



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE  
HIDALGO**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**



**FACULTAD DE QUIMICO FARMACOBIOLOGIA**

**PROGRAMA INSTITUCIONAL DE MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ÁREA TEMÁTICA EN BIOTECNOLOGÍA ALIMENTARIA**

**“EFECTO DEL PROCESO DE NIXTAMALIZACIÓN POR INFRARROJO  
SOBRE EL CONTENIDO DE AFLATOXINAS EN LAS TORTILLAS DE MAÍZ”**

**TESIS**

Que presenta

**Q.F.B. Anai Zavala Franco**

Para obtener el título de

**Maestra en Ciencias Químicas**

Asesor: Doctor en ciencias con especialidad en biotecnología y bioingeniería

**Héctor Eduardo Martínez Flores**

Co-asesor: Doctor en ciencias de los materiales

**Abraham Méndez Albores**

Morelia, Michoacán.

Marzo de 2015



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
*Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas*

---

DR. HÉCTOR GUILLÉN ANDRADE  
COORDINADOR GENERAL DEL PROGRAMA INSTITUCIONAL DE  
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
P R E S E N T E

Por este conducto nos permitimos comunicarle que después de haber revisado el manuscrito final de la Tesis Titulada: “Efecto del proceso de nixtamalización por infrarojo sobre el contenido de aflotoxinas en las tortillas del maíz”, presentado por la Q.F.B. Anai Zavala Franco, consideramos que reúne los requisitos suficientes para ser publicado y defendido en Examen de Grado de Maestro en Ciencias.

Sin otro particular por el momento, reiteramos a usted un cordial saludo.

ATENTAMENTE  
Morelia, Michoacán, a 19 febrero de 2015

MIEMBROS DE LA COMISIÓN REVISORA

Dr. Héctor Eduardo Martínez Flores  
Director

Dr. Abraham Méndez Albores  
Co director

Dr. Rosalío Mercado Camargo

Dra. Rosa Elena Pérez Sánchez

Dr. Juan José Valdez Alarcón

La presente investigación, en una de sus partes, se realizó en el Laboratorio de Investigación y Desarrollo de Alimentos de la Facultad de Químico Farmacobiología perteneciente a la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, bajo la asesoría del Dr. Héctor Eduardo Martínez Flores.

La parte experimental de la investigación se realizó en el Laboratorio 14 de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, perteneciente a la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección del Dr. Abraham Méndez Albores.

*Pero ahora estoy solo yo aquí, intentando acertar el camino y seguir, con mi  
sangre y mi voz, con mi estúpida voz...*

*N.V.*

*Para Juana, mi madre.*

*Para Jaime, mi padre.*

*Por todo su apoyo siempre.*

*Los quiero mucho.*

## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Héctor, por aceptarme como su alumna y enseñarme a convivir con el maravilloso mundo de la investigación, por tantas cosas, por la paciencia, por el apoyo y por ayudarme en mi formación profesional. Infinitas gracias.

Al Dr. Abraham, por recibirme en su laboratorio, por sus regaños que ayudaron a que creciera personal y profesionalmente, por sus consejos, por su apoyo, por su paciencia y por estar ahí siempre. Infinitas gracias.

A la Dra. Alma, por brindarme su amistad, por ayudarme a creer en todos los sentidos, por su apoyo incondicional. Por hacer que el laboratorio se convierta en un hogar. Infinitas gracias.

Al Dr. Rosalio, la Dra. Rosa Elena y al doctor Juan José, porque a lo largo de mi formación como maestra en ciencias, ustedes han estado ahí para orientarme, darme consejos y corregirme.

A mi familia: mis padres, Juana y Jaime, a mis hermanas, Pilar, Abigail y Xóchitl y a mis sobrinos, Iván y Gustavo. Gracias por ser eso, mi familia.

A todos los del LIDA que han estado ahí para apoyarme en lo que necesito. Muchísimas gracias.

A Eunice, porque tú más que nadie sabe todo lo que he pasado y ahí estás, enojada, estresada o feliz, pero siempre ahí. Muchas gracias por todo.

A todos mis compañeros de la maestría, fue muy agradable conocerlos, convivir y pasar por tantas cosas juntos. Robe, gracias por todo.

A todos los del Lab. 14, por contribuir a mi crecimiento, en todos los sentidos.

A Marylus y Sam, gracias por brindarme su amistad, por ayudarme en todo lo que estuvo en sus manos. Muchas gracias por todo.

A todos los de la UIM que tuve el placer de conocer, por ayudarme en lo que estuvo en sus manos poder ayudar.

A todos los de la UNIGRAS, que me apoyaron en la realización de mi experimento, un placer trabajar con ustedes.

A Amira y todos los que me ayudaron en el laboratorio de Química Orgánica, fue un placer estar colaborando con ustedes.

A Natalia. No me imagino cómo sería mi vida sin ti, porque eres de esas personas que siempre está ahí, a pesar de todo tu sufrimiento. Ya no podré imaginarme sin ti, más bien empezaré a vivirlo, pero sé que estás mejor allá arriba. Y te alcanzaré, así que espérame.

A Ana Laura (Aradia), Nancy, Sonia, Sofía, Alejandro, Edgar (Lacolz), Rocío los que me falte poner aquí. Gracias por su amistad, no se mueran nunca.

A los BM's, que aunque ya cada uno haya tomado caminos distintos, aún aparecen de vez en cuando para continuar con la maravillosa amistad que tenemos.

A Yared. Aunque de repente desapareces, sé que puedo contar contigo. Gracias por tu amistad.

A Doña Ceci. Gracias por brindarme una amistad tan bonita, ya sabe que en cualquier momento pasaré por su casa, para que me de consejos. Y a Óscar, por la amistad que se ha ido consolidando con los años y las vivencias en nuestros mundos, pero que de vez en cuando se juntan y coincidimos. Gracias.

Y a todas las personas que forman parte del mismo tiempo-espacio y que hemos coincidido, que me han ayudado y de alguna forma han contribuido para convertirme en la persona que soy.

# ÍNDICE

LISTA DE TABLAS.....	IX
LISTA DE FIGURAS .....	IX
RESUMEN.....	X
ABSTRACT .....	XI
ABREVIATURAS.....	XII
1. ANTECEDENTES .....	1
1.1. ORIGEN DEL MAÍZ.....	1
1.2. IMPORTANCIA DEL MAÍZ EN MÉXICO .....	2
1.3. LAS MICOTOXINAS .....	3
1.4. LAS AFLATOXINAS.....	7
1.4.1. Control de aflatoxinas .....	13
1.4.1.1. Control del hongo .....	13
1.4.1.2. Descontaminación de las aflatoxinas .....	16
1.5. LA NIXTAMALIZACIÓN.....	18
1.5.1. Cambios en el grano de maíz durante la nixtamalización .....	19
1.5.2. Procesos alternativos de nixtamalización.....	21
1.6. RADIACIÓN INFRARROJA .....	22
1.6.1. Aplicaciones de la radiación infrarroja en los procesos alimenticios.....	24
2. JUSTIFICACIÓN.....	26
3. HIPÓTESIS .....	26
4. OBJETIVOS .....	27
4.1. GENERAL.....	27
4.2. PARTICULARES .....	27
5. MATERIALES Y MÉTODOS .....	28
5.1. CARACTERIZACIÓN FÍSICA DEL GRANO DE MAÍZ .....	28
5.1.1. Tamaño del grano .....	28
5.1.2. Peso de 1000 granos.....	28
5.1.3. Peso hectolítrico .....	28
5.2. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS.....	29
5.2.1. Humedad.....	29
5.2.2. pH.....	30
5.2.3. Calcio y fósforo .....	30

5.2.4.	Color .....	30
5.3.	INOCULACIÓN DEL GRANO DE MAÍZ Y OBTENCIÓN DE TORTILLAS .....	31
5.3.1.	Inoculación del maíz .....	31
5.3.2.	Nixtamalización .....	32
5.3.2.1.	Proceso de nixtamalización tradicional (PNT) .....	32
5.3.2.2.	Proceso de nixtamalización por infrarrojo (PNIR) .....	32
5.3.3.	Elaboración de las tortillas .....	34
5.3.4.	Determinación de aflatoxinas .....	34
5.3.4.1.	Extractos acidificados .....	35
5.4.	EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES DE CALIDAD DE LAS TORTILLAS DE MAÍZ.....	35
5.4.1.	Rolabilidad .....	35
5.4.2.	Grado de inflado .....	35
5.4.3.	Pérdida de peso durante la cocción .....	36
5.5.	DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	36
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	37
6.1.	GRANO DE MAÍZ (AS-900).....	37
6.1.1.	Propiedades físicas .....	37
6.1.2.	Propiedades fisicoquímicas .....	39
6.2.	NEJAYOTE.....	41
6.3.	MASA .....	43
6.4.	TORTILLAS.....	45
6.4.1.	Propiedades fisicoquímicas .....	45
6.4.2.	Contenido de calcio y fósforo .....	47
6.4.3.	Propiedades de color .....	48
6.4.4.	Propiedades de calidad .....	50
6.5.	CONTENIDO DE AFLATOXINAS EN EL NEJAYOTE, LA MASA Y LAS TORTILLAS .....	52
7.	CONCLUSIONES.....	59
8.	RECOMENDACIONES.....	59
9.	REFERENCIAS .....	60



## LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Consumo de tortilla en zonas rurales y urbanas .....	3
Tabla 2 Micotoxinas de importancia y productos en los que comúnmente se encuentran. ....	4
Tabla 3 Propiedades físicas del grano de maíz (AS-900) .....	37
Tabla 4 Propiedades fisicoquímicas del grano de maíz (AS-900).....	39
Tabla 5 Propiedades fisicoquímicas del nejayote.....	43
Tabla 6 Propiedades fisicoquímicas de la masa .....	44
Tabla 7 Propiedades fisicoquímicas de las tortillas .....	46
Tabla 8 Contenido de calcio y fósforo en las tortillas .....	47
Tabla 9 Propiedades de color de las tortillas.....	49
Tabla 10 Propiedades de calidad de las tortillas. ....	51
Tabla 11 Contenido de aflatoxinas en la masa.....	52
Tabla 12 Contenido de aflatoxinas en las tortillas. ....	54
Tabla 13 Parámetros de validación de los modelos matemáticos.....	56

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diferencias y semejanzas de la planta del maíz con el teocintle.....	2
Figura 2. Estructura de las aflatoxinas .....	9
Figura 3. Activación y formación de aductos de la AFB1 con el ADN .....	12
Figura 4. Calentamiento por radiación infrarroja .....	23
Figura 5. Espectro electromagnético .....	24
Figura 6. Horno infrarrojo comercial. ....	33
Figura 7. Parámetros del color. ....	40
Figura 8. Interacción entre las moléculas de almidón y el hidróxido de calcio. ....	48
Figura 9. Mecanismo de degradación de AFB1 en medio alcalino.....	55
Figura 10. Efecto de los procesos de nixtamalización tradicional (A) e infrarrojo (B) en el contenido de aflatoxinas en las tortillas como función del contenido inicial de aflatoxinas en el maíz.....	56

## RESUMEN

El maíz es el cultivo más importante en México; sin embargo es susceptible a la contaminación por hongos toxígenos, principalmente el *Aspergillus flavus*, el cual produce toxinas con características mutágenas, genotóxicas, teratógenas e inmunosupresoras, denominadas aflatoxinas. Un método eficaz para la reducción del contenido de aflatoxinas es el proceso de nixtamalización tradicional (PNT), aunque presenta algunos problemas de tipo ecológico y nutricional, por lo que se han buscado procesos alternos que reduzcan estos problemas. Recientemente se desarrolló el proceso de nixtamalización por infrarrojo (PNIR), con el que se obtuvieron tortillas con mejores características nutricionales y de textura, además de generar menor cantidad de residuos sólidos en el nejayote. A la fecha, el PNIR no había sido evaluado en cuanto a su efectividad al procesar maíces contaminados con aflatoxinas; consecuentemente, en este trabajo se evaluó el efecto del PNIR sobre el contenido de aflatoxinas (CA) al procesar maíces contaminados con 173 ng g<sup>-1</sup> (CA1) y 370 ng g<sup>-1</sup> (CA2) respectivamente. Al utilizar el PNIR se produjeron tortillas con contenidos de aflatoxinas de 50 y 100 ng g<sup>-1</sup> para el CA1 y el CA2 respectivamente (p<0.05), lo que representó un 71 y 73% de degradación. Además, se utilizó un modelo matemático para estimar el contenido de aflatoxinas en las tortillas como una función del contenido inicial de aflatoxinas en el grano de maíz utilizando un modelo lineal, encontrando que el contenido máximo de aflatoxinas en el maíz inicial cuando se pretende procesar con el PNIR, puede ser de hasta 44 ng g<sup>-1</sup>. Al acidificar los extractos de aflatoxinas provenientes de las tortillas de ambos métodos (a pH 3, simulando el pH estomacal durante la digestión), no hubo reconversión de la estructura original de las toxinas, por el contrario, se encontró una degradación extra. Los resultados sugieren que el PNIR es un método eficaz para reducir el contenido de aflatoxinas en las tortillas.

Palabras clave: *Zea mays* L, *Aspergillus flavus*, micotoxinas, proceso térmico-alcalino, degradación.

## ABSTRACT

The maize is the most important crop in Mexico, however, is very susceptible to contamination by toxigenic fungi, mainly *Aspergillus flavus*, which produces toxins with features mutagenic, genotoxic, teratogenic and immunosuppressive, called aflatoxins. An efficient method for aflatoxin reduction is the traditional nixtamalization process (TNP), although present serious ecological and nutritional problems. However, the search for new technologies has been focused in remedy these problems. Recently the infrared nixtamalization process (IRNP) has been developed, providing tortillas with multiple advantages as best nutritional and texture characteristics, as well as less solids of nejayote. To date, the IRNP had not been evaluated in effectiveness for process maize contaminated with aflatoxins. Consequently, in the present research was evaluated the effect of IRNP on the fate of aflatoxins when using maize contaminated with two aflatoxin content (AC): the first of 173 ng g<sup>-1</sup> (AC1) and the second of 370 ng g<sup>-1</sup> (AC2). By using IRNP, were obtained tortillas with AC of 50 and 100 ng g<sup>-1</sup> corresponding to AC1 and AC2, with degradation rates of 71% and 73% respectively (p<0.05). Furthermore, was used a mathematical model to estimate AC in tortillas as a function of the initial AC in maize grain using a linear model, finding the maximum AC in the initial maize can be up to 44 ng g<sup>-1</sup>. Acidifying the aflatoxin extracts from tortilla of both nixtamalization processes (pH = 3, similar to the human stomach during the digestion), indicates that the aflatoxin reduction was not permanent; on the contrary, an extra reduction in the aflatoxin content was observed. These results suggest that IRNP is a process effective in reducing the AC in tortillas.

Key words: *Zea mays* L., *Aspergillus flavus*, mycotoxins, alkaline-heating process, degradation.

## ABREVIATURAS

°C	Grados Celsius
µg	Microgramos
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AF	Aflatoxina
AFB1	Aflatoxina B1
AFB2	Aflatoxina B2
AFG1	Aflatoxina G1
AFG2	Aflatoxina G2
ANDEVA	Análisis de varianza
C*	Croma
Ca(OH) <sub>2</sub>	Hidróxido de calcio
CA1	Contenido de aflatoxinas 1 (173 ng g <sup>-1</sup> )
CA2	Contenido de aflatoxinas 2 (370 ng g <sup>-1</sup> )
Ca <sup>2+</sup>	Iones calcio
CIA	Columna de inmunoafinidad
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
CTL	Control
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
g	Gramo
h	Hora
HCl	Ácido clorhídrico
hl	Hectolitro
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
Hz	Hercio
IARC	Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer
IR	Infrarrojo

kg	Kilogramo
KHP	Ftalato ácido de potasio
l	Litro
L	Luminosidad
mg	Miligramo
min	Minuto
ml	Mililitro
mm	Milímetro
N	Normalidad
N <sub>2</sub>	Nitrógeno
NaOCl	Hipoclorito de sodio
O <sub>2</sub>	Oxígeno
O <sub>3</sub>	Ozono
p/p	Peso/peso
pH	Potencial hidrógeno
PNIR	Proceso de nixtamalización por cocimiento infrarrojo
PNT	Proceso de nixtamalización tradicional
s	Segundo
SAGARPA	Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación
ton	Toneladas
UNIGRAS	Unidad de Investigación de Granos y Semillas de la UNAM
USDA	Departamento de Agricultura de los Estados Unidos
UV	Ultravioleta
v/v	Volumen/volumen
W	Watt
ΔE	Diferencia total de color entre una muestra y su referencia

# 1. ANTECEDENTES

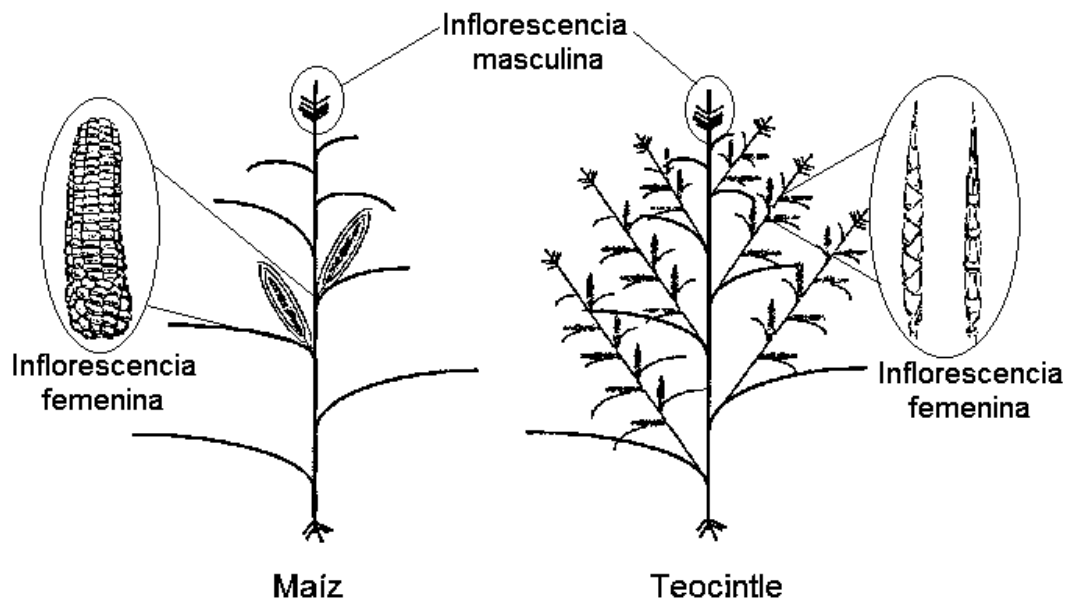
## 1.1. ORIGEN DEL MAÍZ

Los cereales pertenecen a la familia botánica de las gramíneas, cuyo principal objetivo al cultivarlos es el de aprovechar su semilla o grano (Sala y Barroeta, 2003). Todos los cereales presentan una estructura morfológica similar y propia a la vez, siendo el pericarpio, el endospermo y el embrión o germen las estructuras similares para todos ellos. Los cereales más conocidos son el arroz, trigo, cebada, sorgo, avena, centeno y maíz (Ospina-Machado, 2001).

