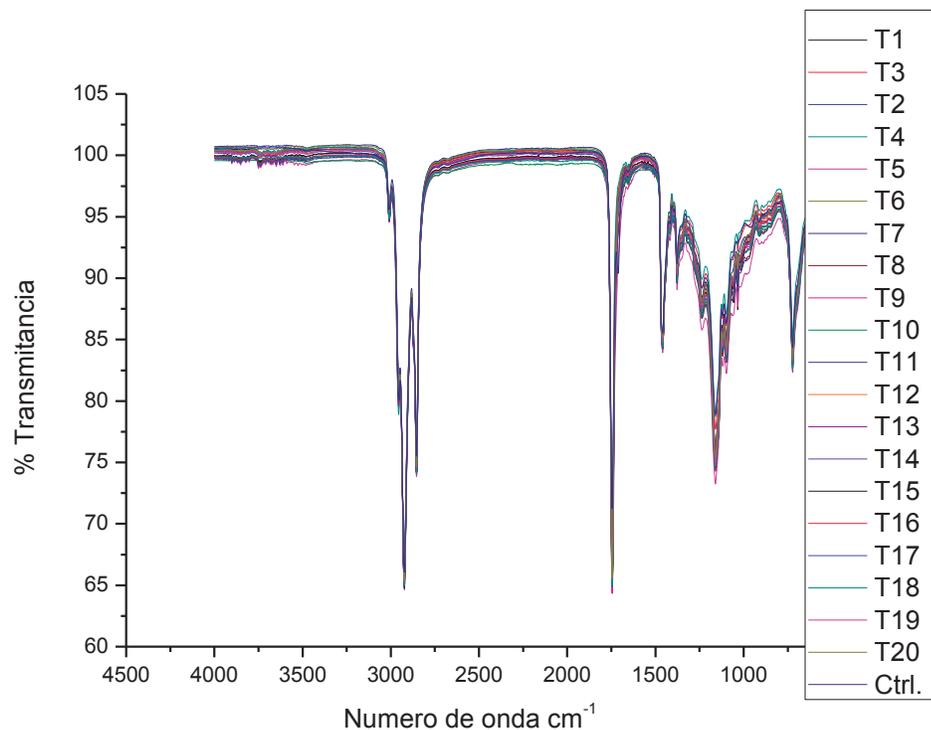


Figura 36. Espectros de Infrarrojo de aceite de maíz puro y tratado “La Barca”, en la región de 4500 a 650 cm⁻¹. (T) Tratamiento y (Ctrl) Control.

(Vlachos y col. 2006) notaron que es importante darle seguimiento a los cambios espectrales en la región cercana a 1746 cm^{-1} . En su estudio, donde calentaron aceite de maíz a diferentes temperaturas, estos investigadores observaron una amplitud en la banda correspondiente a esta región del espectro infrarrojo por efecto de la temperatura y esto fue atribuido a la producción 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} del grupo carbonilo (C=O) de los triglicéridos.

Como ya se mencionó, los espectros de todos los tratamientos así como el espectro control, tienen una gran similitud mostrando variaciones poco apreciables tanto en su frecuencia como en intensidad de las señales. La Figura 37 muestra las diferencias que existen en porcentaje de transmitancia de algunos tratamientos y el control, que aunque son mínimas las diferencias en la señal a 3009 cm^{-1} que corresponde a las vibraciones de tensión de los dobles enlaces *cis* olefínicos (=CH) y está directamente relacionada con la proporción de ácidos grasos insaturados ya que se desplaza cuando la proporción de los ácidos grasos cambia tal como reporta Vlachos y col. (2006); en esta Figura 37 se pueden apreciar de mejor manera indicando que las señales menos intensas que son las que tienen un mayor porcentaje de transmitancia, han sufrido modificaciones en su estructura ya que durante la oxidación los dobles enlaces *cis* pueden llegar a sufrir isomerización de *cis* a *trans* o incluso puede ser que se hayan perdido para dar paso a la formación de otros productos como aldehídos, lo cual se corroboró con los espectros de RMN. A través de la metodología de superficie de respuesta se obtuvieron las gráficas de las Figuras 38 y 39 en donde aunque las condiciones del proceso no mostraron un efecto estadísticamente significativo ($P < 0.05$), se puede ver en la Figura 38 que conforme aumentaron los días de almacenamiento y a un mayor reposo de los granos de maíz, el porcentaje de transmitancia también se vio aumentado, lo que indica que hubo pérdida de compuestos

insaturados, específicamente de AGI; así mismo, en la Figura 39 se observó un aumento en el porcentaje de transmitancia principalmente al combinar concentraciones de hidróxido de calcio elevadas con tiempo de reposo prolongados, donde la variable que tuvo un mayor peso sobre este efecto fue el tiempo de reposo.

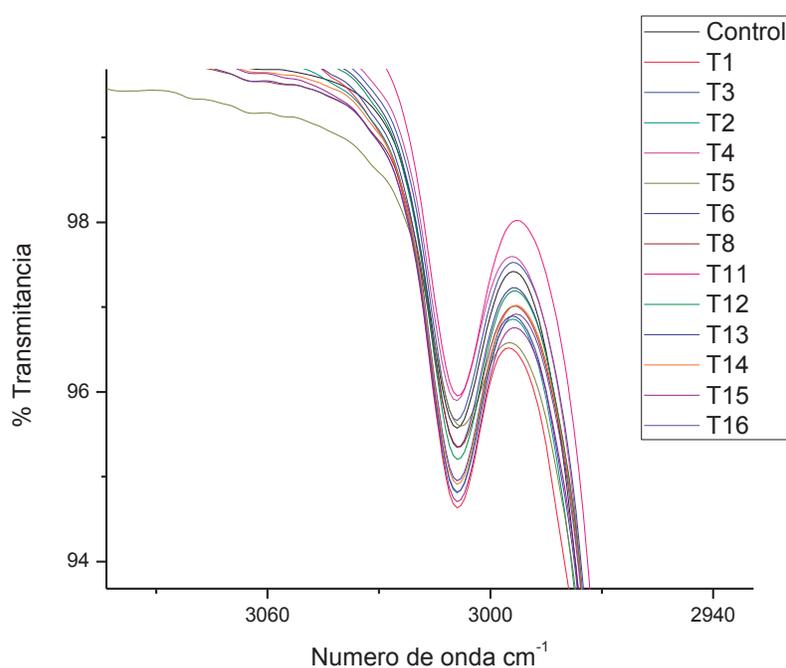


Figura 37. Ampliación de los espectros de Infrarrojo de aceite de maíz puro y tratado “La Barca”, en la región de 3090 a 2940 cm⁻¹. (T) Tratamiento.

Caracterización de la oxidación de lípidos extraídos de harinas de maíz instantáneas nixtamalizadas sometidas a condiciones de almacenamiento. TELLO-SANTILLÁN, 2011.

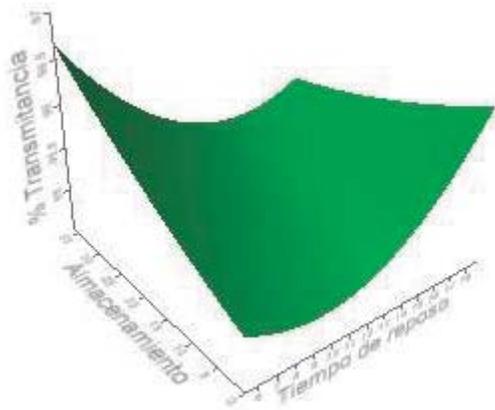


Figura 38. Porcentaje de transmitancia de la señal **A**, en función del tiempo de reposo (h) y días de almacenamiento.

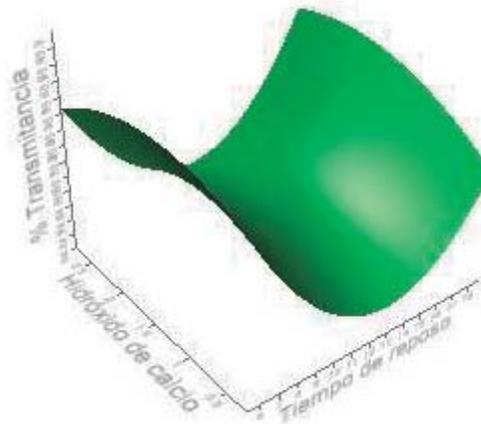


Figura 39. Porcentaje de transmitancia de la señal **A**, en función del hidróxido de calcio (%) y tiempo de reposo (h).

8.11 Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

La RMN está relacionada con los niveles de energía del núcleo de ^1H que se producen cuando una muestra es sometida a un campo magnético externo. Cada núcleo ^1H en cada molécula está rodeado por electrones y otros núcleos, lo cual causa pequeñas modificaciones locales con respecto al campo externo. 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). Un espectro de RMN es una serie de señales cuyas frecuencias pueden ser relacionadas con la naturaleza química de los átomos de hidrógeno y que sus intensidades están directamente relacionadas con el número de hidrógenos que producen la señal (Guillén y Ruiz, 2001).

La Figura 40 muestra el espectro ^1H RMN de aceite de maíz puro. Este espectro contiene las 10 señales típicas del espectro de un aceite vegetal (Guillén y col., 2003). Los protones metílicos de los grupos acilo saturados e insaturados (oleico y linoleico), junto con otros grupos acilo n-6, dan la señal **A** entre **0.83** y **0.93** ppm, esta señal es el resultado de la superposición de las señales de los tripletes de los protones metílicos de los tres grupos acilo antes mencionados. La señal **B**, se atribuye a los protones metílicos de los grupos acilo n-3, y esta señal aparece entre **0.94** y **1.00** ppm; la baja intensidad de esta señal, comparada con la señal **A**, indica que los grupos acilo n-3 se encuentran en menor proporción.

Otra señal de ^1H RMN presente en los aceites vegetales es la señal **C**, mostrada en la Figura 40. Esta es debido a la superposición de las señales de los protones metilénicos, que están en la posición β o más alejados en relación a los dobles enlaces o están en la posición γ o más alejados en relación al grupo carbonilo. Los desplazamientos químicos de estas señales de protones metilénicos están entre **1.22** y **1.42** ppm.