A pesar de que el maíz es uno de los cereales con una enorme relevancia en todo el mundo, su origen continúa siendo incierto. México se ha posicionado como el candidato más fuerte para ser la región en donde se originó el maíz, teoría que es apoyada por diversos hallazgos arqueológicos, además de que es la única región en que han coexistido desde tiempos prehispánicos el maíz y el que se menciona como su ancestro directo: el teocintle (Paliwal et al., 2001).

El teocintle (*Zea mays ssp. parviglumis*) y el maíz (*Zea mays* L.) son similares en cuanto a la localización de las inflorescencias: la inflorescencia masculina en posición terminal y la inflorescencia femenina en la mazorca (en el caso del maíz) o la espiga (en el teocintle), ocupan una posición lateral en la planta (Wilkes, 1995). Sin embargo, la diferencia más notable entre uno y otro radica en que la semilla individual del teocintle está encerrada en una cápsula capaz de desarticularse y caer, provocando la autosiembra, mientras que los granos de maíz no presentan cápsula, se soportan en la mazorca y están cubiertos por las hojas, lo que provoca que el grano no se disperse y que sea necesaria la intervención del hombre para su propagación (Wang et al., 2005). Estas diferencias se ilustran en la Figura 1. La forma de reproducción del teocintle llevó a Beadle (1939) a proponer al teocintle como antecesor del maíz, ya que la hibridación con el maíz se lleva a cabo con facilidad y los híbridos resultantes son relativamente fértiles. Otros autores apoyados de estudios

genéticos y morfológicos, apoyan esta teoría (Wilkes, 1977; Doebley et al., 1990a,b).



**Figura 1. Diferencias y semejanzas de la planta del maíz con el teocintle.**

Aunque existen diversas bases que podrían llevar a asegurar que el maíz es la forma domesticada del teocintle, aún se tienen muchas incógnitas que deben resolverse para poder afirmar esta teoría, aunque se espera que con el avance de la tecnología y técnicas más sensibles, se llegue a un acuerdo general acerca del verdadero origen del maíz.

## **1.2. IMPORTANCIA DEL MAÍZ EN MÉXICO**

El maíz es uno de los principales granos que se producen en todo el mundo y según el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA, por sus siglas en inglés), la producción total para el año 2013 fue de 988.6 millones de toneladas (USDA, 2014). Esto coloca al maíz en el primer lugar de producción

entre los cereales, con un 39%, seguido del trigo con un 30% y del arroz con un 21% (Secretaría de Economía, 2012).

En México, la importancia de este grano se refleja en el total de la superficie sembrada en toda la república mexicana y que en el año 2013 fue de 7 millones 487 mil hectáreas, que representa una producción de 22 millones 664 mil ton con un valor de 76 mil 281 millones de pesos (SAGARPA 2013). Del total de la producción de maíz, 12 millones de ton se destinan para el consumo humano comercial o en otras palabras, la industria harinera de maíz nixtamalizado con el principal propósito de elaborar tortillas, ya que estas son de gran importancia en la dieta de los mexicanos alcanzando un consumo per cápita de 136.2 kg al año (Secretaría de Economía, 2012). El consumo de tortilla es diferente en zonas urbanas y rurales debido a que en las zonas urbanas existe un cambio de hábitos alimenticios provocado por el ritmo de vida y la disponibilidad de comida rápida. En la Tabla 1 se muestra el consumo de tortilla en zonas rurales y urbanas (Secretaría de Economía, 2012):

**Tabla 1 Consumo de tortilla en zonas rurales y urbanas**

Zona	Consumo diario de tortilla por persona (g)	Consumo per cápita de tortilla por año (kg)	Consumo anual de tortilla (millones de pesos)
Rural	217.9	79.5	20,430
Urbana	155.4	56.7	52,052
Total	373.2	136.2	72,482

### **1.3. LAS MICOTOXINAS**

Al cultivar el maíz, la planta se enfrenta a diversos factores de riesgo, como la proliferación de plagas y enfermedades, por lo que la planta completa o una parte de ella puede deteriorarse, causando pérdidas económicas considerables. Uno de estos factores es el crecimiento de hongos. Aproximadamente 100,000



hongos han sido identificados, de los cuales 400 son potencialmente tóxicos y cerca del 5% son productores de compuestos tóxicos o micotoxinas (Bata et al., 1999).

Bauza (2007) define a las micotoxinas como metabolitos secundarios, tóxicos al ser humano y animales, producidos por algunas especies de hongos filamentosos en determinadas condiciones, formados cuando se interrumpe la reducción de los grupos cetónicos en la biosíntesis de ácidos grasos realizada por los hongos y se caracterizan por presentar una elevada toxicidad, cuyos efectos pueden ser carcinógenos, teratógenos, mutágenos y hasta desórdenes de tipo hormonal o inmunosupresor (Sanchis et al., 2000). Son muchos compuestos que han adoptado el nombre de micotoxina, pero sólo hay cinco toxinas de interés para el hombre: desoxinivalenol, zearalenona, ocratoxina A, fumonisina y aflatoxina (Miller, 1994). Estas micotoxinas, así como los productos que normalmente contaminan, se presentan en la Tabla 2 (Bullerman y Bianchini, 2007).

**Tabla 2 Micotoxinas de importancia y productos en los que comúnmente se encuentran.**

<b>Micotoxina</b>	<b>Alimento/producto</b>
Aflatoxinas	Maíz, semillas de algodón, cacahuates, leche
Ocratoxina A	Trigo, granos de café, uvas, pasas
Zearalenona	Maíz
Desoxinivalenol	Trigo, cebada, maíz
Fumonisinas	Maíz

La misma toxina puede ser sintetizada por distintos géneros de hongos y un mismo género puede producir más de un tipo de micotoxina. Es necesario señalar que la presencia del hongo no implica la producción de la micotoxina, pues más allá de la capacidad genética del hongo, es necesario que se cumplan ciertas condiciones para que ésta se pueda producir. Por otro lado, puede haber

micotoxina sin la presencia del hongo, ya que las formas vegetativas y germinativas pueden ser inactivadas o destruidas por diversos tratamientos, pero las toxinas permanecen inalteradas en el sustrato (Bauza, 2007).

La contaminación por micotoxinas en los productos alimenticios se puede presentar durante el desarrollo de la planta, la cosecha, el almacenamiento, el transporte o el procesamiento (Chulze, 2010) y con base en esto, los hongos toxígenos han sido divididos en dos grupos: los que invaden y/o producen las toxinas antes de la cosecha u hongos de campo, que son normalmente hongos hospederos o los que crecen cuando se lleva a cabo alguna interacción biológica, y los que se desarrollan después de la cosecha, conocidos como hongos de almacenamiento, cuyo crecimiento depende de la disponibilidad de nutrientes, factores físicos (como la temperatura y la humedad) y factores bióticos (como los insectos o la competencia). Para que un hongo de almacenamiento pueda crecer, necesita nutrientes y los consigue al entrar a los tejidos de la semilla mediante las lesiones del pericarpio causadas por pájaros, insectos o un mal manejo. El problema del crecimiento de estos hongos durante el almacenamiento es que causan una baja en la germinación de las semillas, decoloración del grano, olores a rancio o agrio, apelmazamiento, cambios químicos, cambios nutricionales y la formación de micotoxinas (Agarwal y Sinclair, 1997). Los principales géneros de hongos que contaminan a los alimentos y que producen micotoxinas de importancia para la salud humana son: *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* (Peraica et al., 1999; Méndez-Albores y Moreno-Martínez, 2009).

Para que el hongo pueda producir micotoxinas se deben cumplir ciertas condiciones, que si bien varían entre cada especie, en general se puede decir que necesitan de una temperatura mayor a 20°C, humedad en el sustrato de 14% y una actividad de agua arriba de 0.7. Si la contaminación ocurre durante el almacenamiento, se debe tener en cuenta que estas condiciones no van a ser constantes en todos los sitios, sino que habrá zonas de humedad, donde el hongo empezará a desarrollarse, provocando un aumento de humedad general en el sustrato y habrá que considerarlo al momento de efectuar algún análisis, sobre todo cuando los efectos toxígenos asociados a la toxina se presentan a bajas concentraciones. Otro factor que favorece la proliferación del hongo es la integridad física de los granos, pues los granos rotos son más susceptibles que

los enteros. Además, la mayor parte de los hongos toxígenos son aerobios, por lo que un alto contenido de CO<sub>2</sub> puede producir la muerte de los hongos y por lo tanto, evitar la síntesis de las micotoxinas (Bauza, 2007).

Si bien la producción de las micotoxinas en los productos alimenticios es relativamente simple por parte de los hongos, la parte crítica es cuando los animales o humanos consumen dicho alimento, provocando una enfermedad denominada micotoxicosis, la cual es el conjunto de efectos tóxicos de las micotoxinas y su severidad depende de la toxicidad de la micotoxina, el tiempo de exposición, la edad, el estado de salud del animal o humano afectado y los efectos sinérgicos de otros compuestos asociados. La intoxicación por micotoxinas puede ser aguda, caracterizada por la ingestión de una gran cantidad de la toxina en un tiempo relativamente corto, o puede ser crónica, proveniente de la exposición a la toxina a bajos niveles durante un largo tiempo. Las micotoxicosis normalmente causan daños a órganos como el hígado, el riñón y los pulmones, aunque también dañan sistemas completos, como el sistema nervioso, endócrino e inmune (Barug et al., 2004).

A pesar de los efectos nocivos que tienen las micotoxinas en la salud animal y humana, no se tiene un plan de acción para su erradicación o control, debido a (Wild y Gong, 2010):

- 1) El conocimiento sobre las micotoxinas y la gravedad de sus efectos a la salud es incompleta y la información generada no es comunicada a la población con alto riesgo de sufrir alguna micotoxicosis.
- 2) La intervención de programas de salud públicos en lugares donde la contaminación de micotoxinas es casi inexistente.
- 3) El control de la contaminación por micotoxinas, aunque es relativamente simple, debe ser multifacética y requiere de numerosas consideraciones pre y pos-cosecha.
- 4) Los lugares con mayor exposición a las micotoxinas son normalmente aquellos en los que la producción total es para autoconsumo, por lo que las recomendaciones llegan a ser totalmente ignoradas.
- 5) El problema de la contaminación con micotoxinas es un tema que concierne a tres sectores: agricultura, salud y economía. Estos sectores

deben estar apoyados por el gobierno para implementar un plan de acción, pero frecuentemente no se recibe apoyo de ningún tipo.

Los puntos anteriores llevan a que el control de las micotoxinas sea deficiente, por no decir ineficiente, en los productos alimenticios consumidos en el país, aunque debería ser un tema de mayor importancia en la seguridad alimentaria, sobre todo considerando que la dieta en México es alta en cereales y como tal, la exposición a las micotoxinas es alta.

#### 1.4. LAS AFLATOXINAS

Hay algunos hongos que representan una amenaza tanto para la producción de alimentos como para la salud de los consumidores. El género *Aspergillus* es uno de ellos y quizá el más importante al ser patógeno para las plantas, los animales y los insectos. Este género está formado por aproximadamente 250 especies reconocidas (Klich, 2007), divididas en 18 grupos y está considerado como un hongo de almacén (Moreno-Martínez, 1988). El género *Aspergillus* incluye hongos de importancia económica; muchos de ellos son utilizados para la fermentación y subsecuente obtención de productos importantes comerciales, como lo son los ácidos orgánicos, las enzimas y los productos para comida oriental (Smith y Henderson, 1991). Además, incluye al *Aspergillus flavus*, especie que representa un peligro potencial para la salud humana, al producir las micotoxinas de mayor impacto en todo el mundo: las aflatoxinas (AF). El nombre de aflatoxinas es la combinación del género y especie del hongo productor, junto a la denominación 'toxina': a=*Aspergillus*, fla=*flavus*, toxina = veneno. *A. flavus* no es la única especie productora de aflatoxinas y junto al *A. nomius* y *A. parasiticus* son las especies que mayormente producen aflatoxinas. Esto no significa que sean las únicas especies que producen las toxinas, sino que hasta 9 especies distintas de *Aspergillus* tienen la capacidad de producir algún tipo de aflatoxina (Varga et al., 2011; Rodrigues et al., 2012).

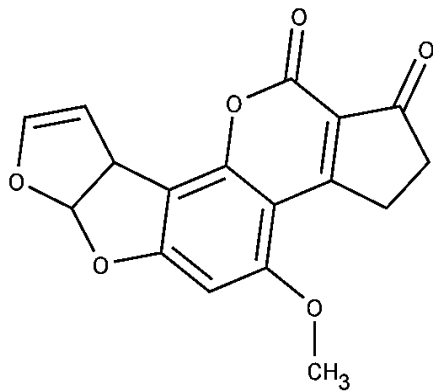
El *A. flavus* crece en el maíz con una actividad de agua de 0.80 a 0.85, temperatura de 20 a 35°C (Giorni et al., 2008), pH de 4 (Davis et al., 1966), es

común en climas cálido-húmedos (Moreno-Martínez, 1988) y su desarrollo contribuye al calentamiento de los granos.

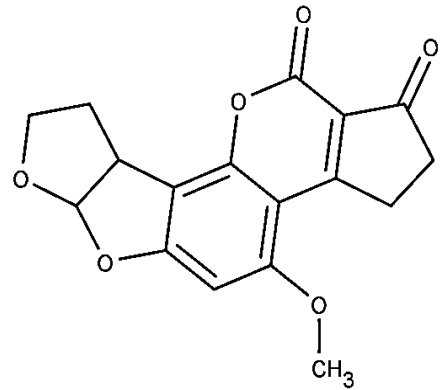
Para que el hongo produzca aflatoxinas, se han reportado diferentes temperaturas óptimas: Schindler et al. (1967) encontraron la máxima producción de aflatoxinas a 24°C, Méndez-Albores et al. (2008a) reportaron una temperatura de 25°C al igual que Klich (2007) y Tédihou et al. (2012) encontraron que 31°C era la temperatura con más producción de aflatoxinas. Todos coinciden en que la incubación es en la oscuridad durante 7 días. Además, el contenido de humedad debe ser del 17 al 19% (Giorni et al., 2008) y el pH de 4 (Davis et al., 1966).

Desde el punto de vista químico, las aflatoxinas son derivados difuranocumarínicos de configuración tipo lactona, común en todas ellas (Soriano del Castillo et al., 2007). Son inodoras, insípidas e incoloras y son extremadamente termorresistentes a las temperaturas de cocción normales de los alimentos (Urrego-Novoa y Díaz, 2006). Su biosíntesis es realmente compleja e involucra muchos factores nutricionales y ambientales, como temperatura, pH, fuentes de C y N<sub>2</sub>, factores estresantes, cantidad de lípidos y trazas de sales metálicas. Estos factores alteran la actividad de las enzimas involucradas en la síntesis y logran expresarse. Además, se sabe que la formación de estos metabolitos secundarios está asociada con el proceso de esporulación y formación de esclerocios, pues las condiciones del medio son similares y ocurren al mismo tiempo (Yu et al., 2002).

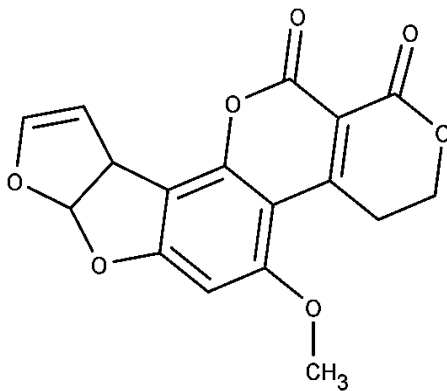
Las aflatoxinas identificadas hasta el momento son 18 (Velazhahan et al., 2010), pero únicamente cuatro existen de manera natural en alimentos y semillas: la B1, la B2, la G1 y la G2 (Figura 2).



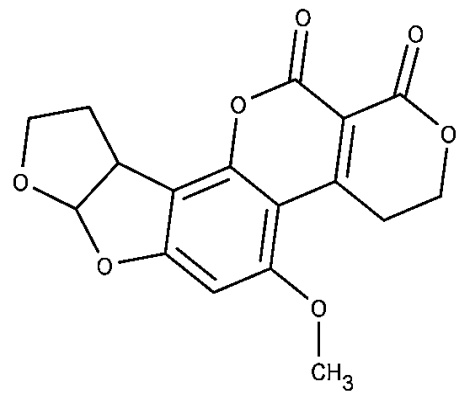
**Aflatoxina B1**



**Aflatoxina B2**



**Aflatoxina G1**



**Aflatoxina G2**

**Figura 2. Estructura de las aflatoxinas**

Las aflatoxinas de la serie B, denominada así por el color azul que emiten bajo la luz ultravioleta, se caracterizan por la fusión de la ciclopentanona al anillo de lactona de la fracción cumarínica, mientras que las de la serie G, que fluorescen color verde, contienen fusionado otro anillo de lactona en la fracción cumarínica (Kensler et al., 2011). La denominación 1 y 2 se debe a la aparición de las fracciones obtenidas al realizar la cromatografía en capa fina. La aflatoxina B1 es la que más se produce naturalmente, teniendo propiedades mutágenas, carcinógenas y teratógenas en humanos y animales. Se encuentra en productos

alimenticios como el maíz (Bucio-Villalobos et al., 2001; Tédihou et al., 2012), arroz, oleaginosas, suplementos dietéticos (Mahoney y Molyneux, 2010), almendras (Rodrigues et al., 2012), mazapán (García-Aguirre y Martínez-Flores, 2006), frutas deshidratadas y cacahuates (Hamid et al., 2013), entre otros productos alimenticios. En México se ha reportado la presencia de aflatoxinas en el maíz en diferentes regiones: Torres-Espinosa et al. (1995) obtuvieron un rango de 5 a 465 ng g<sup>-1</sup> en Monterrey, Carvajal y Arroyo (1997) encontraron un rango de 25 hasta 295 ng g<sup>-1</sup> en Tamaulipas. Bucio-Villalobos et al. (2001) reportaron un rango de 13.6 a 24.7 ng g<sup>-1</sup> en Guanajuato y Peña-Betancourt et al. (2013) reportaron contenidos de 3.82 ng g<sup>-1</sup> en Hidalgo, 5.56 ng g<sup>-1</sup> en el Estado de México y 7.40 ng g<sup>-1</sup> en Morelos.

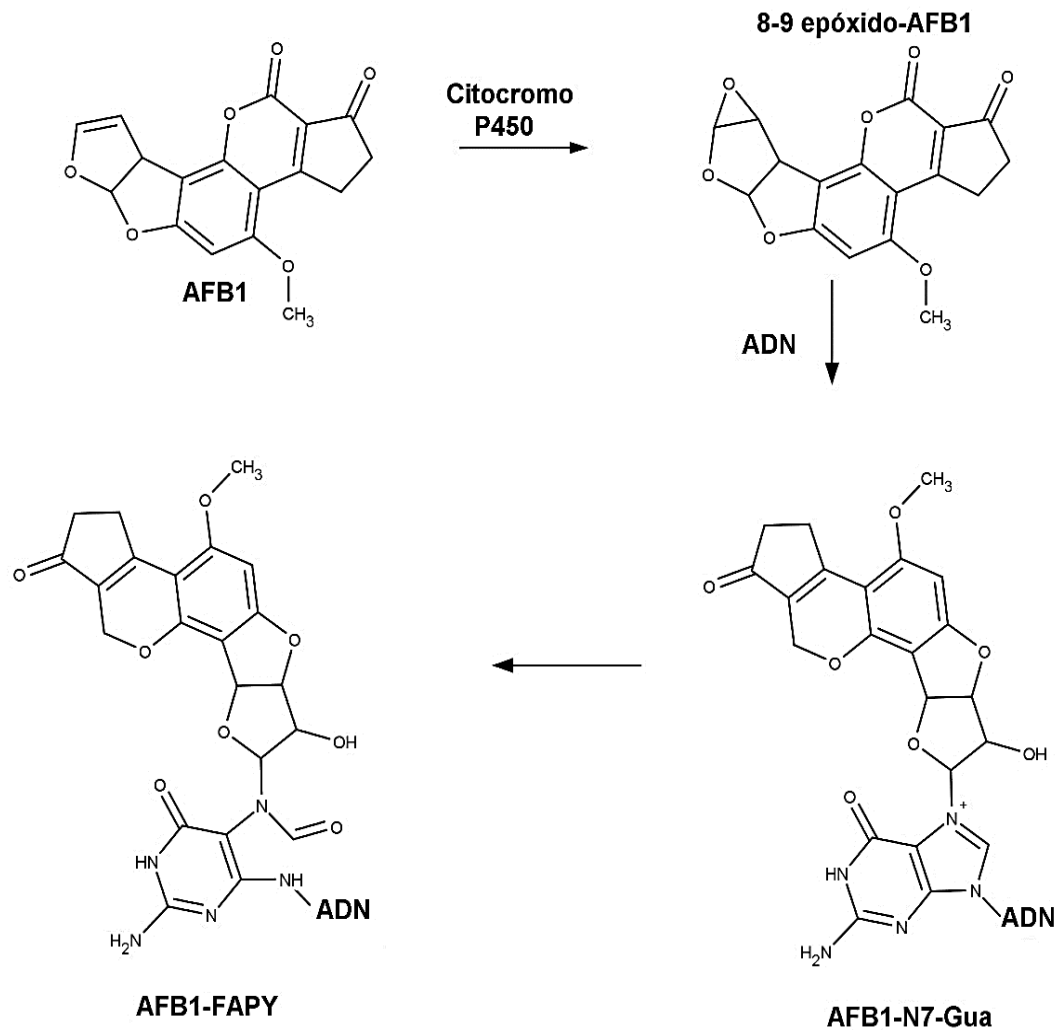
La AFB1 está clasificada como carcinógeno humano del grupo 1 por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC por sus siglas en inglés) (IARC, 1997), mientras que la legislación sanitaria mexicana ha establecido los límites máximos permisibles para aflatoxinas totales: 20 µg kg<sup>-1</sup> en alimentos para consumo humano (NOM-188-SSA1-2002) y 12 µg kg<sup>-1</sup> para la masa, las tortillas, las harinas y las tostadas de maíz nixtamalizado (NOM-187-SSA1/SCFI-2002). Otra aflatoxina de importancia es la M1, metabolito de la aflatoxina B1 y aunque es menos tóxica, mantiene sus propiedades carcinógenas. Al encontrarse en la leche y los productos lácteos, constituye un peligro para la salud pública (Kok, 1994), aunque su contenido en la leche está regulado por la NOM-184-SSA1-2002 (límite máximo de 0.5 µg l<sup>-1</sup>).

Las aflatoxinas provocan la enfermedad conocida como aflatoxicosis, cuyos síntomas son la cirrosis hepática, inducción de tumores en hígado y otros órganos, daño en el sistema nervioso central, desórdenes cutáneos y hormonales, entre otros (Saleemullah, 2006). Cabe señalar que cuando la AFB1 se encuentra en su estado natural, es atóxica, esto quiere decir que no causa daño alguno; sin embargo, se convierte en un potente mutágeno después de la activación metabólica, observada en mamíferos (Stark et al., 1979). Este cambio ocurre en el hígado de los organismos que las ingieren, aunque también se han encontrado otros tejidos que pueden realizar esta activación (Autrup et al., 1979; Wang y Cerutti, 1979; Groopman et al, 1981).

La activación metabólica de la AFB1 se realiza por medio de las enzimas microsomales, específicamente por el complejo enzimático citocromo P450 (Shimada y Guengerich, 1989; Macé et al., 1997), donde los citocromos 1A2, 2A3, 2B7, 2C8, 2K1 y 3A3/4 son los predominantes para llevar a cabo este cambio. En el hígado humano los citocromo 1A2 y 3A4 son los activadores más importantes (Klein et al., 2000).

La activación requiere de la presencia de un doble enlace entre los carbonos 8 y 9, por lo que las aflatoxinas B2 y G2 son prácticamente atóxicas en comparación con la AFB1 y AFG1 (Urrego Novoa y Díaz, 2006). Esta activación consta de la producción de la forma *exo*-8,9-epóxido (Oleykowski et al., 1993; Raney et al., 1993), un electrófilo capaz de atacar el átomo de nitrógeno 7 de la guanina del ADN para formar aductos (Groopman et al., 1981) y que, según Autrup et al. (1979) los aductos formados en animales y en humanos son los mismos. Essigmann et al. (1977) determinaron que el principal aducto tanto *in vivo* como *in vitro* es el 8,9-dihidro-8-(N7-guanil)-9-hidroxaflatoxinaB1 (AFB1-N7-Gua), que bajo condiciones fisiológicas crea una carga positiva en el anillo de imidazol, lo que provoca una depurinación, formando un sitio apurínico (AP). Posteriormente, el anillo de imidazol del AFB1-N7-Gua se abre para formar la forma más estable, que es la AFB1 formamidopirimidina (AFB1-FAPY). Todas estas formas de manera individual o en conjunto, representan los precursores para los efectos carcinógenos de la AFB1 (Bailey et al., 1996), los cuales se presentan en la Figura 3.





**Figura 3. Activación y formación de aductos de la AFB1 con el ADN**

La mutación predominante del aducto AFB1-N7-Gua es la transversión de G→T en la tercera posición del codón 249 del gen p53, que es un gen supresor de tumores. Esta transversión provoca la inserción de una serina en lugar de la arginina (Aguilar et al., 1993). Diversos estudios en diferentes líneas celulares e incluso en órganos de animales han demostrado la formación de dichos aductos (Stark et al., 1979; Wang y Cerutti, 1980; Macé et al., 1997). La AFB1 se absorbe en el duodeno (Kumagai, 1989), pero todos los cambios mencionados se llevan a cabo en el hígado. El metabolismo de la AFB1 no solamente hace que la toxina se epoxide, sino que el organismo busca mecanismos de descontaminación, que también se llevan a cabo en el hígado y constan básicamente de la formación de

productos más polares para poder conjugarse o hidrolizarse. El epóxido se conjuga con el glutatión y se excreta, por lo que esta vía de descontaminación se considera la más importante, mientras que al hidrolizarse, se une a los grupos amino de las proteínas (Wild y Turner, 2002).

### **1.4.1. Control de aflatoxinas**

El organismo que ha sido intoxicado por aflatoxinas busca los mecanismos necesarios para lograr la descontaminación, pero lo ideal sería que los alimentos ingeridos no contengan la toxina. El gran problema es que la eliminación de éstas una vez que ya se encuentran en el alimento es bastante complicada, debido a que son muy estables al procesamiento normal de un alimento (Bullerman y Bianchini, 2007). Por esta razón la FAO ha descrito los requerimientos de un proceso para lograr la descontaminación de aflatoxinas (Piva et al., 1995):

1. Destruir, inactivar o remover a las aflatoxinas.
2. No producir o dejar residuos tóxicos en los productos o alimentos al final de la descontaminación.
3. No alterar significativamente las propiedades tecnológicas.
4. Destruir las esporas y micelio que produzcan los hongos para evitar la proliferación de nuevas toxinas cuando las condiciones sean favorables.

Los diversos métodos de control de aflatoxinas se han dividido en dos categorías: aquellos enfocados al hongo y cómo evitar que los productos se contaminen con él o en su defecto, que no crezca. La otra categoría es la descontaminación de las aflatoxinas directamente con algún otro método.

#### **1.4.1.1. Control del hongo**

Para evitar la contaminación y/o proliferación del hongo, existen los siguientes métodos:

- a) Mejoramiento del manejo en campo

- b) Agentes antimicóticos
  - c) Ingeniería genética
  - d) Control de condiciones ambientales:
    - a. Humedad
    - b. Temperatura
    - c. Atmósfera gaseosa
- a) Manejo en el campo. Las buenas prácticas de manejo en el campo son de vital importancia para el control de los niveles de aflatoxinas. Las estrategias a seguir requieren de un buen entendimiento de los factores que influyen en el proceso de infección y las condiciones que afectan la formación de las toxinas. Estas prácticas incluyen el control de malezas, distribución de espacio entre las plantas, control de insectos, adecuado suministro de agua, temperatura del aire y del suelo, estrés hídrico, niveles de N<sub>2</sub>, daño en los granos (incompletos), niveles iniciales de esporas del hongo, prevalencia de cepas toxígenas, interacciones microbianas, niveles de CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub> durante el almacenamiento, secado rápido y completo del grano para su almacenamiento, entre otras. Si se logra el control de estos factores, el crecimiento del hongo y la consecuente formación de aflatoxinas, se verá disminuida o erradicada (Hell et al., 2008; Motarjemi et al., 2014).
- b) Agentes antimicóticos. Muchas técnicas para el control de aflatoxinas se enfocan directamente en el hongo y evitar su presencia aplicando antimicóticos. Holmquist et al. (1983) probaron nueve antimicóticos para evitar el crecimiento de *A. flavus* y *A. parasiticus*, entre los que destacan el ácido propiónico y el sulfito de sodio, con los que se obtuvieron buenos resultados. Debido a que el uso de fungicidas conlleva riesgos para la salud humana y animal, se han buscado alternativas que sean más seguras y más efectivas, por lo que diversas investigaciones se han enfocado a la utilización de plantas con propiedades antimicóticas, como el zimmu (*Allium sativum* L. x *Allium cepa* L.), cuya actividad antimicótica es de hasta un 73% (Sandoskumar et al., 2007). Además, Nesci et al. (2007) probaron que los

fitoquímicos propios del maíz, como los ácidos fenólicos, también pueden presentar actividad antimicótica.

- c) Ingeniería genética. Cuando se descubrió que el maíz se contaminaba con aflatoxinas antes de la cosecha, se abrió un nuevo campo de investigación considerando los genotipos de maíz y su resistencia a la infección por *A. flavus*, para poder evitar la acumulación de las toxinas. Estas investigaciones se enfocan principalmente a las características de la superficie del pericarpio del grano y las proteínas asociadas a la resistencia, inhibición del crecimiento del hongo y la biosíntesis de las toxinas. A partir de la identificación de las regiones cromosómicas de las características mencionadas anteriormente, se han creado marcadores que pueden ser insertados entre genotipos (Brown et al., 2010; Chen et al., 2012).
  
- d) Control de condiciones ambientales. Existen condiciones que se deben cuidar específicamente en el almacenamiento. Si bien este punto entra dentro del buen manejo, se retoma como un punto a parte debido a su importancia, ya que de ello depende la calidad fisicoquímica y microbiológica del producto. La humedad, la temperatura y el control de la atmósfera con gas son factores que influyen en la habilidad para colonizar el grano, dependiendo del contenido inicial de inóculo (Giorni et al., 2008). Para controlar la atmósfera gaseosa, se han probado diferentes opciones: aplicar CO<sub>2</sub> a diferentes concentraciones (Wilson y Jay, 1976), O<sub>2</sub>, (Ellis et al., 1993), N<sub>2</sub> (Epstein et al., 1970) y O<sub>3</sub> (Beuchat et al., 1999). En general, las condiciones de crecimiento y producción de toxinas ya descritas previamente, se deben evitar con buenas prácticas de manejo y con las tecnologías adecuadas que estén al alcance del productor y que pueden ser: cosechar granos maduros, secar el grano, remover granos dañados, limpieza continua del silo o lugar de almacenaje, no almacenar por más de 3 a 5 meses y mantener el flujo de aire continuo (Hell et al., 2008).

### 1.4.1.2. Descontaminación de las aflatoxinas

Los procesos de descontaminación de aflatoxinas tratan de remover, destruir o inactivar a las toxinas mediante métodos físicos, químicos o biológicos. Los métodos deben ser económicos, no dejar residuos y no alterar la calidad del producto (Ellis et al., 2012).

a) Métodos físicos. Entre los métodos físicos están aquellos que involucran el calor, la radiación, agentes absorbentes y los disolventes (Madrigal-Bujaidar et al., 2011). Las aflatoxinas presentan una estabilidad elevada frente al calor y es difícil eliminarlas sin dañar al producto. Sin embargo, Hwang y Lee (2006) lograron reducir a las aflatoxinas en un 97% a 200°C por 30 min en trigo y Park y Kim (2006) al cocer el arroz en olla de presión, lograron la eliminación de hasta 82% de las aflatoxinas.

La radiación se clasifica en dos categorías: la ionizante (rayos X, radiación gamma y luz UV) y la no ionizante (microondas, ondas de radio, infrarrojo y luz visible) (Rustom, 1997). Estos tipos de radiación pueden funcionar para la degradación de las aflatoxinas. Ghanem et al. (2008) utilizaron radiación gamma para degradar a la AFB1 hasta en un 90% en cebada. Herzallah et al. (2008) evaluaron la disminución de las AFB1 utilizando luz solar (disminución de hasta 65.9%), radiación gamma (disminución de hasta 42.7%) y microondas (32.3% de disminución).

Las arcillas funcionan muy bien como absorbente, afirmación que se mantiene al lograr una buena absorción de aflatoxinas. Jaynes y Zartman (2011) estudiaron a las arcillas de superficie modificada como la montmorillonita (arcilla con colina o carnitina), logrando absorber a las aflatoxinas. Abu-EL-Zahab et al. (2012) evaluaron a la bentonita *in vivo* y observaron que ésta protege a los órganos de ser dañados por la AFB1.

La extracción por solventes es uno de los métodos más efectivos para remover a las aflatoxinas de los productos contaminados. Los solventes más comunes que se utilizan para este propósito son el metanol, el etanol, la acetona y el alcohol isopropílico, así como mezclas de hexano-etanol y hexano-metanol. Sin embargo, el costo, equipo especial de extracción,

pérdida de nutrientes y la contaminación que representa desechar los solventes, hacen que sea poco viable utilizar este método para remover a las aflatoxinas. Además, los materiales tratados de esta forma sólo pueden ser destinados a la alimentación animal (Ellis, 2012).

- b) Métodos químicos. Diversos agentes químicos han sido probados para la degradación de aflatoxinas: ácidos, bases, agentes oxidantes, aldehídos, gases, bisulfitos, entre otros. El ácido cítrico logra degradar hasta en un 96.7% a las aflatoxinas (Méndez-Albores et al., 2005), el indol-3-carbonil, sustancia química de los crucíferos, reduce la actividad catalítica para la bioactivación de la AFB1 (Takahashi et al., 1995) y el ácido húmico puede reaccionar con la AFB1 logrando disminuir su toxicidad (Van Rensburg et al., 2006). Además, Yang (1972) utilizó el NaOCl para lograr la eliminación de las aflatoxinas, obteniendo excelentes resultados. Codifer et al. (1976) probaron el formaldehído e hidróxido de calcio para descontaminar la harina de cacahuate contaminada con aflatoxinas, resultando en una disminución de hasta un 99%.
- c) Métodos biológicos. Existen microorganismos, entre ellos las bacterias, las levaduras, los hongos y algunas algas, que pueden degradar a las aflatoxinas. Su uso presenta ciertas ventajas, que van desde su eficiencia y su especificidad, hasta la generación de un menor número de contaminantes (Wu et al., 2009). La bacteria *Rhodococcus erythropolis* es capaz de degradar a la AFB1 mediante enzimas extracelulares presentes en los cultivos de la bacteria (Alberts et al., 2006). La bacteria *Myxococcus fulvus* es capaz de transformar en un 80% la AFB1 en un derivado menos tóxico (Guan et al., 2010). Incluso hasta las cepas no toxigénicas de *A. flavus* son capaces de reducir la contaminación por aflatoxinas hasta en un 90% en el maíz (Brown et al., 1991). Además, tanto *Saccharomyces cerevisiae* como *Lactobacillus rhamnosus* al ser inmovilizadas, atrapan a las aflatoxinas y han logrado reducir el contenido de toxinas hasta en un 90% en pistachos, sin alterar sus propiedades organolépticas (Rahaie et al., 2012). Las bacterias

probióticas también ayudan a la descontaminación de las aflatoxinas, por ejemplo, las bacterias *Lactobacillus reuteri* y *Bifidobacterium bifidum* evitan la absorción de la AFB1 en el tracto gastrointestinal (Hernández-Mendoza et al., 2009). Sin embargo, al utilizar este tipo de descontaminación, se deben tener en cuenta varios puntos para lograr la máxima descontaminación: edad del cultivo, tipo de sustrato, cepa, temperatura, pH, entre otros (Ellis et al., 1991).