Las señales **D** y **F** son atribuidas a los protones metilénicos en la posición α ó β en relación al grupo carbonilo, aparecen entre **1.52** y **1.70** ppm y entre **2.23** y **2.38** ppm, respectivamente. Estas señales no son significativamente útiles para discriminar entre muestras de aceites. La señal **E** entre **1.94** y **2.14** ppm, es atribuida a los protones metilénicos α en relación a un doble enlace, también llamados 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 relación a dos dobles enlaces, también llamados protones bis-alílicos, y aparecen entre **2.70** y **2.84** ppm; esta señal es atribuida 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). A pesar de que se sobreponen estas señales para el ácido linoleico y linolénico, se puede observar en el espectro para el aceite de maíz de la Figura 42 que la señal que corresponde al ácido linoleico predomina en forma evidente sobre la señal que corresponde al ácido linolénico, la cual es prácticamente imposible observarla, lo que indica que el aceite de maíz puro “La Barca” contiene proporciones elevadas de ácido linoleico y proporciones mínimas de ácido linolénico. En el aceite de maíz se encuentran en proporciones de 52-53% (ácido linoleico) y 0.5-1% (ácido linolénico), respectivamente (Guillén y Goicoechea, 2009). Cada grupo acilo linolénico contiene cuatro protones de este tipo, mientras que cada grupo acilo linoleico contiene solamente dos.

La señal **H** (Fig. 40) en **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**, en **5.20** a **5.26** ppm, al protón del átomo de carbono **2** del mismo grupo gliceril. Esta señal **I** se sobrepone ligeramente con la señal **J**, en **5.26** a **5.40** ppm, la cual se atribuye a los protones olefínicos de los diferentes grupos acilo. En la Figura 41 se muestra la ubicación correspondiente a estas señales en una molécula de ácido linoleico y se describen en la Tabla 10.

Caracterización de la oxidación de lípidos extraídos de harinas de maíz instantáneas nixtamalizadas sometidas a condiciones de almacenamiento. TELLO-SANTILLÁN, 2011.

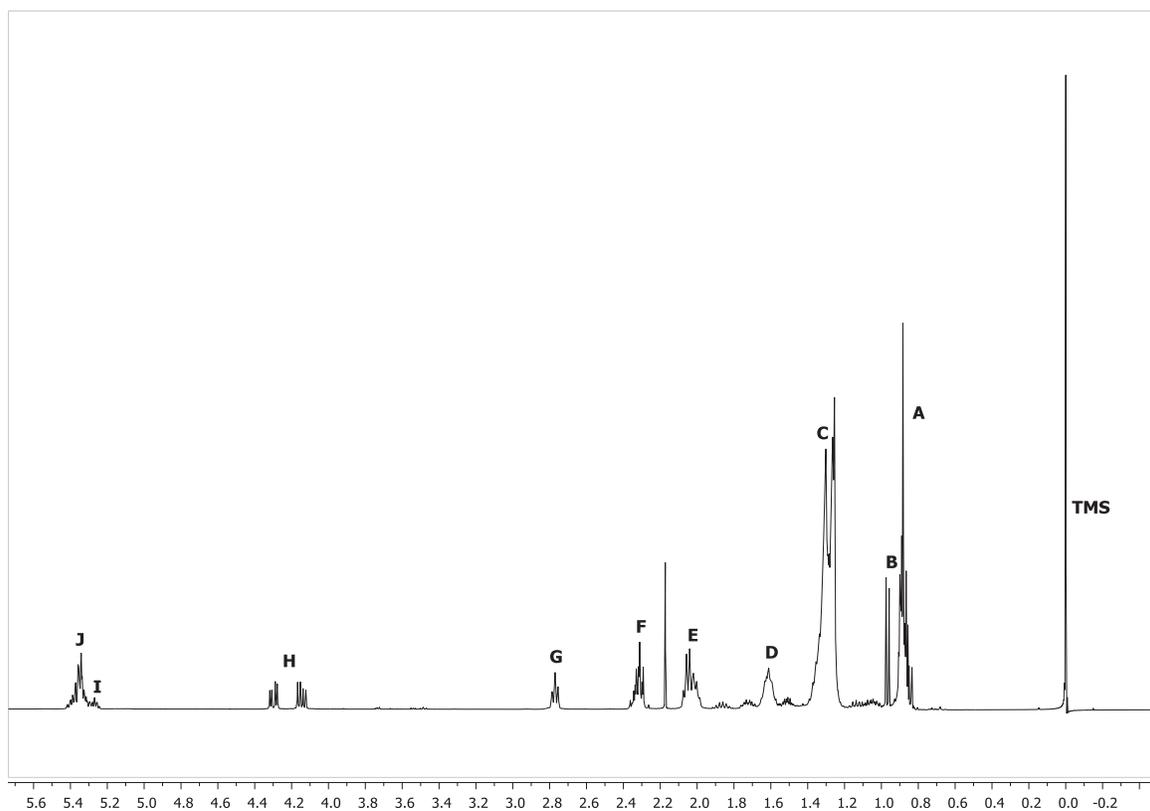


Figura 40. Espectro ^1H RMN de aceite de maíz puro "La Barca".