- d) Combinación de métodos. Para lograr una degradación mucho mayor a la que se lograría con un solo método de los descritos anteriormente, es común que se utilice más de uno en un mismo tratamiento. Elías-Orozco et al. (2002) lograron reducir aflatoxinas en un 85% al extraer harina de maíz mezclada con 0.5% de  $\text{Ca(OH)}_2$  a una temperatura de 87°C. Méndez-Albores et al. (2008b) utilizaron ácido láctico y una humedad del 30% para extraer harina de sorgo, eliminando 67% de aflatoxinas. Karaca y Nas (2009), combinaron el pH y tratamiento térmico para reducir aflatoxinas hasta en un 97% (pH 10, 98°C) en higos deshidratados.

La nixtamalización es uno de los métodos que combinan temperatura y pH para la degradación de las AFB1 en el maíz. Este método ha sido utilizado por Anguiano-Ruvalcaba et al. (2005), logrando 96% de disminución de AFB1 en masa. Torres et al. (2001) y Méndez-Albores et al. (2004a,b) lograron reducir el 51.7%, 92% y 93% de aflatoxinas en las tortillas, mientras que Elías-Orozco et al. (2002) redujeron el 94% de aflatoxinas, también en las tortillas. Por lo tanto, la nixtamalización logra la disminución de aflatoxinas de manera eficaz y es de importancia profundizar en los cambios que ocurren durante este proceso.

## 1.5. LA NIXTAMALIZACIÓN

La palabra nixtamalización, del náhuatl *nixtli* (cenizas) y *tamalli* (masa) es un proceso prehispánico (Paredes-López et al., 2009), el cual requiere de 2 a 3 l de agua para someter a cocción al grano de maíz (1 kg) y la adición del 1 al 3% de

cal para formar la solución de cocimiento. Después de la cocción, el maíz se deja reposar por un periodo de tiempo que va desde las 8 hasta las 18 h. A continuación, la solución de cocimiento, llamada nejayote, es decantada y los granos son lavados. Los granos limpios y cocidos, llamados nixtamal, se muelen en un molino de piedras hasta obtener la masa, formar discos y cocerlos en comal a fuego directo para obtener las tortillas (Gasca-Mancera y Casas-Alencáster, 2007). La nixtamalización se usa para elaborar tortillas, totopos, tamales, pozole y otras comidas mexicanas (Quintanar-Guzmán et al., 2010).

### **1.5.1. Cambios en el grano de maíz durante la nixtamalización**

El proceso de nixtamalización induce cambios estructurales, químicos, funcionales y nutricionales en el grano de maíz. El primero de ellos, es el rompimiento parcial del pericarpio, que se puede remover fácilmente durante el lavado. El pericarpio se compone de celulosa, hemicelulosa, lignina y proteínas, unidos entre sí por medio de múltiples enlaces. La ruptura de enlaces durante la nixtamalización permite el desprendimiento de pericarpio provocando la penetración del agua caliente que lleva los iones de  $\text{Ca}^{2+}$  provenientes del  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ . La penetración de los iones  $\text{Ca}^{2+}$  es por difusión y percolación (Valderrama-Bravo et al., 2010). Al ingresar los iones  $\text{Ca}^{2+}$ , se cruzan entre las cadenas de almidón gelatinizadas previamente y se coordinan con los grupos hidroxilo expuestos durante el tratamiento alcalino. Esta asociación entre iones  $\text{Ca}^{2+}$  y  $^-\text{OH}$ , producen gránulos de almidón más rígidos y fuertes. Bressani et al. (2002) encontraron que la nixtamalización contribuye al aumento de los niveles de calcio hasta 18 veces más en el endospermo y hasta 24 veces más en el germen a comparación del maíz entero y según Fernández-Muñoz et al. (2004), la incorporación del calcio depende principalmente del tiempo que permanezcan en contacto los iones  $\text{Ca}^{2+}$  y el grano de maíz, sin dejar de considerar los demás factores como temperatura de cocción, nivel inicial de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  y contenido de agua. Además, no solamente el  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  puede ser utilizado como fuente de iones  $\text{Ca}^{2+}$ . Maya-Cortés et al. (2010) nixtamalizaron con sulfato de calcio, Ruíz-Gutiérrez et al. (2012) utilizaron el cloruro y lactato de calcio y Rodríguez-Méndez



et al. (2013) usaron al carbonato de calcio como medio para obtener los iones  $\text{Ca}^{2+}$ . En general, la incorporación tanto de los iones  $\text{Ca}^{2+}$  como del agua, influyen directamente en algunos atributos de calidad como: color, textura, adhesividad, cohesividad y rolabilidad tanto de masa como de tortillas (Sahai et al., 2000).

La nixtamalización también induce cambios en la estructura y las propiedades del almidón del maíz. El cocimiento convierte a la hemicelulosa de la pared celular en gomas solubles, haciendo que el almidón se gelatinice parcialmente, lo que provoca la pérdida de la estructura cristalina. El gel formado se estabiliza por la formación de complejos amilosa-lípidos y por los iones  $\text{Ca}^{2+}$  (Méndez-Montealvo et al., 2006). Además de la gelatinización parcial del almidón, también se lleva a cabo la saponificación de una parte de los lípidos y solubilización de algunas proteínas. Una vez que se enfría el almidón gelatinizado, se retrograda, pues las estructuras de amilosa y amilopectina se reordenan (Rendon-Villalobos et al., 2002; Mondragón et al., 2004). Durante la molienda, se lleva a cabo una gelatinización adicional del almidón, además de otros cambios en los demás componentes del grano, formando una estructura que contiene almidón íntegro, almidón gelatinizado, endospermo y lípidos (Méndez-Moltealvo et al., 2008).

Las proteínas del maíz son principalmente zeínas (Chanvrier et al., 2005) y también les ocurren diversas alteraciones causadas por el tratamiento térmico-alcalino, como lo es su desnaturalización y en general, la pérdida de la estructura terciaria. Forman interacciones calcio-zeína y zeína-calcio-zeína, lo que les confiere fuerza e incrementan su termorresistencia. De esta forma, al haber una interacción entre el calcio, el almidón y las proteínas durante la cocción alcalina, la estructura gelificada en la masa se vuelve fuerte y elástica (Quintanar-Guzmán et al., 2010).

Se dice que alimento es nutritivo cuando contiene nutrientes biodisponibles para el organismo. Los nutrientes en el alimento se encuentran acomplejados con compuestos orgánicos y los sistemas enzimáticos los liberan con dificultad. Los procesos para que un alimento crudo pase a un alimento listo para su consumo afectan la biodisponibilidad de los nutrientes y la nixtamalización no es la excepción (Rodríguez-García et al., 2008). Bressani y Schimshaw (1958)

sugirieron que durante la nixtamalización las interacciones hidrofóbicas y la desnaturalización de las proteínas son las responsables de la liberación de los aminoácidos. Un inconveniente de la proteína de maíz es que contiene cantidades insuficientes de los aminoácidos esenciales lisina y triptófano (Milán-Carrillo et al., 2006). Sin embargo, se han desarrollado híbridos de maíz denominados de alta calidad proteica, conocidos como QPM por sus siglas en inglés, que están provistos de proteínas de alto contenido en lisina y triptófano (Milán-Carrillo et al., 2004). Es importante que el maíz contenga triptófano, ya que este es el precursor de la niacina (Goldsmith, 1958).

La niacina es una vitamina hidrosoluble del complejo B, cofactor de las coenzimas encargadas de la glucólisis muscular y el metabolismo de los lípidos. Su deficiencia provoca la enfermedad denominada pelagra. Bressani et al. (1961) llevaron a cabo un estudio *in vitro* en donde se evaluó la disponibilidad de la niacina del maíz, encontrando que la pelagra se debe principalmente a un mal balance de aminoácidos esenciales. Sin embargo, la nixtamalización ayuda a que este balance llegue a un equilibrio mediante la utilización de triptófano y además, se favorece la biodisponibilidad de la niacina.

### **1.5.2. Procesos alternativos de nixtamalización**

Los cambios en el grano de maíz durante la nixtamalización son favorables para las características de calidad y nutricionales del producto final. A pesar de ello, la nixtamalización trae consigo diversos inconvenientes, como la dificultad para la disposición final del nejayote, que es un contaminante por su alto contenido en sólidos orgánicos y pH elevado. También está el problema del costo y espacio que se requiere para la cocción, la gran cantidad de agua perdida en la cocción y el lavado del grano y la pérdida de nutrientes como lípidos, proteínas, fibra, vitaminas y minerales (Maya-Cortés et al., 2010).

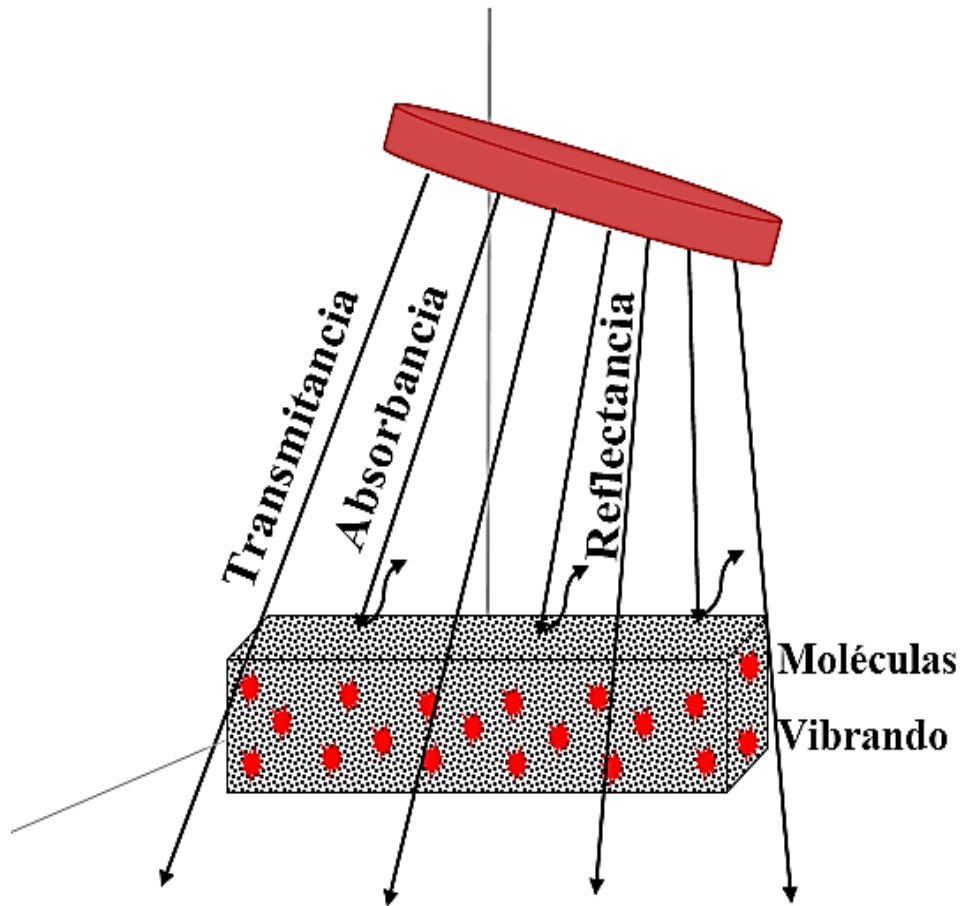
Para tratar de solucionar los problemas de contaminación, se han propuesto diversos métodos para la disposición final del nejayote: Valderrama-Bravo et al. (2013) evaluaron diversos métodos para la filtración del nejayote y lograr la separación de sólidos. Velasco-Martínez et al. (1997) utilizaron los

sólidos secos para alimentar pollos de engorda sin encontrar diferencias entre los pollos que consumieron sólidos del nejayote y una dieta control y Durán-de Bazúa et al. (2007) propusieron un método sistemático anaerobio-aerobio para tratar el nejayote parcialmente, permitiendo ahorrar a los productores en el tratamiento de efluentes. Además, se han desarrollado procesos de nixtamalización que eviten los problemas anteriormente mencionados. De esta manera, Campechano-Carrera et al. (2012) y Maya-Cortés et al. (2010) utilizaron un método ecológico de nixtamalización para la elaboración de tortillas, el cual consiste en utilizar una sal de calcio diferente al hidróxido de calcio, con lo que el pH del nejayote fue cercano a la neutralidad y los sólidos disminuyeron. Martínez-Flores et al. (2002) utilizaron la nixtamalización por extrusión en donde se ahorra tiempo, se reduce el agua utilizada, se elimina el nejayote y se mejoran algunas de las características nutricionales de las tortillas. Janve et al. (2013) nixtamalizaron el maíz con ultrasonido, lo que permitió ahorrar tiempo y generar menos sólidos en el nejayote. Martínez-Bustos et al. (2000) caracterizaron tortillas obtenidas con harinas nixtamalizadas mediante microondas, resultando en una buena textura, presencia de fibra y adecuada gelatinización del almidón. El proceso disminuyó tiempo y sólidos en el nejayote. Méndez-Albores et al. (2014) nixtamalizaron con radiación infrarroja obteniendo tortillas con mejores propiedades fisicoquímicas, nutricionales y de textura y una disminución significativa de los sólidos del nejayote.

## **1.6 RADIACIÓN INFRARROJA**

El objetivo de una nixtamalización alternativa es buscar métodos más eficientes sin modificar las propiedades generales de los productos de nixtamalización. Estas características las cumple la nixtamalización por infrarrojo.

La radiación infrarroja (IR) se encuentra en el espectro electromagnético y es emitida por los objetos calientes (Fellows, 2000). La radiación IR emite una energía que calienta a los productos que la absorben y se transfiere desde la fuente que emite la radiación hasta la superficie del producto, sin que el aire circundante se caliente (Figura 4) (Sharma et al., 2005).



**Figura 4. Calentamiento por radiación infrarroja**

La radiación IR se encuentra en una longitud de onda que va desde los 0.78 a los 1000  $\mu\text{m}$  y se divide, según la longitud de onda, en tres regiones: infrarrojo cercano (0.78-1.4  $\mu\text{m}$ ), infrarrojo medio (1.4-3.0  $\mu\text{m}$ ) e infrarrojo lejano (3.0-1000  $\mu\text{m}$ ) (Figura 5). El infrarrojo lejano es el que presenta más ventajas para el calentamiento de alimentos, porque la mayoría de los compuestos del alimento absorben la radiación IR en esta región: los aminoácidos, polipéptidos y proteínas absorben a 3-4 y 6-9  $\mu\text{m}$ , los lípidos de 3-4, 6 y 9-10  $\mu\text{m}$  y los carbohidratos absorben en 3 y 7-10  $\mu\text{m}$  (Sandu, 1986).

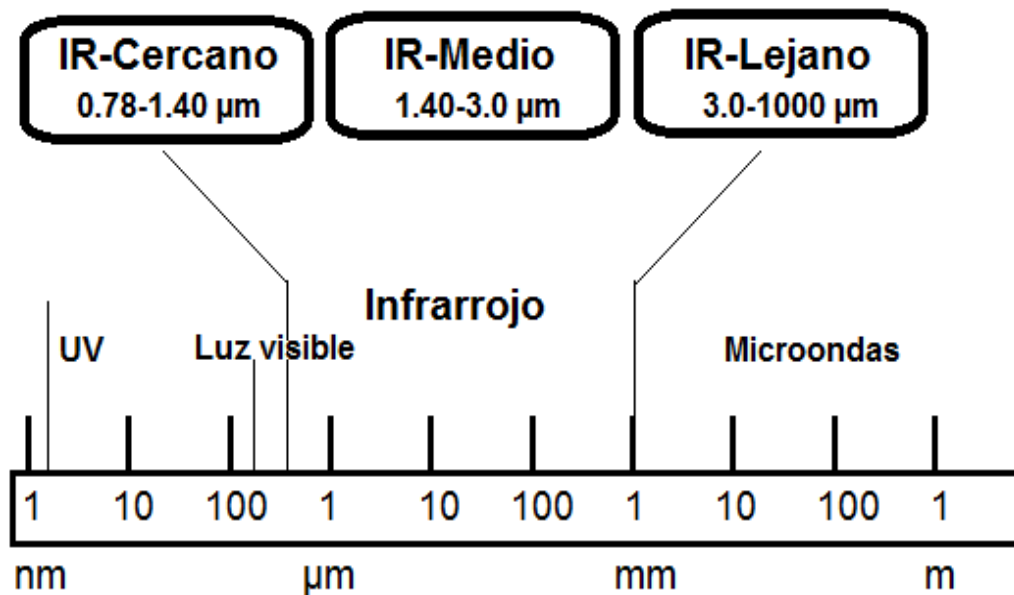


Figura 5. Espectro electromagnético

Al calentar la radiación incide en la superficie del objeto y penetra creando calor interno mediante la vibración de las moléculas del objeto, entonces, la energía de radiación es convertida en calor, a diferencia del calentamiento tradicional, en donde el calor se genera fuera del material a calentar y éste se calienta por medio de convección del aire caliente o por termo-conducción (Krishnamurthy et al., 2008). Cuando un alimento es calentado con la radiación IR la cocción resulta más uniforme, mejorando las características de calidad del alimento (Pan et al., 2008).

### 1.6.1. Aplicaciones de la radiación infrarroja en los procesos alimenticios

La aplicación de la radiación IR para el procesamiento de alimentos ha ganado popularidad debido a las ventajas que ofrece, superiores a los sistemas de calentamiento convencionales. La deshidratación de alimentos con la radiación IR ha sido el principal uso que se le ha dado, encontrando alimentos como arándanos (Shi et al., 2008), cebollas (Sharma et al., 2005) y manzanas (Nokaw

y Lewicki, 2004), que han sido deshidratados utilizando radiación IR. Algunas de las ventajas al utilizar a la radiación IR como método de secado son: temperatura uniforme en todo el proceso, alta calidad en los productos terminados (Sharma et al., 2005), disminución del tiempo de secado y alta eficiencia energética (Ruiz-Celma et al., 2008), pues ahorra del 45 al 70% de energía (Hebbar et al., 2004).

La capacidad para descontaminar o inactivar agentes patógenos de los alimentos es otra característica de la radiación IR. Hamanaka et al. (2011) al combinar la radiación IR con la UV, lograron la descontaminación de la superficie de varios productos agrícolas. Jun e Irudataraj. (2003) lograron inactivar esporas de *A. nigger* y *F. proliferatum* en maíz hasta en un 40% y Krishnamurthy et al. (2008) demostraron que la radiación IR es un método eficaz para inactivar al *S. aureus* en leche.

Cuando se utiliza a la radiación IR como método de cocción en la nixtamalización, las tortillas obtenidas retienen 25.1% más lípidos y 72.3% más triptófano, a comparación de las tortillas que se obtienen con el método tradicional. Otra ventaja del proceso de nixtamalización por IR, es que el nejayote contiene 44% menos sólidos que el del proceso tradicional. De esta manera, al utilizar la radiación IR para obtener tortillas, éstas son mejores en propiedades fisicoquímicas, nutricionales y de textura (Méndez-Albores et al., 2014).

La búsqueda de procesos alternos al proceso de nixtamalización tradicional (PNT) ha llevado a la utilización de la radiación IR como un método de cocción para realizar este proceso y si se considera la efectividad que presenta como método de descontaminante de la superficie de los alimentos, podría sugerir que la radiación IR también se podría utilizar para la descontaminación de las tortillas cuando éstas provienen del procesamiento de maíz contaminado con aflatoxinas.

## **2. JUSTIFICACIÓN**

La frecuencia de encontrar maíz contaminado con aflatoxinas en México es muy alta, ya que tanto el cultivo como el almacenamiento de este grano llega a ser deficiente, sobre todo cuando se practica la agricultura de autoconsumo. Esta contaminación genera un gran impacto en la salud de la población mexicana debido a que la alimentación de la población se basa en el maíz y sus derivados, siendo las tortillas el principal producto consumido. Además, la alta toxicidad de las aflatoxinas hace que se necesiten contenidos de toxina muy bajos para provocar daños en la salud.

En la búsqueda de procesos para la descontaminación de las aflatoxinas, se ha propuesto la nixtamalización, que ha demostrado ser eficaz para la degradación de las aflatoxinas. También se han propuesto métodos alternativos de nixtamalización, como la nixtamalización por infrarrojo.

Sin embargo y a pesar de la importancia que representan las aflatoxinas, no existe información sobre un posible efecto de la radiación IR sobre el contenido de aflatoxinas presentes en el maíz al someterlo al proceso de nixtamalización por cocimiento IR y consecuentemente, en las tortillas.

Por tal motivo, en el presente trabajo se evaluó el efecto de la nixtamalización por infrarrojo sobre la degradación de las aflatoxinas al procesar maíces relativamente moderados y altamente contaminados con estos metabolitos.

## **3. HIPÓTESIS**

El proceso de nixtamalización por cocimiento IR es una alternativa para la degradación de aflatoxinas en las tortillas de maíz.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1. GENERAL**

Evaluar el efecto del proceso de nixtamalización por cocimiento IR en cuanto a la degradación de las aflatoxinas en las tortillas de maíz contaminadas a niveles relativamente moderados y altos de toxina proveniente del hongo *Aspergillus flavus* Link.

### **4.2. PARTICULARES**

- ❖ Evaluar la efectividad de la nixtamalización por cocimiento infrarrojo sobre la degradación de aflatoxinas en la masa, el nejayote y las tortillas de maíz.
  
- ❖ Evaluar las propiedades de calidad de las tortillas elaboradas con el proceso de nixtamalización por cocimiento infrarrojo.
  
- ❖ Evaluar la capacidad de descontaminación del proceso de nixtamalización por infrarrojo al someter los extractos de tortilla a condiciones ácidas.



## **5. MATERIALES Y MÉTODOS**

Se utilizó grano de maíz blanco con calidad nixtamalera AS-900, proporcionado por Semillas Aspros de México, el cual fue conservado a 4°C hasta su utilización, para evitar la proliferación de plagas.

### **5.1. CARACTERIZACIÓN FÍSICA DEL GRANO DE MAÍZ**

La caracterización física del maíz se llevó a cabo mediante tres parámetros: el tamaño del grano, el peso de 1000 granos y el peso hectolítrico.

#### **5.1.1. Tamaño del grano**

Se midió el largo, ancho y espesor del centro de 100 granos de maíz tomados al azar con un vernier digital de fibra de carbono Digimatic marca Mitutoyo Corp., con rango de medida de 0 a 150 mm.

#### **5.1.2. Peso de 1000 granos**

Se tomaron 1000 granos de maíz al azar y se pesaron en una balanza analítica marca Boeco BAS 31 plus (Germany) con precisión de  $\pm 0.0001$  g.

#### **5.1.3. Peso hectolítrico**

Se siguió la técnica 55-10 de la AACC (2000). Se llenó un recipiente de volumen conocido (1 l) con granos de maíz y se pesó en balanza analítica marca Boeco BAS 31 plus, Germany. Se relacionó a un volumen de 100 l utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Peso hectolítrico} = \frac{\text{Peso de granos de maíz}}{\text{Volumen del recipiente}} \times 100$$

## 5.2. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS

Las propiedades fisicoquímicas evaluadas en el grano de maíz, en la masa y en las tortillas fueron la humedad, el pH y el color. Adicionalmente, en las tortillas se midió el contenido de calcio y fósforo.

### 5.2.1. Humedad

La humedad se determinó mediante el método 44-19 de la AACC (2000). Una muestra de aproximadamente 3 g se pesó y se colocó en charolas de aluminio para ser llevadas a una estufa de circulación de aire forzado (Blue M, EC) por 72 h a 103°C, en caso de granos y 24 h para harinas.

El porcentaje de humedad se obtuvo utilizando la siguiente fórmula:

$$\%H = \frac{PM_1 - PM_s}{PM_1} \times 100$$

donde: PM1 = Peso de la muestra húmeda, PMS= Peso de la muestra seca.

### **5.2.2. pH**

Se siguió el método oficial 02-52 de la AACC (2000). Una muestra de 10 g fue pesada y suspendida en 100 ml de agua destilada recientemente hervida y enfriada a 25°C. Se agitó la suspensión con un agitador magnético por 30 min y se dejó en reposo por 10 min. Se introdujo el electrodo del potenciómetro marca Conductronic PC 45 al sobrenadante de cada muestra. En el caso de los nejayotes, la lectura se realizó directamente.

### **5.2.3. Calcio y fósforo**

Se determinó el contenido de calcio y fósforo de la tortilla siguiendo el método propuesto por Poitevin (2012), el cuál es un una modificación del método oficial 984.27 de la AOAC (2000). Se utilizó un espectrómetro de emisión atómica de plasma por microondas Agilent 4100.

### **5.2.4. Color**

La medición de color se realizó con el método triestímulo Hunter Lab, basado en la determinación por reflexión de la luz de tres parámetros: L (luminosidad), a (coordenada de cromaticidad: +a = rojo, -a = verde) y b (coordenada de cromaticidad: +b = amarillo, -b = azul). Se utilizó un colorímetro marca Konika Minolta CR-410, el cual se calibró con la placa blanca proporcionada por el fabricante (L=87.2; a=0.3157 y b=0.3232).

Una muestra de 100 g se colocó dentro del accesorio para medición y se tomó la lectura. Para las muestras de tortilla, la lectura se realizó en cuatro posiciones localizadas a 90° una respecto de la otra, colocando la tortilla en una superficie plana. Con los datos de L, a y b se calculó la diferencia total de color entre la muestra y la referencia o  $\Delta E$ , la saturación o croma ( $C^*$ ) y el tono o ángulo Hue con las siguientes ecuaciones:

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

$$C^* = (a^2 + b^2)^{\frac{1}{2}}$$

$$Hue = \tan^{-1}\left(\frac{b}{a}\right)$$

### **5.3. INOCULACIÓN DEL GRANO DE MAÍZ Y OBTENCIÓN DE TORTILLAS**

Se obtuvo maíz contaminado al inocular el hongo *A. flavus* Link cepa UNIGRAS-1231 proporcionada por la Unidad de Investigación en Granos y Semillas de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. El maíz contaminado se sometió al proceso de nixtamalización para obtener masa y posteriormente las tortillas.

#### **5.3.1. Inoculación del maíz**

Para la inoculación, se utilizó el método descrito por Méndez-Albores et al. (2004a,b), donde el hongo *A. flavus* Link se incubó por 7 días a 25°C en cajas de Petri con medio de cultivo MSA (2% extracto de malta, 6% cloruro de sodio y 2% de agar) con el objetivo de inducir la esporulación. La cepa utilizada solamente produce AFB1 y AFB2 (Pérez-Flores et al., 2011). Las esporas producidas se removieron con una espátula y se utilizaron para preparar 1.7 l de una suspensión con agua estéril, donde la concentración de esporas fue de aproximadamente 100,000 esporas ml<sup>-1</sup>. La suspensión se utilizó para llevar el contenido de humedad del grano de maíz hasta un 18%. La cantidad de inóculo utilizado fue de aproximadamente 10,000 esporas g<sup>-1</sup> de maíz, cantidad

suficiente para evitar la competencia de otros hongos que pudieran crecer bajo las mismas condiciones de incubación.

Cuando el grano estuvo homogéneamente húmedo, se almacenó en contenedores plásticos (10 kg de maíz por contenedor) cubiertos con una película de polietileno para minimizar la pérdida de humedad del grano y se perforó con alfiler 10 veces para evitar la acumulación de CO<sub>2</sub>. Los contenedores plásticos con el grano húmedo se incubaron por 15 y 21 días a 28°C para obtener los dos niveles de contaminación de las unidades experimentales. Además, el control se incubó por 21 días con las mismas condiciones que las unidades experimentales, con la única diferencia de que el maíz no fue inoculado con las esporas del hongo.

Al término de la incubación, el grano de maíz fue sometido a una atmósfera de gas de óxido de etileno a una concentración de 1000 mg l<sup>-1</sup> durante 5 h, para detener el desarrollo del hongo y evitar que las esporas viables se dispersaran. Finalmente, el grano se secó hasta una humedad del 11% y se transfirió a bolsas de plástico para ser almacenado a 4°C.

### **5.3.2. Nixtamalización**

#### **5.3.2.1. Proceso de nixtamalización tradicional (PNT)**

Tres unidades experimentales de 1 kg de maíz contaminado de cada nivel (CA1 y CA2), así como el control (CTL) se mezclaron con 3 l de agua, 15 g de hidróxido de calcio y se sometieron a cocción en una estufa de gas por 42 min a 80°C al interior del grano. Posteriormente el nixtamal se dejó en reposo a temperatura ambiente por 18 h.

#### **5.3.2.2. Proceso de nixtamalización por infrarrojo (PNIR)**

Se siguió el método descrito por Méndez-Albores et al. (2014) con mínimas modificaciones. El maíz fue cocido usando las mismas relaciones de maíz, agua

e hidróxido de calcio, además del mismo tiempo y temperatura que en el PNT. La única variante fue que en esta nixtamalización la cocción se realizó en un horno doméstico comercial de convección infrarroja marca Thane International, modelo AX-767MH, que opera a 1300 W y una frecuencia de 60 Hz (Figura 6). Después de la cocción, el nixtamal se dejó en reposo 18 h a temperatura aproximada de 24°C y el nejayote se decantó. El grano de maíz nixtamalizado se lavó con 3 l de agua de la llave para remover el exceso de hidróxido de calcio y de pericarpio desprendido de los granos. Por último, el nixtamal fue molido en un molino de piedras Fumasa, modelo MN-400, agregando el agua necesaria para que la masa tuviera un contenido de humedad de alrededor del 50 y 60% para el PNIR y el PNT, respectivamente. Además, se tomó una porción de aproximadamente 500 g de masa fresca para deshidratar en una estufa de circulación de aire forzado por 48 h a 40°C y almacenar a 4°C en forma de harina.



**Figura 6. Horno infrarrojo comercial.**

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

Para la elaboración de las tortillas se siguieron los métodos reportados por Méndez-Albores et al. (2004a,b). Testales de masa de 28 g fueron comprimidos con una máquina tortilladora manual modelo TM-G de Casa González, para formar discos de aproximadamente 12.5 cm de diámetro y 1.2 mm de espesor. Estos discos se cocieron en un comal de hierro calentado a fuego directo, el cual alcanzó una temperatura promedio de 270°C. Cada tortilla se coció por 17 s en el primer lado; 55 s en el segundo lado y nuevamente se volteó al primer lado por 17 s. Finalmente, se tomaron 10 tortillas de cada tratamiento y se llevaron a una estufa de circulación de aire forzado por 48 h a 40°C. Posteriormente se molieron en una licuadora de laboratorio modelo 51BL30, para ser almacenadas en forma de harina a 4°C.

### **5.3.4. Determinación de aflatoxinas**

Se utilizó el método 991.31 de la AOAC (2000). Las muestras de 50 g fueron extraídas en una licuadora de laboratorio (modelo 51BL30) con 100 ml de metanol-agua 80:20 v/v y 5 g de cloruro de sodio por 2 min. La mezcla se filtró con papel Whatman no. 1 y se tomó una alícuota de 10 ml para diluirla con 40 ml de agua destilada. Esta mezcla fue filtrada con papel filtro de microfibra y una porción de 10 ml fue aplicada a la columna de inmunoafinidad (CIA) (Vicam® Afla B; Science Technology) que contiene anticuerpos monoclonales específicos para aflatoxina B. Posteriormente, la columna se lavó con 20 ml de agua destilada y se secó con flujo de aire estéril. Las toxinas se eluyeron con 1 ml de metanol grado HPLC para ser cuantificadas en fluorómetro VICAM Series-4EX después de la reacción con 1 ml de una solución de bromo al 0.002%. El límite de detección para las aflatoxinas con las CIA mediante fluorescencia es de aproximadamente 0.5 ng g<sup>-1</sup>.

#### **5.3.4.1. Extractos acidificados**

Los extractos de maíz, masa y tortillas obtenidos al determinar aflatoxinas fueron ajustados a un pH de 3 mediante un buffer pH 3 compuesto de HCl y KHP (Hycel de México, S.A. de C.V.) para simular el pH estomacal durante la digestión (Méndez-Albores et al., 2004b). Las muestras fueron incubadas en baño de agua con agitación (Bellco Glass Inc. NJ, USA) por 30 min a 37°C. El pH se determinó usando un potenciómetro modelo PC 45 (Conductronic). Las aflatoxinas se determinaron empleando el método descrito con anterioridad.

### **5.4. EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES DE CALIDAD DE LAS TORTILLAS DE MAÍZ**

Los parámetros de la calidad evaluados en las tortillas fueron la rolabilidad, el grado de inflado y la pérdida de peso durante la cocción.

#### **5.4.1. Rolabilidad**

Cinco tortillas de cada tratamiento tomadas al azar después de 15 min de haber sido elaboradas (45°C), se enrollaron sobre una varilla de vidrio de 2 cm de diámetro y se cuantificó el grado de rompimiento utilizando una escala del 1 al 5, donde: 1 = no presentaron ruptura; 2 = rompimiento del 25%; 3 = rompimiento del 50%; 4 = rompimiento del 75% y 5 = rompimiento completo.

#### **5.4.2. Grado de inflado**

Cinco tortillas de cada tratamiento fueron elaboradas y cocidas en el comal por 17 s en la primera cara; 55 s en la segunda cara y nuevamente 17 s en la primera cara. Se observó el tamaño de la ampolla formada y se evaluó utilizando una



escala del 1 al 3, donde: 1 = inflado entre 75 a 100%; 2 = inflado entre 25 a 75% y 3 = inflado entre 0 y 25% (Cuevas-Martínez et al., 2010).

### **5.4.3. Pérdida de peso durante la cocción**

Se elaboraron tres tortillas de cada tratamiento y se pesaron antes de ser llevadas a la cocción en comal. Una vez cocidas, se dejaron enfriar hasta alcanzar una temperatura de 34°C y se pesaron nuevamente. La pérdida de peso se calculó con la siguiente ecuación:

$$PP = \frac{PT_1 - PT_2}{PT_1} \times 100$$

donde: PP: Pérdida de peso (%); PT<sub>1</sub>: Peso de la tortilla cruda (g); PT<sub>2</sub>: Peso de la tortilla cocida (g).

## **5.5. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

El experimento se llevó a cabo con un diseño completamente al azar, utilizando tres repeticiones para los diferentes tratamientos. Los datos se evaluaron mediante un análisis de varianza (ANDEVA) y la comparación de medias se efectuó con la prueba de Dunnett, utilizando el Sistema de Análisis Estadístico (SAS Institute, 1998). Se utilizó un valor de significancia de p=0.05 para distinguir las diferencias significativas entre tratamientos.

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1. GRANO DE MAÍZ (AS-900)

#### 6.1.1. Propiedades físicas

El híbrido de maíz utilizado en este experimento (AS-900) presentó un tamaño de 10.68 mm de largo, 8.19 mm de ancho y 4.43 mm de espesor. Fernández-Muñoz et al. (2011) reportaron valores muy similares, al igual que Jiménez-Juárez et al. (2012), al evaluar las características del grano de diferentes genotipos de maíz. El tamaño del grano es importante durante la nixtamalización pues los granos más grandes alcanzan un menor cocimiento que los granos pequeños, debido a la capacidad de hidratación, que es mejor en los granos pequeños (Salinas-Moreno et al., 2010). Las dimensiones del grano de maíz, junto con otras propiedades físicas, se muestran en la Tabla 3.

**Tabla 3 Propiedades físicas del grano de maíz (AS-900)**

<b>Parámetro</b>	<b>Valor</b>
Largo (mm)	10.68 ± 0.014
Ancho (mm)	8.19 ± 0.009
Espesor (mm)	4.43 ± 0.008
Peso hectolítrico (kg hl <sup>-1</sup> )	85.80 ± 0.093
Peso de 1000 granos (g)	344.34 ± 2.450

Valor promedio de 3 repeticiones ± error estándar

Cuando se pretende someter al grano de maíz al proceso de nixtamalización, una de las características más importantes en la que se debe poner atención es la dureza, pues es un indicador de la composición del endospermo. Los maíces destinados al proceso de nixtamalización son los del tipo 'dentado'. En estos maíces el endospermo se conforma de una parte harinosa y otra cristalina. La proporción entre ambas partes es lo que le

proporciona la dureza al grano; a menor fracción harinosa, el grano es más duro (Salinas-Moreno y Aguilar-Modesto, 2010). En relación a la dureza, los parámetros evaluados fueron el peso hectolítrico y el peso de 1000 granos. En este estudio, el peso hectolítrico tuvo un valor de 85.80 kg hl<sup>-1</sup> que es similar al obtenido por Salinas-Moreno et al. (2010), siendo de 82.4 kg hl<sup>-1</sup>, al analizar la calidad nixtamalera de los maíces del trópico húmedo y subhúmedo de México. Entre mayor sea el valor del peso hectolítrico, el maíz será más duro. Este valor es importante para tener un estimado del tiempo de cocción durante la nixtamalización que requiere el grano de maíz para obtener las características de calidad deseables en la masa y en consecuencia, en las tortillas. También se utiliza como una medida de calidad en el comercio de maíz (Antuna-Grijalva et al., 2008). El peso hectolítrico es una forma de medir la densidad y la NMX-FF-034/1-SCFI-2002 establece un valor mínimo de 74 kg hl<sup>-1</sup> que debe cumplir el maíz para nixtamalización. El valor obtenido en esta investigación supera el valor establecido por la Norma Mexicana.