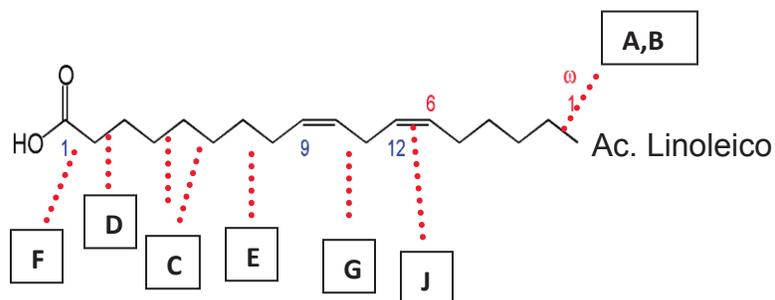


Figura 41. Ubicación de los átomos de hidrógeno de las señales típicas de un espectro ^1H RMN para aceites vegetales en una molécula de ácido linoleico.

Caracterización de la oxidación de lípidos extraídos de harinas de maíz instantáneas nixtamalizadas sometidas a condiciones de almacenamiento. TELLO-SANTILLÁN, 2011.

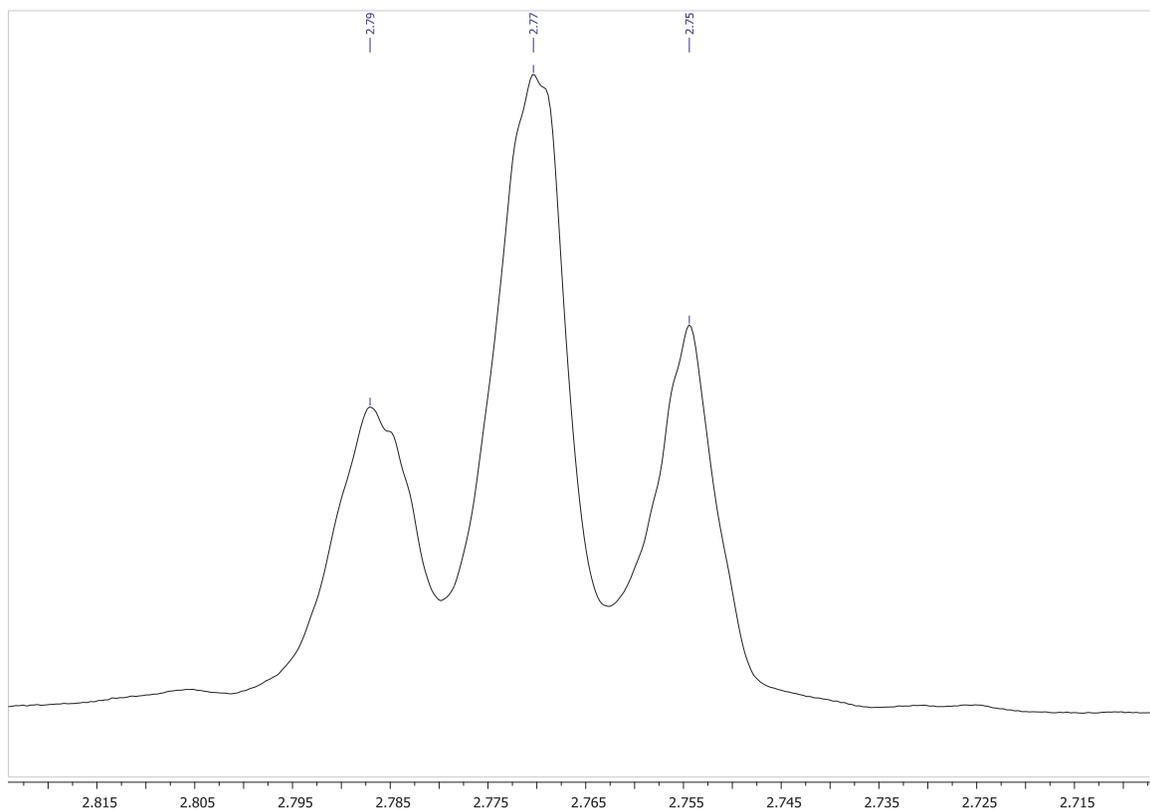


Figura 42. Expansión de la región entre 2.705 y 2.825 ppm del espectro ^1H RMN de aceite de maíz puro "La Barca".

Tabla 10. Asignación de las señales del espectro ^1H RMN del aceite de maíz puro “La Barca”. Las señales son de acuerdo a las Figuras 30 y 31.

Señal	Desplazamiento químico (ppm)	Grupo funcional
A	0.83 – 0.93	-CH ₃ (saturados, grupos acilo oleico y linoleico).
B	0.93 – 1.03	-CH ₃ (grupos acilo del linolénico).
C	1.22 – 1.42	-(CH ₂) _n - (grupo acilo).
D	1.52 – 1.70	-OCO-CH ₂ -CH ₂ - (grupo acilo).
E	1.94 – 2.14	-CH ₂ -CH=CH- (grupos acilo).
F	2.23 – 2.36	-OCO-CH ₂ - (grupo acilo).
G	2.70 – 2.84	=HC-CH ₂ -CH= (grupos acilo).
H	4.10 – 4.32	-CH ₂ OCOR (Grupo gliceril).
I	5.20 – 5.26	CHOCOR (Grupo gliceril).
J	5.26 – 5.40	-CH=CH- (Grupo acilo).

Fuente: Guillén y Goicoechea, 2009.