El peso de 1000 granos fue de 344.34 g. Billeb de Sinibaldi y Bressani (2001) reportaron un peso de 1000 granos de diferentes variedades de maíz en un rango de 249 a 364 g. La variedad A-7530 es la que más se acerca al valor encontrado en esta investigación, con 335.26 g. Salinas-Moreno et al. (2011) reportaron un valor de 343 g en un maíz dentado. Un peso de 1000 granos bajo corresponde a una muestra con granos pequeños. Es una característica importante para los productores de harina debido a que los granos grandes contienen mayor proporción de endospermo, de modo que tienen mayor rendimiento de harina (Mauricio-Sánchez et al., 2004). Sin embargo, para la industria nixtamalera conviene que el peso sea mayor, pues los granos harinosos tienden a gelatinizarse más fácil, lo que genera una masa pegajosa, menor flexibilidad en la tortilla y el endurecimiento con el paso del tiempo. Aguayo-Rojas et al. (2012) recomendaron un peso superior a los 300 g para los maíces nixtamaleros, así que el maíz utilizado en este estudio cumplió con este requerimiento.

## 6.1.2. Propiedades fisicoquímicas

La Tabla 4 muestra los resultados obtenidos de las propiedades fisicoquímicas evaluadas en el grano. Si el contenido de humedad en cualquier grano es mayor al recomendado, se considera un factor de riesgo para el deterioro del mismo: aumenta la intensidad de respiración y acelera los procesos de degradación interna. La NOM-247-SSA1-2008 especifica que la humedad de los cereales no debe exceder el 15%. La humedad del grano que se utilizó en esta investigación fue de 11.43%, coincidente con lo que reportó Salinas-Moreno et al. (2010) para un maíz normal, que fue de 11.1%. Por otra parte, el pH obtenido fue de 6.45, valor similar al reportado por Reyes-Moreno et al. (2003) que fue de 6.12 para harina de maíz.

**Tabla 4 Propiedades fisicoquímicas del grano de maíz (AS-900)**

<b>Parámetro</b>	<b>Valor</b>
Humedad (%)	11.43 ± 0.290
pH	6.45 ± 0.009
Color	
L	71.54 ± 0.200
Croma	22.46 ± 0.090
Hue	84.40 ± 0.320
ΔE	26.82 ± 0.440

Valor promedio de 3 repeticiones ± error estándar.

Los parámetros de color evaluados fueron L, Croma, Hue y ΔE. Las representaciones gráficas de estos parámetros se encuentran en la Figura 7. A la luminosidad L también se le puede llamar claridad. Este parámetro divide a los colores claros y oscuros en un rango de 100 a 0, donde 100 es blanco y 0 es negro. La saturación, o croma indica la pureza o qué tan vivo es el color, por lo que se pueden diferenciar colores apagados cerca del centro y se hacen más vivos a medida que se alejan. Cuanto más alto es su valor absoluto, más 'saturado' o puro es el color. El tono o ángulo Hue es la apreciación visual del color, es un valor angular que indica el cuadrante correspondiente al color de la muestra en un sistema cartesiano en el cual el eje x representa los valores de a,

mientras que en el eje  $y$  se encuentran los valores de  $b$ . Los ángulos encontrados y el tono que representan son:  $0^\circ$  = rojo;  $90^\circ$  = amarillo,  $180^\circ$  = verde y  $270^\circ$  = azul. Cuando la diferencia de color no es apreciable, incluso al medirlo con el colorímetro es cuando el  $\Delta E$  es de mucha ayuda. El  $\Delta E$  representa la diferencia total de color, un valor único que toma en cuenta la diferencia entre los valores de  $L$ ,  $a$  y  $b$  de la muestra y una referencia, que puede ser la placa blanca de calibración del equipo (McGuire, 1992; Konica Minolta, 2003; HunterLab, 2012).

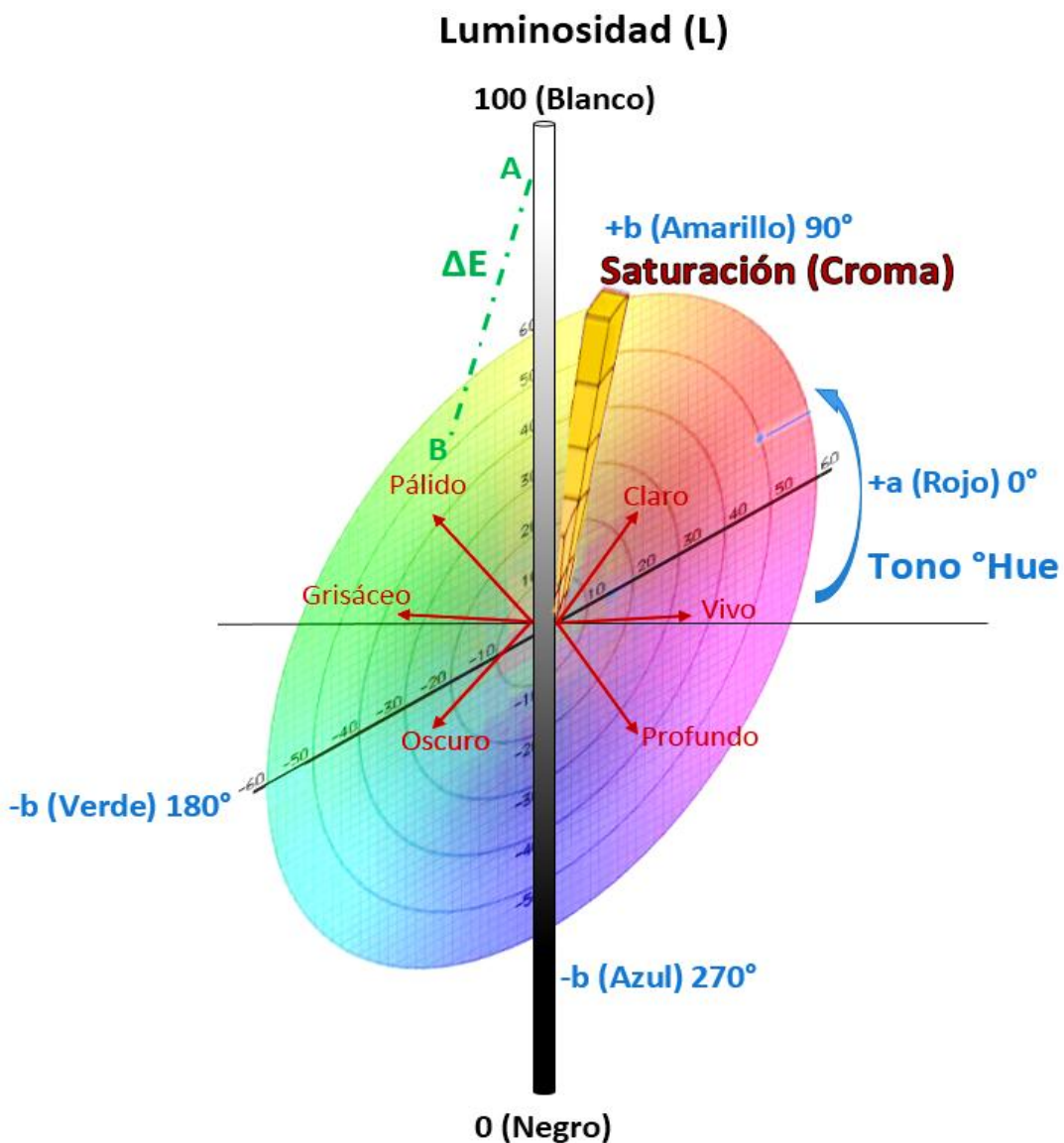


Figura 7. Parámetros del color.

El grano de maíz AS-900 utilizado tuvo un valor de 71.54 para L. Velu et al. (2006) evaluó la luminosidad de harinas de maíz y encontró valores similares al reportado en esta investigación (71.81). El croma obtenido fue de 22.46 y coincide con el valor reportado por Méndez-Albores et al. (2014). El valor sitúa al maíz como de color claro. En cuanto al °Hue se obtuvo un valor de 84.40. Sierra-Macías et al. (2010) caracterizaron maíz del trópico mexicano y al medir el °Hue, encontraron un valor de 83.5 para el maíz HQ-1, que es muy cercano al del maíz AS-900. El °Hue sitúa al maíz utilizado en el cuadrante +a, +b, que va del 0 a los 90°. El valor está muy cercano a un punto de referencia, que es el 90, lo que quiere decir que el tono es amarillento. El  $\Delta E$  fue de 26.82 y representa la diferencia entre la muestra y la placa blanca. Entre más grande sea este valor, significa que es más oscuro. Antuna-Grijalva et al. (2008) encontraron valores más altos de  $\Delta E$  (37.58), pero los maíces evaluados fueron más oscuros. En general, el maíz utilizado tiene un color amarillo claro, color que debe principalmente a los carotenoides, pigmentos naturales presentes en el maíz (Salinas-Moreno et al., 2008). Si bien el color de maíz varía enormemente entre genotipos y no se considera una propiedad importante para el uso como un producto alimentario (ya que existen maíces de diferentes colores que se utilizan para la industria alimentaria), este sí influye en la preferencia del consumidor (Mauricio-Sánchez et al., 2004), particularmente, debido a que en algunas regiones del país tienen preferencia por tortillas de color blanco y en otras de color amarillo.

## **6.2. NEJAYOTE**

### **6.2.1. Propiedades fisicoquímicas**

Uno de los principales problemas que tiene la industria de la tortilla es la generación del nejayote, ya que no sólo representa la utilización de agua en exceso, sino que también tiene un pH elevado que daña las tuberías del desagüe y contiene grandes cantidades de sólidos, haciéndolo altamente contaminante.

El porcentaje de sólidos entre los diferentes procesos de nixtamalización presentaron diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ); el nejayote del PNT tuvo un promedio de 3.14% y el del PNIR promedió 1.38%. Gutiérrez-Urbe et al. (2010) evaluaron seis genotipos de maíz para la pérdida de materia orgánica en el nejayote, encontrando un valor de 3.13% en el tipo QPM, similar al que se reporta aquí para el PNT. La generación de sólidos en el nejayote proveniente del PNIR fue de un 56.1% menos que en el PNT. Esta disminución es una gran ventaja tecnológica, pues hace que los costos en el tratamiento del efluente disminuyan y se genere menor contaminación. Cuando Campechano-Carrera et al. (2012) llevaron a cabo la nixtamalización ecológica con sales de calcio, reportaron valores similares a los que se encontraron para el PNIR.

Serna-Saldivar et al. (1991) señalan que la facilidad de remover el pericarpio después de la nixtamalización es una característica genotípica, aunque también influyen otros factores como el tiempo y método de cocción, el porcentaje de cal, la utilización de otras fuentes de calcio, el tiempo de reposo y la integridad del grano y de acuerdo a Khan et al. (1982), el nejayote se compone de pericarpio, fracciones solubles del germen y proteínas solubilizadas y compuestos menores hidrosolubles. La disminución de más del 50% de sólidos por el PNIR en comparación al PNT se puede atribuir directamente al método de calentamiento, pues todas las demás condiciones fueron similares en ambos procesos.

El pH obtenido en ambos procesos no presentó diferencia estadística significativa ( $p > 0.05$ ). Rodríguez-Méndez et al. (2013) reportaron valores de pH de 11.38 a 11.95 en el nejayote proveniente de la nixtamalización de varios genotipos de maíz y Campechano-Carrera et al. (2012) encontraron un valor de 11.9. Estos valores son similares a los reportados en el presente estudio (Tabla 5).

**Tabla 5 Propiedades fisicoquímicas del nejayote**

Muestra	Sólidos (%)		pH	
	PNT	PNIR	PNT	PNIR
CTL	2.91 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.23 ± 0.02 <sup>b</sup>	11.65 ± 0.001 <sup>a</sup>	11.80 ± 0.005 <sup>a</sup>
CA1	3.26 ± 0.02 <sup>a</sup>	1.48 ± 0.01 <sup>b</sup>	11.73 ± 0.006 <sup>a</sup>	11.81 ± 0.005 <sup>a</sup>
CA2	3.26 ± 0.04 <sup>a</sup>	1.44 ± 0.02 <sup>b</sup>	11.73 ± 0.006 <sup>a</sup>	11.88 ± 0.004 <sup>a</sup>

Valor promedio de 3 repeticiones ± error estándar. Valores promedios con la misma letra en la misma fila de la misma propiedad evaluada no son significativamente diferentes (Dunnett,  $p > 0.05$ ). CTL=Control, CA1=Contenido de aflatoxinas 1 ( $173 \text{ ng g}^{-1}$ ), CA2=Contenido de aflatoxinas 2 ( $370 \text{ ng g}^{-1}$ ). PNT=Proceso de nixtamalización tradicional, PNIR=Proceso de nixtamalización por infrarrojo.

El pH del nejayote está directamente relacionado con la cantidad de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  y de la remoción del exceso de cal después de la cocción durante el lavado. Además, el pH elevado de la solución de cocimiento ayuda a romper los enlaces de los componentes del pericarpio, provocando que este se debilite y pueda desprenderse (Rodríguez-Méndez et al., 2013). Después del cocimiento y el reposo del grano de maíz, cerca del 40% de los iones  $\text{Ca}^{2+}$  originales estarán en suspensión en el nejayote (Trejo-González et al., 1982).

## **6.3. MASA**

### **6.3.1. Propiedades fisicoquímicas**

Una vez que el maíz se ha sometido al tratamiento térmico-alcálico, al reposo y al lavado, el grano está listo para ser molido. La molienda se realiza tradicionalmente en molinos de piedras y agregando un poco de agua, para obtener la masa. Con la masa fresca se pueden obtener las tortillas o someterla a un proceso de secado para obtener la harina nixtamalizada.

El contenido de humedad y el pH de la masa, se muestran en la Tabla 6. La humedad de la masa obtenida mediante el PNT fue en promedio de 59.87%, mientras que para la masa obtenida del PNIR fue de 53.24%. La humedad de la



masa utilizando el PNT ha sido reportada por diferentes autores (Ramírez-Wong et al., 1996; Pappa et al., 2010). La humedad de la masa del PNIR es similar a la encontrada en una investigación previa sobre nixtamalización con IR, realizada por Méndez-Albores et al. (2014).

La diferencia encontrada entre ambos procesos se puede atribuir a una pérdida mayor de pericarpio del maíz cuando se somete al PNT, ya que éste actúa como una barrera y mientras más remoción haya, será más fácil la difusión del agua al interior del grano, lo que significa una mayor humedad.

La humedad en la masa es sumamente importante ya que en conjunto con la variedad del maíz, tipo de endospermo y grado de gelatinización del almidón, le proporciona la textura a la masa (la textura la conforman parámetros como la plasticidad, la adhesividad y la viscosidad). Cuando la masa tiene la textura apropiada, se puede moldear fácilmente y la calidad de la tortilla mejora (Ramírez-Wong et al., 1996).

**Tabla 6 Propiedades fisicoquímicas de la masa**

Muestra	% Humedad		pH	
	PNT	PNIR	PNT	PNIR
CTL	60.04 ± 0.57 <sup>a</sup>	52.27 ± 0.18 <sup>b</sup>	8.09 ± 0.004 <sup>a</sup>	7.82 ± 0.003 <sup>b</sup>
CA1	59.89 ± 0.26 <sup>a</sup>	53.39 ± 0.19 <sup>b</sup>	8.58 ± 0.003 <sup>a</sup>	7.58 ± 0.002 <sup>b</sup>
CA2	59.69 ± 0.48 <sup>a</sup>	54.06 ± 0.65 <sup>b</sup>	8.57 ± 0.003 <sup>a</sup>	7.54 ± 0.004 <sup>b</sup>

Valor promedio de 3 repeticiones ± error estándar. Valores promedios con la misma letra en la misma fila de la misma propiedad evaluada no son significativamente diferentes (Dunnett,  $p > 0.05$ ). CTL=Control, CA1=Contenido de aflatoxinas 1 (173 ng g<sup>-1</sup>), CA2=Contenido de aflatoxinas 2 (370 ng g<sup>-1</sup>). PNT=Proceso de nixtamalización tradicional, PNIR=Proceso de nixtamalización por infrarrojo.

En el caso del pH, los resultados obtenidos también presentan diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ). El PNT promedia un pH de 8.41 y el PNIR de 7.65. Billed-de-Sinibaldi y Bressani (2001) al evaluar las características de cocción de once variedades de maíz reportan el pH en un rango de 7.70 a 8.21, por lo que el rango está en concordancia con los valores reportados en la Tabla 6 para ambos procesos de nixtamalización.

El pH se ve influenciado directamente por la cantidad de  $\text{Ca(OH)}_2$  agregada al nixtamalizar y, al igual que en el caso del porcentaje de humedad, la diferencia entre los valores de pH de los dos procesos de nixtamalización radica en la pérdida del pericarpio; cuando la remoción del pericarpio es mayor, la percolación de los iones  $\text{Ca}^{2+}$  y los iones  $\text{OH}^-$  al interior del grano se facilita, aumentando el pH de la masa.

El método de cocción utilizado para realizar la nixtamalización es importante para las características adecuadas de la masa. En esta investigación se tienen condiciones similares en tipo de maíz, tiempo de cocción, cantidad de cal y agua y tiempo de reposo; en lo que difieren es únicamente el método de cocción. La cocción en el PNT remueve más pericarpio debido a la agresividad del proceso, pues al ser fuego directo, el agua ebulle y provoca que los granos choquen uno contra otro, además de la hidrólisis causada en los componentes del pericarpio, como la celulosa y la hemicelulosa, que permiten el desprendimiento de la cascarilla. En cambio, la radiación IR calienta directamente al grano de maíz, lo que hace que la temperatura deseada al interior del grano se alcance más rápido y sin que el agua alcance su punto de ebullición, provocando que los granos se mantengan estáticos y la cascarilla no se desprenda con tanta facilidad.