La Figura 43 es una expansión de la región entre 5.6 y 6.8 ppm del espectro ^1H RMN del aceite de maíz puro “La Barca”; se puede apreciar una ligera aparición de señales en algunos de los aceites como son los de los tratamientos 5, 11, 14 y 16 con respecto al espectro de la muestra control, el cual no fue sometido a ningún tratamiento. Estas señales indican la presencia de compuestos producto de la

oxidación de los lípidos y de acuerdo a (Guillén y Ruiz, 2001) que mencionan que en aceites comestibles oxidados las señales entre 5.30 y 6.58 ppm corresponden a protones de sistemas dieno conjugados, principalmente cerca de 6.25, 6.00 y 5.75 ppm. La presencia de estos compuestos se confirma con las señales observadas en la Figura 43.

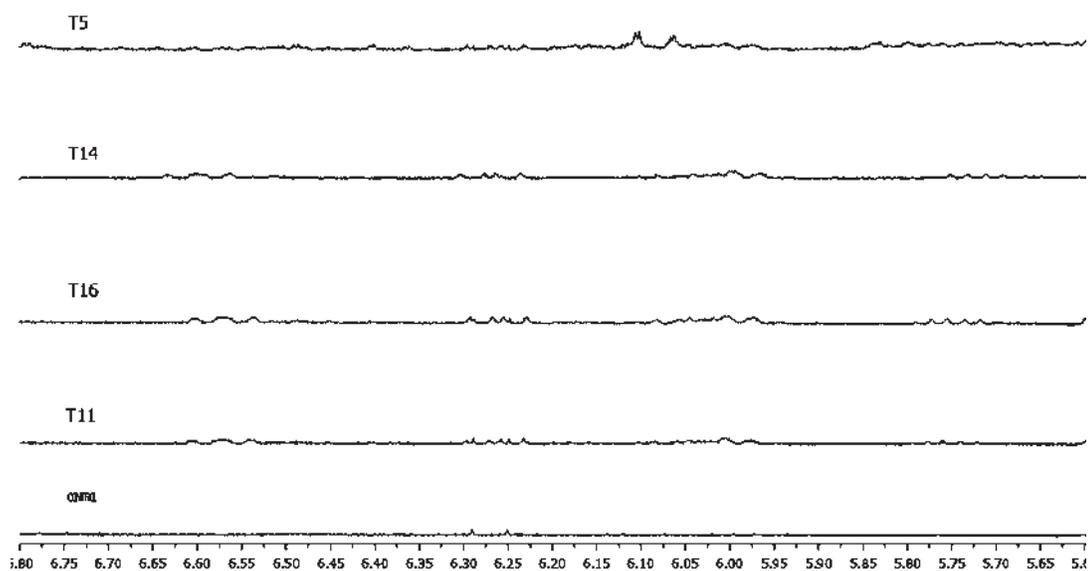


Figura 43. Expansión de la región entre 5.6 y 6.8 ppm del espectro ¹H RMN de aceite de maíz puro “La Barca”.

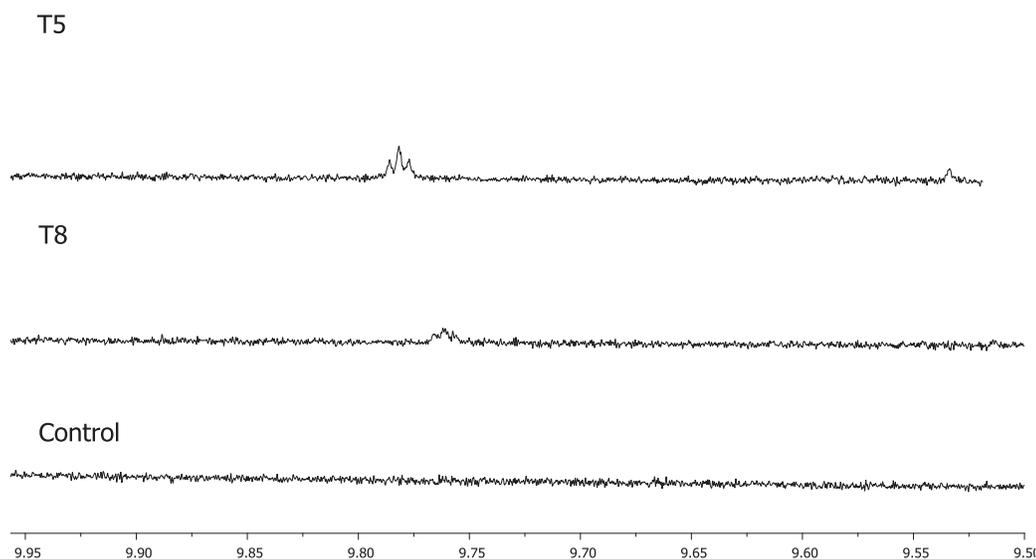


Figura 44. Expansión de la región entre 9.5 y 9.95 ppm del espectro ¹H RMN de aceite de maíz puro "La Barca".