## **6.4. TORTILLAS**

### **6.4.1. Propiedades fisicoquímicas**

Tanto la humedad como el pH de las tortillas que se obtuvieron por el PNT y el PNIR tuvieron diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ). Para la humedad, el PNT promedió 52.60% y el PNIR 45.29%. Diversos autores han reportado valores de porcentaje de humedad de las tortillas en un rango de 41.1 a 53.67 (Serna-Saldívar et al., 2008; Salinas-Moreno et al., 2010; Sierra-Macías et al., 2010; Pérez-Flores et al., 2011; Méndez-Albores et al., 2012), los cuales corresponden a los reportados en esta investigación y cuyos valores se encuentran en la Tabla 7. En los productos a base de cereales, como lo son las

tortillas, el contenido de humedad está relacionado con la suavidad de los productos y su bajo contenido se asocia a resequedad y endurecimiento. La humedad de la tortilla dependerá de parámetros como los componentes de la masa, espesor de la tortilla, tiempo y temperatura de cocimiento (Salinas-Moreno et al. 2011).

**Tabla 7 Propiedades fisicoquímicas de las tortillas**

Muestra	% Humedad		pH	
	PNT	PNIR	PNT	PNIR
CTL	52.60 ± 0.30 <sup>a</sup>	44.77 ± 0.18 <sup>b</sup>	8.85 ± 0.003 <sup>a</sup>	7.60 ± 0.006 <sup>b</sup>
CA1	52.51 ± 0.13 <sup>a</sup>	45.67 ± 0.16 <sup>b</sup>	8.83 ± 0.003 <sup>a</sup>	7.59 ± 0.003 <sup>b</sup>
CA2	52.70 ± 0.23 <sup>a</sup>	45.44 ± 0.21 <sup>b</sup>	8.80 ± 0.003 <sup>a</sup>	7.60 ± 0.004 <sup>b</sup>

Valor promedio de 3 repeticiones ± error estándar. Valores promedios con la misma letra en la misma fila de la misma propiedad evaluada no son significativamente diferentes (Dunnett,  $p > 0.05$ ). CTL=Control, CA1=Contenido de aflatoxinas 1 (173 ng g<sup>-1</sup>), CA2=Contenido de aflatoxinas 2 (370 ng g<sup>-1</sup>). PNT=Proceso de nixtamalización tradicional, PNIR=Proceso de nixtamalización por infrarrojo.

El pH obtenido fue en promedio de 8.83 y 7.60 en el PNT y el PNIR, respectivamente. Vázquez-Carrillo et al. (2011) obtuvieron un pH de 8.8 en tortillas de maíz recién elaboradas y empacadas, mientras que Martínez-Flores et al. (2004) al elaborar tortillas con masa extrudida obtuvieron un rango de pH desde 6.68 hasta 8.45. Además, Méndez-Albores et al. (2014) encontraron un pH de 7.39 para el PNIR. Todos estos valores son afines a los reportados en esta investigación.

Según Sefa-Dedeh et al. (2004), el pH de las tortillas afecta el color, aroma y vida útil de éstas, aumentándose conforme incrementa la cantidad de cal agregada durante la nixtamalización. Sin embargo, cuando el contenido de cal no es suficiente, no logra las características de color, sabor y aroma característico de las tortillas, pero si se adiciona más de la necesaria, las tortillas adquieren un sabor astringente y son rechazadas por el consumidor (Cuevas-Martínez et al., 2010).

## 6.4.2. Contenido de calcio y fósforo

El contenido de calcio y fósforo de las tortillas se presentan en la Tabla 8. Los resultados muestran diferencia estadística significativa de ambos minerales entre los dos procesos de nixtamalización ( $p < 0.05$ ). En el caso del calcio, el PNT presentó un promedio de  $135 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ , mientras que el PNIR mostró un promedio de  $51.7 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ .

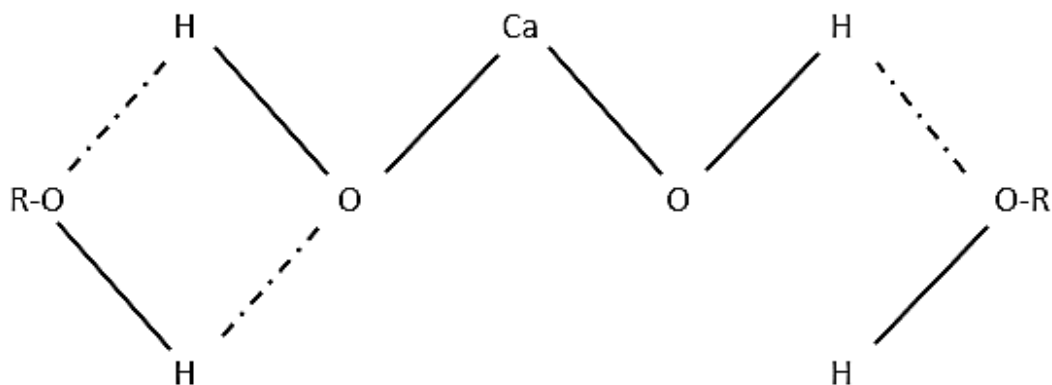
**Tabla 8 Contenido de calcio y fósforo en las tortillas**

Muestra	Calcio ( $\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ )		Fósforo ( $\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ )	
	PNT	PNIR	PNT	PNIR
CTL	$123 \pm 4.93^a$	$44 \pm 12.7^b$	$175 \pm 1.15^a$	$139 \pm 4.62^b$
CA1	$135 \pm 6.64^a$	$53 \pm 4.62^b$	$181 \pm 2.89^a$	$142 \pm 3.06^b$
CA2	$147 \pm 3.46^a$	$58 \pm 1.73^b$	$192 \pm 3.18^a$	$148 \pm 4.04^b$

Valor promedio de 3 repeticiones  $\pm$  error estándar. Valores promedios con la misma letra en la misma fila de la misma propiedad evaluada no son significativamente diferentes (Dunnett,  $p > 0.05$ ). CTL=Control, CA1=Contenido de aflatoxinas 1 ( $173 \text{ ng } \text{g}^{-1}$ ), CA2=Contenido de aflatoxinas 2 ( $370 \text{ ng } \text{g}^{-1}$ ). PNT=Proceso de nixtamalización tradicional, PNIR=Proceso de nixtamalización por infrarrojo.

Bressani et al. (1958) encontraron un contenido de calcio de 120 y 129  $\text{mg } 100\text{g}^{-1}$  en las tortillas de maíz elaboradas con maíz blanco, valor similar al encontrado en esta investigación, mientras que Pappa et al. (2010) encontraron valores más bajos, con un total de  $73.43 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$  de calcio en las tortillas nixtamalizadas con cal al 0.8%.

La cocción alcalina y el tiempo de reposo del grano de maíz provocan la difusión y percolación del agua y el calcio al interior de los granos. Esta solución alcalina degrada y solubiliza los componentes de la pared celular, lo que resulta en la remoción del pericarpio, además de debilitar la estructura del endospermo. A valores de pH superiores a 11, las moléculas de amilosa adquieren carga negativa, lo que permite la interacción amilosa- $\text{Ca}^{2+}$  (Figura 8) (Rodríguez et al., 1996).



**Figura 8. Interacción entre las moléculas de almidón y el hidróxido de calcio.**

La diferencia entre ambos procesos de nixtamalización en cuanto al contenido de calcio en las tortillas se podría atribuir a que la difusión de los iones calcio se ven influenciados por la agresividad de los tratamientos y como ya se explicó anteriormente, el PNT pierde más pericarpio y permite una mejor difusión de agua y de  $\text{Ca}^{2+}$ .

El contenido de fósforo para el PNT fue en promedio de  $182.6 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$  y de  $143 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$  para el PNIR. Rojas-Molina et al. (2009) reportan valores más altos de fósforo a los que se encontraron en esta investigación (de  $222$  a  $270 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ ). Sin embargo, Bressani et al. (2002), señala que el ácido fítico es la principal fuente de fósforo en el maíz, por lo que dependerá de la variedad de maíz, el tiempo de cocción y el tiempo de reposo, que se logre conservar una alta cantidad de fósforo durante el proceso de nixtamalización.

### **6.4.3. Propiedades de color**

El color se determinó con los mismos parámetros utilizados que en el grano de maíz y se reportan en la Tabla 9. A excepción del croma, todos los parámetros evaluados no presentaron diferencia estadística significativa ( $p > 0.05$ ) y además están en concordancia con lo reportado por otros autores (Khan et al., 1982; Antuna-Grijalva et al., 2008; Sierra-Macías et al., 2010; Salinas-Moreno et al., 2011; Méndez-Albores et al., 2012).

El croma se refiere a la saturación del color y en esta investigación se encontraron valores promedio de 18.87 y 15.41 para el PNT y el PNIR, respectivamente. Salinas-Moreno et al. (2011) encontraron valores entre 16.7 y 21, denominando a este rango como de “intensidad intermedia” y Del Pozo-Insfran et al. (2007) encontraron un valor de 18.2 en el maíz blanco mexicano. Es probable que la diferencia en la intensidad del color entre los procesos esté relacionada directamente con la cantidad de cal retenida durante la nixtamalización y el lavado, pues de acuerdo a los resultados anteriores, en el PNIR se remueve menor cantidad de pericarpio, lo que ocasiona un menor ingreso de cal al interior del grano. El color de la tortilla es una propiedad importante para su aceptabilidad por parte del consumidor y depende de las condiciones de nixtamalización: retención de calcio, tiempo de reposo, temperatura de cocción y tipo de maíz (Sahai et al., 2001).

**Tabla 9 Propiedades de color de las tortillas.**

Muestra	L		$\Delta E$	
	PNT	PNIR	PNT	PNIR
CTL	62.99 $\pm$ 0.26 <sup>a</sup>	63.39 $\pm$ 0.31 <sup>a</sup>	30.99 $\pm$ 0.18 <sup>a</sup>	30.53 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>
CA1	61.75 $\pm$ 0.30 <sup>a</sup>	62.17 $\pm$ 0.36 <sup>a</sup>	31.34 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>	30.10 $\pm$ 0.26 <sup>a</sup>
CA2	61.41 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>	61.57 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>	31.37 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>	31.48 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>

Valor promedio de 3 repeticiones  $\pm$  error estándar. Valores promedios con la misma letra en la misma fila de la misma propiedad evaluada no son significativamente diferentes (Dunnett,  $p > 0.05$ ). CTL=Control, CA1=Contenido de aflatoxinas 1 (173 ng g<sup>-1</sup>), CA2=Contenido de aflatoxinas 2 (370 ng g<sup>-1</sup>). PNT=Proceso de nixtamalización tradicional, PNIR=Proceso de nixtamalización por infrarrojo.

**Tabla 9 (cont.) Parámetros de color de las tortillas.**

Muestra	Croma		Hue	
	PNT	PNIR	PNT	PNIR
CTL	18.68 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	15.74 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	86.24 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>	87.06 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>
CA1	18.94 $\pm$ 0.18 <sup>a</sup>	15.18 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>	85.32 $\pm$ 0.20 <sup>a</sup>	86.43 $\pm$ 0.42 <sup>a</sup>
CA2	18.99 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>	15.33 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	86.66 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	86.37 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>

Valor promedio de 3 repeticiones  $\pm$  error estándar. Valores promedios con la misma letra en la misma fila de la misma propiedad evaluada no son significativamente diferentes (Dunnett,  $p > 0.05$ ). CTL=Control, CA1=Contenido de aflatoxinas 1 (173 ng g<sup>-1</sup>), CA2=Contenido de aflatoxinas 2 (370 ng g<sup>-1</sup>). PNT=Proceso de nixtamalización tradicional, PNIR=Proceso de nixtamalización por infrarrojo.

Las reacciones que ocurren en el grano de maíz para formar el color característico de la tortilla aún no se tienen del todo claro, pero una teoría para poder explicar la coloración es que existen diversos polifenoles en el pericarpio del maíz, como el ácido ferúlico y *p*-cumárico (ambos derivados del ácido cinámico) que se unen mediante un enlace éster a los polisacáridos de la pared celular (hemicelulosa). Bajo condiciones alcalinas, se rompe el enlace éster para obtener fracciones de componentes de la hemicelulosa con residuos de ácido ferúlico de coloración amarilla intensa. La pigmentación también se debe a la presencia de otros componentes como las proteínas y la lignina (Saulnier et al., 1995; Salinas-Moreno et al., 2010).

Otro aspecto a considerar es que de acuerdo a la cantidad de cal que retiene el grano en la nixtamalización, se producen los productos amarillentos. La intensidad de color está estrechamente relacionada a los carotenoides, flavonoides y el pH, y el desarrollo del color considera que el hidróxido de calcio reacciona con los diferentes pigmentos encontrados en el grano de maíz e interfieren con las reacciones de oscurecimiento como la caramelización y las reacciones de Maillard (Martínez-Bustos et al., 2001).

En general, las tortillas obtenidas con ambos procesos de nixtamalización son de un amarillo claro, pero las del PNT tienen un color amarillo más intenso.

#### **6.4.4. Propiedades de calidad**

La calidad de las tortillas se determinó considerando la pérdida de peso durante la cocción, la rolabilidad y el grado de inflado (Tabla 10). La pérdida de peso presentó valores promedio de 19.06 y 15.21 para el PNT y el PNIR, respectivamente y fueron estadísticamente diferentes entre sí ( $p < 0.05$ ). Estos valores son similares a los reportados por otros autores (Arámbula-Villa et al., 2001; Del Pozo-Insfran et al., 2007; Méndez-Albores et al., 2014). La pérdida de peso es un parámetro importante en el rendimiento y la textura de las tortillas (Méndez-Albores et al., 2012) y está directamente relacionado con el contenido de humedad de la masa, por lo que la diferencia estadística encontrada

concuenda con la diferencia en humedad de la masa y la tortilla descrita previamente.

La rolabilidad para ambos métodos fue de 1, que en la escala utilizada implicó que la tortilla no presentara ruptura. El grado de inflado obtuvo un valor de 1 para los dos métodos de nixtamalización y significó que el inflado de la tortilla fue de un 75 al 100%. Ambos parámetros no presentaron diferencia estadística ( $p>0.05$ ) entre procesos de nixtamalización y son similares a lo que reportaron diversos autores (Arámbula-Villa et al., 1999; Martínez-Bustos et al., 2001; Jiménez-Juárez et al., 2012).

**Tabla 10 Propiedades de calidad de las tortillas.**

Muestra	% Pérdida de peso		Rolabilidad		Grado de inflado	
	PNT	PNIR	PNT	PNIR	PNT	PNIR
CTL	19.06 ± 0.30 <sup>a</sup>	15.51 ± 0.20 <sup>b</sup>	1 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>
CA1	19.27 ± 0.18 <sup>a</sup>	15.05 ± 0.14 <sup>b</sup>	1 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>
CA2	18.85 ± 0.06 <sup>a</sup>	15.06 ± 0.02 <sup>b</sup>	1 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>

Valor promedio de 3 repeticiones ± error estándar. Valores promedios con la misma letra en la misma fila de la misma propiedad evaluada no son significativamente diferentes (Dunnett,  $p>0.05$ ). CTL=Control, CA1=Contenido de aflatoxinas 1 (173 ng g<sup>-1</sup>), CA2=Contenido de aflatoxinas 2 (370 ng g<sup>-1</sup>). PNT=Proceso de nixtamalización tradicional, PNIR=Proceso de nixtamalización por infrarrojo.

La rolabilidad está asociada con la flexibilidad de la tortilla. Las tortillas frescas son suaves y se enrollan fácilmente, mientras que las almacenadas son rígidas y quebradizas (Salinas-Morenos et al., 2011). Un buen grado de inflado se obtiene cuando la dos capas de la tortilla se han formado. Estas capas se forman durante la cocción de la tortilla y son impermeables por lo que retienen el vapor para poder lograr el inflado (Cuevas-Martínez et al., 2010).

Las tres propiedades de calidad determinadas en este estudio están relacionadas con la textura y dependen del grado de gelatinización del almidón logrado durante la nixtamalización, presencia de pericarpio, presencia de ácidos grasos saponificados, concentración de cal y tiempo de cocción (Ruiz-Gutiérrez et al., 2012). En general, la calidad de las tortillas aquí obtenidas de ambos procesos fue satisfactoria.



## 6.5. CONTENIDO DE AFLATOXINAS EN EL NEJAYOTE, LA MASA Y LAS TORTILLAS

Se determinó el contenido de aflatoxinas en el maíz sin inocular y éstas no fueron detectadas por la CIA. Las unidades experimentales se formaron con los maíces contaminados a distinto tiempo de incubación. En el primero, el contenido de aflatoxinas fue de 173 ng g<sup>-1</sup> (CA1) y en el segundo el contenido de aflatoxinas fue de 370 ng g<sup>-1</sup> (CA2). El control (CTL) fue el maíz incubado sin esporas del hongo.

El contenido de aflatoxinas en el nejayote no fue detectado en ningún caso. Esto se debe a que las aflatoxinas son muy sensibles al pH y siendo tan extremo en el nejayote (>11), las aflatoxinas se degradaron (Méndez-Albores et al., 2004a)

En la masa, el contenido de aflatoxinas para el PNT fue de 38 y 116 ng g<sup>-1</sup>, lo que representó el 78 y 69% para los el CA1 y CA2, respectivamente (Tabla 11).

**Tabla 11 Contenido de aflatoxinas en la masa.**

	Muestra	Aflatoxina <sup>1</sup> (ng g <sup>-1</sup> )	Reducción (%)	Aflatoxina <sup>2</sup> (ng g <sup>-1</sup> )	Reducción extra (%)
PNT	CTL	ND	—	ND	—
	CA1	38 ± 8.95 <sup>a</sup>	78	16 ± 1.15 <sup>a</sup>	13
	CA2	116 ± 2.89 <sup>b</sup>	69	28 ± 2.31 <sup>b</sup>	23
PNIR	CTL	ND	—	ND	—
	CA1	73 ± 4.04 <sup>c</sup>	58	25 ± 6.35 <sup>b</sup>	29
	CA2	149 ± 5.77 <sup>d</sup>	60	31 ± 4.04 <sup>b</sup>	32

Valor promedio de 3 repeticiones ± error estándar. Valores promedios con la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes (Dunnnett,  $p > 0.05$ ). CTL=Control, CA1=Contenido de aflatoxinas 1 (173 ng g<sup>-1</sup>), CA2=Contenido de aflatoxinas 2 (370 ng g<sup>-1</sup>). ND=No detectado (Por debajo del límite de detección de la columna de inmunofluorescencia, 0.5 ng g<sup>-1</sup>) PNT=Proceso de nixtamalización tradicional, PNIR=Proceso de nixtamalización por infrarrojo. <sup>1</sup>Extracción de aflatoxina a pH de los productos nixtamalizados. <sup>2</sup>Extracción de aflatoxina a pH 3 (extractos acidificados). El contenido de aflatoxinas está expresado en base seca.