La Figura 44 muestra una expansión de la región entre 9.5 y 9.95 ppm, aquí podemos observar algunas pequeñas señales que aparecen en esta región del espectro como productos secundarios de la oxidación del aceite de maíz, particularmente hablando de algunos tipos de aldehídos que de acuerdo con (Guillén y Goicoechea, 2009) en aceite de maíz oxidado se presentan señales de protones de los aldehídos en la región espectral de 9.3 a 10 ppm, en la región cercana a 9.748 ppm según lo señalan estos mismos autores, aparece una señal de triplete correspondiente a protones aldehídicos que incluso son considerados como genotóxicos y citotóxicos. Lo anterior concuerda con lo mostrado en la Figura 44 en donde se pueden ver unas pequeñas señales de triplete en la región entre 9.75 y 9.8 ppm para los tratamientos 8 y 5 lo cual indica la oxidación de

algunos ácidos grasos insaturados para dar origen a la formación de estos compuestos productos secundarios de la oxidación de los lípidos, y donde también se puede observar que en el espectro de la muestra control no se observa ningún tipo de estas señales en esta región del espectro. En el año 2005, Guillén y Ruiz, también observaron la presencia de señales correspondientes a protones de diferentes aldehídos en la región espectral de 9.3 a 10 ppm, esto en aceites ricos en ácido oleico como el aceite de oliva, avellana y cacahuate, los cuales fueron sometidos a un proceso de oxidación calentándolos a 70°C en un ambiente de aire circulante.

De acuerdo a la disminución de la intensidad de la señal G de la Figura 40 se estableció el porcentaje relativo de disminución de esta señal que corresponde casi de manera exclusiva al ácido linoleico, y mediante la metodología de superficie de respuesta se obtuvieron las gráficas de las Figuras 45 y 46 en donde aunque las condiciones del proceso no mostraron un efecto estadísticamente significativo ($P < 0.05$), se puede ver en la Figura 45 que a concentraciones elevadas de hidróxido de calcio y tiempos prolongados de reposo el % relativo de descomposición del ácido linoleico se vio aumentado; en lo que respecta a la Figura 46 se observa que la combinación de las condiciones de proceso a tiempos prolongados de reposo y conforme avanzaron los días de almacenamiento el ácido linoleico tuvo reacciones de oxidación lo cual modificó su estructura para dar origen a productos primarios y secundarios de degradación ya que se ve una tendencia de aumento en el porcentaje de descomposición de dicho ácido graso.

Caracterización de la oxidación de lípidos extraídos de harinas de maíz instantáneas nixtamalizadas sometidas a condiciones de almacenamiento. TELLO-SANTILLÁN, 2011.

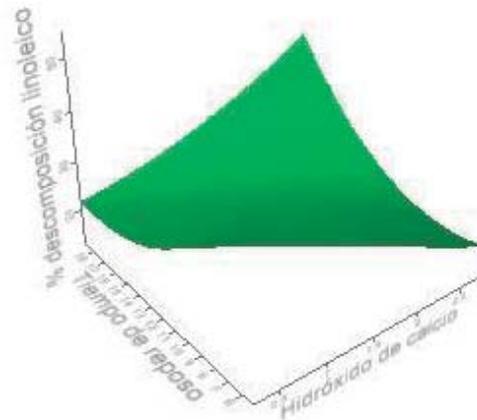


Figura 45. Porcentaje de descomposición del ác. linoleico en función del hidróxido de calcio (%) y tiempo de reposo (h).

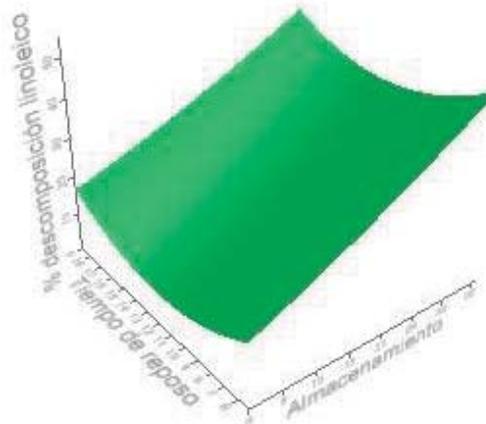


Figura 46. Porcentaje de descomposición del ác. linoleico en función del tiempo de reposo (h) y días de almacenamiento.

9.0 CONCLUSIONES

- La calidad del grano de maíz se define tanto por las propiedades físicas del grano como por su composición química. Al evaluar las propiedades fisicoquímicas del grano de maíz “La Barca” se estableció que es un grano de calidad comercial para la elaboración de productos de maíz nixtamalizado, como las tortillas y sus derivados.
- A este maíz se le determinó un porcentaje de lípidos de 5.87%, de los cuales, esta conformado principalmente por ácido linoleico, que es considerado como un ácido graso esencial ya que cumple funciones muy importantes para el desarrollo del ser humano.
- Mediante el índice de yodo se observó una tendencia de disminución del mismo, por efecto de las condiciones de proceso, lo que indicó que los ácidos grasos insaturados sufrieron modificaciones en su estructura y por lo tanto la pérdida de sus propiedades funcionales.
- FTIR no fue una técnica muy sensible para la evaluación de la estabilidad oxidativa del aceite, sin embargo, se pudieron ver algunas pequeñas diferencias en los aceites de los tratamientos, esto en la señal del espectro a 3009 cm^{-1} , que esta directamente relacionada con el grado de insaturación de los ácidos grasos insaturados.
- Mediante la técnica de UV/Vis se pudo ver la presencia de compuestos hidroperóxido que son productos primarios de oxidación de los lípidos y que absorben a longitudes de onda de 232 nm.
- La técnica más precisa es sin duda la RMN donde pudimos observar claramente la formación de compuestos producto de la oxidación de los lípidos como son sistemas dieno conjugados y aldehídos, por efecto de las condiciones de proceso.

10.0 REFERENCIAS.

- AACC. 2000. American Association of Cereal Chemists. Approved Methods. 10th edition. Ed. by the American Association of Cereal Chemists. Minneapolis, MN, USA.
- AOAC. 1990. Official methods of analysis. Ed. Association of Official Analytical Chemistry. Washington, D.C. U.S.A.
- Ayala, R.A.E., Gutierrez D.R., Milán, C.J., Mora, R.S., López, V.J.A., Valdez, O. A., Paredes L.O. y Reyes, M.C. 2008. Nixtamalised flour and tortillas from transgenic maize (*Zea mays L.*) expressing amarantin: Technological and nutritional properties. *Food Chemistry*, 114: 50-56.
- Badui, D.S.. 2006. Lípidos. En: *Química de los alimentos*. Cuarta edición. Editorial Pearson educación., pp. 245-297.
- Baran, Önal Ulusoy, İhsan Karabulut, Semra Turan. 2004. Performance of some edible oils during heating in a steam pressure cooker. *Journal of Food Lipids*, 11: 234-241.
- Becerra-Eguía K.D., Arámbula, V.G., Gutierrez, A.E. 2008. Relación entre el tiempo de nixtamalización del grano de maíz y características del nixtamal, y la dureza y humedad del grano crudo. *Memorias del 3er. Congreso de nixtamalización*, Querétaro, Qro. México. P.p. 71–74.
- Bello-Pérez L.A., Osorio, D.P., Agama, A.E., Núñez, S.C. y Paredes L.O. 2002. Propiedades químicas, fisicoquímicas y reológicas de masas y harinas de maíz nixtamalizado. *Agrociencia*, 36: 319-328.
- Carey, F.A. 1999. *Química Orgánica*. Tercera edición. En: *Espectroscopia*. Editorial Mc Graw Hill., 454-484 pp.

- Castro, G.M.I.. 2002. Ácidos grasos Omega 3: Beneficios y fuentes. *Interciencia*, 27 (3): 128-136.
- Cervantes-Guerrero S. Y., Arámbula, V. G., Escalante, A. A., Andrio, E. E. 2008. Características del grano y las tortillas producidas a partir de diferentes razas de maíz mexicanas. *Memorias del 3er. Congreso de nixtamalización*, Querétaro, Qro. México. P.p. 75–78.
- Cetin, I., Gioia, A., Cardellicchio, M. 2009. Long chain fatty acids and dietary fats in fetal nutrition. *The Journal of Physiology*, 587 (14): 3441-3451.
- Chaiyasit, W., Elias, R.J., McClements, D.J., Decker, E.A. 2007. Role of physical structures in bulk oils on lipid oxidation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47 (3):299-317.
- Choe E. and Min D. B. 2006. Mechanisms and factors for edible oils oxidation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5:169-186.
- Christie, W.W. 1982. *Lipid analysis*. 2nd Edition. Pergamon Press., pp. 44,80-81
- Coronado, M., Vega, S., Gutierrez, R., García, B., Díaz, G. 2006. Los ácidos grasos Omega-3 y Omega-6; *Nutrición, Bioquímica y Salud. Revista de Educación Bioquímica*, 25 (3): 72-79.
- Danowska-Oziewicz, M., Karpinska-Tymoszczyk, M.. 2005. Quality changes in selected frying fats during heating in a model system. *Journal of food Lipids*, 12:159-168.
- Farhoosh, R., Javad, T., Mohammad, H.H.K. 2008. Chemical composition and oxidative stability of kernels oils from two current subspecies of *pistacia atlantica* in Iran. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 85:723-729.

Caracterización de la oxidación de lípidos extraídos de harinas de maíz instantáneas nixtamalizadas sometidas a condiciones de almacenamiento. TELLO-SANTILLÁN, 2011.

FAO. 1993. “El maíz en la nutrición humana” <http://www.fao.org/docrep/t0395s/t0395s00.htm> (Accesada en Febrero de 2011).

Fennema, O.R. 2000. Lípidos. En: Química de los Alimentos. Editorial ACRIBIA., 305-334 pp.

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

Flores Farías R., Martínez Bustos F., Salinas Moreno Y., Ríos E. 2002. Caracterización de harinas comerciales de maíz nixtamalizado. *Agrociencia* 36: 557-567.

Fox, M.A., Whitesell, J.K. 2000. Cromatografía y espectroscopia. En: Química Orgánica. Segunda edición. Editorial Pearson Educación, 191-200 pp.

García, M.S. 2004. Estudio nutricional comparativo y evaluación biológica de tortillas de maíz elaboradas por diferentes métodos de procesamiento. Tesis de Maestría en Ciencias en Tecnología Avanzada. Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada, IPN; Querétaro, México.

Gaytan, M.M.. 2004. Evaluación y validación de métodos para la clasificación de calidad alimentaria en maíces criollos. Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Coahuila. Saltillo, Coahuila. México.

Gómez, A.S., Mancebo, C.V., Desamparados, S.M., Fregapane, G. 2004. Oxidation kinetics in olive oil triacylglycerols under accelerated shelf-life testing (25-75 °C). *European Journal of Lipid Science And Technology*, 106: 369-375.

- 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.
- 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. *JAOCS* 80 (8): 755-762.
- Guillén M. D. y Ruiz A. 2005. Study by proton nuclear magnetic resonance of the thermal oxidation of oils rich in oleic acyl groups. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 82:349-355.
- Guillén, M.D., 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.
- Gutierrez, P.H., De La Vara, S.R. 2008. Análisis y diseño de experimentos. Segunda edición. En: Optimización de procesos con metodología de superficie de respuesta. Editorial Mc Graw Hill, 386-419 pp.
- Hemming, F.W., Hawthorne, J.N. 2008. *Lipid Analysis*. Editorial Taylor and Francis, 32-35 pp.
- Kamal-Eldin, A., Pokorny, J. 2005. Lipid oxidation products and methods used for their analysis. En: *Analysis of lipid oxidation*. Editores: Afaf Kamal-Eldin, Jan Pokorny. AOCS press. Champaign, Ill. USA. 1-7 pp.
- Kapoor R., Reaney M., Neil D. W. 2005. Conjugated linoleic acid oils. *Bailey's Industrial oils and fat products*, sixth edition, six volume set. 22 pp.

- Kitajka, K., Sinclair, A., Sinclair, J., Weisinger, R.S., Weisinger, H.S., Mathai, M., Jayasooriya, A.P., Halver, J.E., Puskás, L.G. 2004. Effects of dietary omega-3 polyunsaturated fatty acids on brain gene expression. *The Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101:10931-10936.
- Martínez-Flores, H.E., Martínez-Bustos, F., Figueroa, J.D.C., González-Hernández, J. 2002. Nutritional studies and biological assays in corn tortillas made from fresh masa prepared by extrusion and nixtamalization processes. *Journal of food science*, 67:1196-1199.
- Martínez-Flores, H.E., Garnica-Romo, M.G., Romero, V.J.U., Yahuaca, J.B. 2006. Evaluating the quality of lipids during alkaline cooking of corn. *Journal of Food Lipids*, 13:177-185.
- Muik B., Lendl B., Molina D. A., Ayora C. M. J. 2005. Direct monitoring of lipid oxidation in edible oils by Fourier transform Raman spectroscopy. *Chemistry and Physics of lipids*. 134: 173-182.
- 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.
- Papadopoulou, D., Roussis, G.I. 2008. Inhibition of corn oil by N-acetyl-cysteine and glutathione. *Food Chemistry*, 109:624-629.
- Parker-Barnes, J.M., Das, T., Bobik, E., Leonard, A.E., Thumond, J.M., Chung, L-T., Huang Y-S., Mukerji, P.. 2000. Identification and characterization of an enzyme involved in the elongation of n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids. *The Proceedings of the National Academy of Sciences*, 15: 8284-8289.

Paz. A. I., Molero M. M. 2000. Aplicación de la espectrofotometría UV-visible al estudio de la estabilidad térmica de aceites vegetales comestibles. Grasas y aceites Vol. 51. Fasc. 6, 424-428.

Pflugfelder, RL., Rooney, LW., Waniska RD. 1988. Fractional and composition of commercial corn masa. Cereal Chemistry, 65:262-266.

Prosky, L., Asp, N.G., Schweizer, T.F., Devries, J.W., Furda, I. 1998. Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods and food products: interlaboratory study. Journal of the Association of Analytical Chemistry 71:1017-1023.

Rodríguez-García, M.E., Serna-Saldivar, S.O., Sánchez-Sinencio, F. 2008. Nixtamalización, del maíz a la tortilla. Aspectos nutrimentales y toxicológicos. Editorial Universidad Autónoma de Querétaro. México.

Romero, V.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.

Russo, G.L. 2009. Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids: From biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. Biochemical Pharmacology, 77:937-946.

Salinas M. Y., Arellano V. J.L., Martínez B. F., 1992. Propiedades físicas, químicas y correlaciones de maíces híbridos precoces para valles altos. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, Vol. 42, No. 2, 161-167.

SanGiovanni, J.P., Chew, E.Y. 2005. The role of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in health and disease of the retina. Progress in Retinal and Eye Research, 24:87-138.

- Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A. 2001. Principios de Análisis Instrumental. Quinta edición. Editorial Mc Graw Hill. 435-437pp.
- 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.
- Verardo, V., Ferioli, F., Riciputi, Y., Lafelice, G., Marconi, E., Fiorenza, C.M. 2009. Evaluation of lipid oxidation in spaghetti pasta enriched with long chain n-3 polyunsaturated fatty acids under different storage conditions. Food Chemistry, 114: 472-477.
- 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.
- Watson, A. S. y Ramstad, E. D. 1987. Structure and composition. In Corn: Chemistry and Technology. Ed. Published by the American Association of Cereal Chemist. Inc St. Paul, MN.
- Yañez, O.Y. 2005. Nixtamalización por extrusión de las fracciones del grano de maíz para la obtención de las 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.
- Yeonhwa, Park. 2009. Conjugated linoleic acid (CLA): Good or bad trans fat?. Journal of Food Composition and Analysis, 22S:S4-S12.