Por otra parte, el PNIR arrojó un contenido de aflatoxinas de 73 y 149 ng g<sup>-1</sup>, correspondiente al 58 y 60% de reducción para el CA1 y el CA2 respectivamente, valores similares a los que se han reportado por otros autores (De Arriola et al., 1988; Torres et al., 2001; Pérez-Flores et al., 2011).

Cuando la masa es convertida a tortillas, está sujeta a una cocción en el comal a alta temperatura (270°C), cercana al punto de fusión de las aflatoxinas (260-280°C) (Deshpande, 2002). Aunque es poco el tiempo en el que la masa está en contacto con el comal y además el calor húmedo que se produce en las tortillas, ambas condiciones podrían ayudar a que exista una degradación mayor en la tortilla que en la masa.

El contenido de aflatoxinas en las tortillas para el PNT en el CA1 fue de 17 ng g<sup>-1</sup> y en el CA2 fue de 61 ng g<sup>-1</sup>, o expresado en porcentaje de degradación fue de 90 y 84%, respectivamente. Para el PNIR, en el CA1 fue de 50 ng g<sup>-1</sup> y en el CA2 fue de 100 ng g<sup>-1</sup>. Esto corresponde a un porcentaje de degradación de 71% y de 73% respectivamente (Tabla 12). La degradación de aflatoxinas por el PNT ya ha sido reportada en un rango de 46 al 97% (Price y Jorgensen, 1985; de Arreola et al., 1988; Guzmán de Peña et al., 1995; Torres et al., 2001; Elias-Orozco et al., 2002; Méndez-Albores et al., 2004b), valores similares con los encontrados en esta investigación.

La degradación del contenido de aflatoxinas depende de varios factores como el tiempo y la temperatura de cocción, la concentración de cal, el tiempo de reposo y el contenido inicial de aflatoxinas en el maíz. Además, el contenido de humedad en combinación con el pH favorecen la degradación de la toxina (Samarajewa et al., 1990). Por otra parte, el contenido de sólidos en el nejayote también es importante, pues éste contiene diversas estructuras del maíz (como el pericarpio y el germen) y en consecuencia, las aflatoxinas presentes en estas partes anatómicas del grano son removidas y extraídas en el agua de lavado (Pérez-Flores et al., 2011). Todos estos factores podrían ayudar a explicar las diferencias estadísticas que presentan ambos procesos de nixtamalización en cuanto a la degradación de las aflatoxinas. Si se considera que el contenido de humedad y el pH son mayores en el PNT, en conjunto con una pérdida mayor de

sólidos en el nejayote, es de esperarse que éste método de nixtamalización sea más efectivo para degradar a las aflatoxinas que el PNIR.

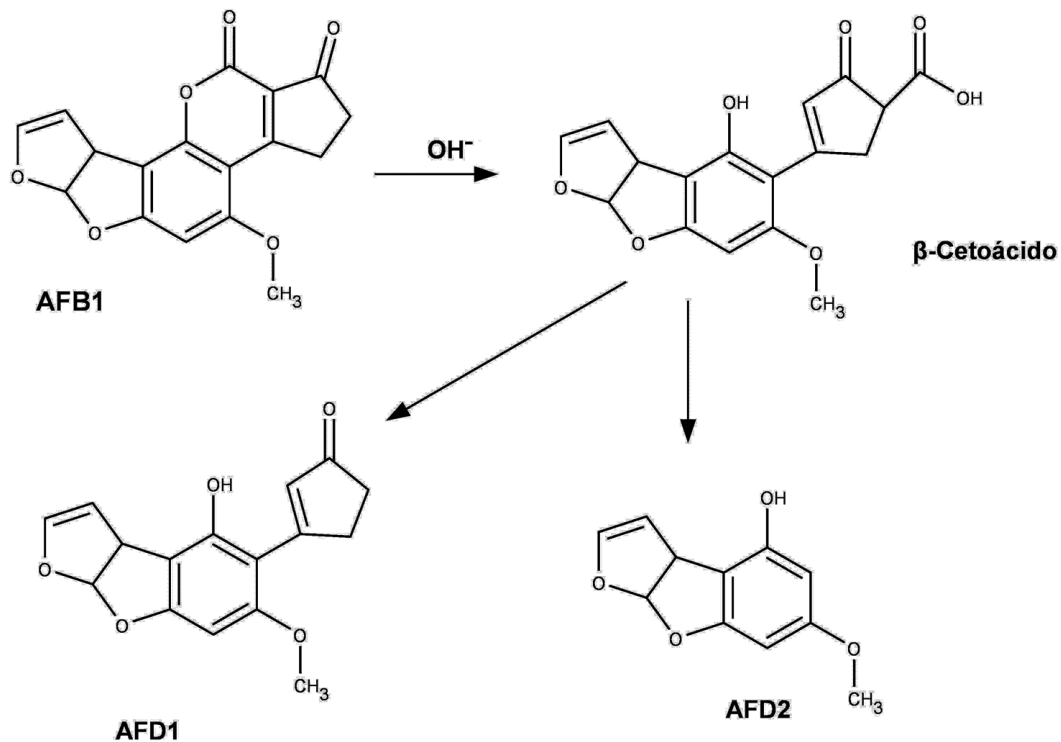
**Tabla 12 Contenido de aflatoxinas en las tortillas.**

	Muestra	Aflatoxina <sup>1</sup> (ng g <sup>-1</sup> )	Degradación (%)	Aflatoxina <sup>2</sup> (ng g <sup>-1</sup> )	Degradación extra (%)
PNT	CTL	ND	—	ND	—
	CA1	17 ± 2.89 <sup>a</sup>	90	4 ± 0.30 <sup>a</sup>	8
	CA2	61 ± 6.06 <sup>b</sup>	84	6 ± 0.30 <sup>a</sup>	15
PNIR	CTL	ND	—	ND	—
	CA1	50 ± 1.73 <sup>b</sup>	71	7 ± 0.60 <sup>a</sup>	25
	CA2	100 ± 4.91 <sup>c</sup>	73	22 ± 1.70 <sup>b</sup>	22

Valor promedio de 3 repeticiones ± error estándar. Valores promedios con la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes (Dunnett,  $p > 0.05$ ). CTL=Control, CA1=Contenido de aflatoxinas 1 (173 ng g<sup>-1</sup>), CA2=Contenido de aflatoxinas 2 (370 ng g<sup>-1</sup>). ND=No detectado (Por debajo del límite de detección de la columna de inmunoafinidad, 0.5 ng g<sup>-1</sup>) PNT=Proceso de nixtamalización tradicional, PNIR=Proceso de nixtamalización por infrarrojo. <sup>1</sup>Extracción de aflatoxina a pH de los productos nixtamalizados. <sup>2</sup>Extracción de aflatoxina a pH 3 (extractos acidificados). El contenido de aflatoxinas está expresado en base seca.

El mecanismo de degradación de las aflatoxinas por el tratamiento térmico-alkalino se basa en la hidrólisis del anillo de lactona, abriéndose y convirtiéndose en una sal soluble en agua. Así, las aflatoxinas solubilizadas se quedan en el nejayote donde las condiciones termoalcalinas favorecen su degradación, incluyendo la descarboxilación (Comes et al., 1966).

En el caso del PNIR, la degradación de aflatoxinas en ambos niveles fue en promedio de 72%. Este dato es importante y podría sugerir que la radiación no ionizante como la IR, con suficiente intensidad y en conjunto con el aumento de temperatura, da origen a cambios moleculares en la estructura de las aflatoxinas (Rustom, 1997). La geometría molecular es uno de los factores más importantes en una molécula fluorescente. En el caso de la AFB<sub>1</sub>, todos los anillos de su estructura adoptan una conformación plana, excepto el anillo del furano terminal, que se localiza ligeramente fuera del plano (Figura 9).

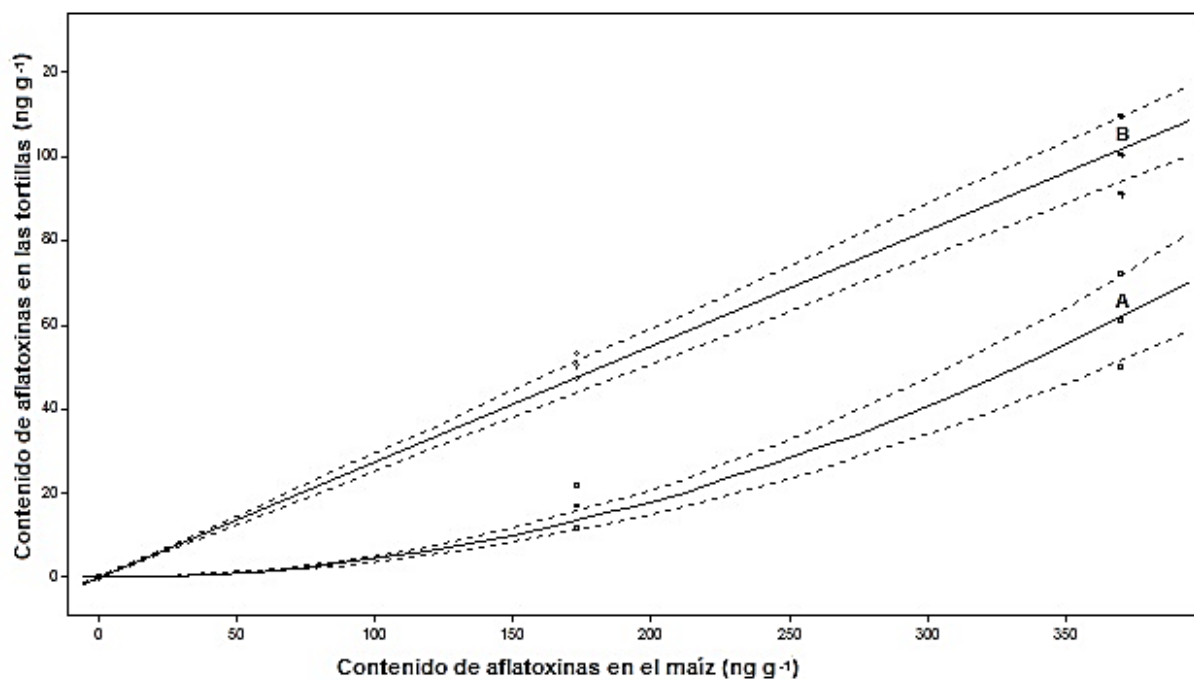


**Figura 9. Mecanismo de degradación de AFB<sub>1</sub> en medio alcalino.**

Las transferencias de carga en el anillo de lactona y los átomos del benceno indican que existe una conjugación entre ellos, favoreciendo la fluorescencia. Cuando el anillo de lactona es hidrolizado, la molécula deja de fluorescer (Méndez-Albores et al., 2008b). La combinación de la radiación ionizante junto a los demás parámetros propios de la nixtamalización podrían ser efectivos en el mismo porcentaje de degradación, sin importar el contenido inicial de aflatoxinas en el maíz.

A pesar de que los porcentajes de degradación en los dos procesos de nixtamalización utilizados fueron altos (87 y 72% en promedio), los niveles resultantes no llegaron a niveles seguros según la NOM-187-SSA1/SCFI-2002 que especifica un valor de 12 ng g<sup>-1</sup> en las tortillas de maíz. Esto se debe a que todas las condiciones que se presentan en cada proceso de nixtamalización y que ya se mencionaron con anterioridad, varían enormemente y habrá cierto número de toxinas que resistan al proceso (Guzmán de Peña et al., 1995).

Por otra parte, si se analiza el efecto del PNT y del PNIR en el contenido de aflatoxinas en las tortillas como una función del contenido inicial de aflatoxinas en el grano de maíz, se ajustan a un modelo cuadrático y lineal respectivamente (Figura 10) (Tabla 13), cuyas ecuaciones son las siguientes:



**Figura 10. Efecto de los procesos de nixtamalización tradicional (A) e infrarrojo (B) en el contenido de aflatoxinas en las tortillas como función del contenido inicial de aflatoxinas en el maíz.**

**Tabla 13 Parámetros de validación de los modelos matemáticos.**

Parámetro	PNT	PNIR
R <sup>2</sup>	0.9766	0.995
F ratio	223.5103	1036.989
Prob > F	<0.0001	<0.0001

$$y = 4.51 \times 10^{-4} x^2 + \varepsilon \quad \varepsilon \sim (0, \sigma^2)$$

$$y = 2.7 \times 10^{-1} x + \varepsilon \quad \varepsilon \sim (0, \sigma^2)$$

en donde  $y$  = contenido de aflatoxinas en las tortillas ( $\text{ng g}^{-1}$ ),  $x$  = Contenido inicial de aflatoxinas en el grano de maíz y  $\varepsilon$  = error experimental.

Estas funciones matemáticas pueden llegar a ser una herramienta muy útil para la predicción de los contenidos de aflatoxinas esperados en las tortillas con base en contenidos de aflatoxinas en el maíz que no fueron probados en esta investigación, aunque éstos modelos sólo serán válidos hasta  $370 \text{ ng g}^{-1}$ , correspondiente al CA2. Al utilizar las funciones matemáticas, el contenido inicial de aflatoxinas en el maíz que se podrá utilizar para obtener tortillas que estén dentro del límite máximo permitido en México será de  $163 \text{ ng g}^{-1}$  para el PNT y  $44 \text{ ng g}^{-1}$  para el PNIR. Para corroborar los valores que arrojan los modelos matemáticos, se formaron tres unidades experimentales de cada nivel de contaminación y se procedió a realizar la nixtamalización con ambos métodos, siguiendo todas las condiciones que se utilizaron para la nixtamalización de las unidades experimentales iniciales. La cuantificación de aflatoxinas sólo se realizó en las tortillas. Los resultados indicaron que las tortillas elaboradas con el PNT contenían  $13 \pm 2.56 \text{ ng g}^{-1}$ , mientras que las tortillas elaboradas con el PNIR presentaron un contenido de  $11 \pm 1.44 \text{ ng g}^{-1}$ , con lo que el modelo fue validado.

Otro aspecto importante que se debe tener en cuenta es la posibilidad de que la descontaminación de las aflatoxinas en medio básico es una reacción reversible por acidificación (Price y Jorgensen et al., 1995; Torres et al., 2001; Méndez-Albores et al., 2004b). Por esta razón, los extractos del nejayote, la masa y las tortillas se sometieron a condiciones de acidez y temperatura similares al pH del estómago humano durante la digestión. En el caso del nejayote, en ningún caso se detectaron las aflatoxinas. En la masa, se obtuvieron valores de  $16$  y  $28 \text{ ng g}^{-1}$ , correspondientes a un 13 y 23% de reducción en el

PNT. El PNIR arrojó valores de 25 y 31 ng g<sup>-1</sup> o un 29 y 32% de reducción. En las tortillas del PNT se obtuvieron valores de 4 y 6 ng g<sup>-1</sup>, o un 8 y 15% de reducción, mientras que en el PNIR los valores fueron de 7 y 22 ng g<sup>-1</sup>, lo que correspondió a un 25 y 22%. Todas las reducciones obtenidas fueron extra reducciones, es decir, no hubo reconversión de las aflatoxinas, más bien una degradación extra. Anguiano-Ruvalcaba et al. (2005) reportaron que al someter los extractos de tortilla a un pH similar al utilizado en esta investigación, la reconversión de las aflatoxinas no fue posible.

Las aflatoxinas pueden reconvertir a su estructura original si el tratamiento térmico-alcalino no es tan severo y se somete a condiciones ácidas. Las aflatoxinas que no pudieron ser modificadas permanentemente, cierran nuevamente el anillo de lactona, recuperando su fluorescencia y por ende, su toxicidad (Price y Jorgensen et al., 1995).

Los tratamientos a los que fueron sometidas las aflatoxinas en ambos métodos de nixtamalización probados en este trabajo fueron lo suficientemente severos como para llevar a las aflatoxinas a una estructura que ya no puede reconvertir, por lo que al someterlas al pH ácido, las aflatoxinas que aún quedaron intactas, fueron degradadas. Esta extra degradación hace que la reducción de aflatoxinas acumulada entre en tratamiento alcalino y el tratamiento ácido sea de 98.5% para el PNT y de 95.5% para el PNIR.

Aunque los porcentajes de degradación de las aflatoxinas en las tortillas fueron altos, el contenido de aflatoxinas está por arriba de lo que indica la Norma Oficial Mexicana (12 ng g<sup>-1</sup>) debido a que los procesos de nixtamalización fueron evaluados utilizando maíces con contenidos de aflatoxinas relativamente moderados y altos para los contenidos de aflatoxinas reportados recientemente en el país.

## 7. CONCLUSIONES

El PNIR fue eficaz para reducir el contenido de aflatoxinas en las tortillas y se puede utilizar cuando el contenido máximo de aflatoxinas en el maíz inicial sea de  $44 \text{ ng g}^{-1}$ .

Al acidificar los extractos de la masa y de las tortillas, se obtuvo una reducción extra en el contenido de aflatoxinas, lo que asegura que ambos productos sean aptos para el consumo humano aun cuando el contenido de aflatoxinas en el maíz sea relativamente moderado.

## 8. RECOMENDACIONES

El efecto del PNIR sobre la reducción extra de las aflatoxinas al someterlas a pH ácido debe ser estudiado con mayor profundidad.

Estudios *in vitro* e *in vivo* para la evaluación de la citotoxicidad y genotoxicidad de los extractos de aflatoxinas provenientes de la tortilla deben ser llevados a cabo.



## 9. REFERENCIAS

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

Abu-El-Zahab HSH, Baiomy AAA, Saad DY. 2013. Studies on detoxification of aflatoxins contaminated rabbits' rations treated with clay and ammonia. *Life Science Journal*, 9(3):2713-2721.

Agarwal VK, Sinclair JB. 1997. Principles of seed pathology. 2nd. Ed. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida: 322-325.

Aguayo-Rojas J, Mora-Rochín S, Cuevas-Rodríguez EO, Serna-Saldivar S, Gutiérrez-Urbe JA, Reyes-Moreno C, Milán-Carrillo J. 2012. Phytochemicals and antioxidant capacity of tortillas obtained after lime-cooking extrusión process. *Plant Foods for Human Nutrition*, 67:178-185.

Aguilar F, Perwez Hussain S, Cerutti P. 1993. Aflatoxin B1 induces the transversion of G→T in codon 249 of the p53 tumor suppressor gene in human hepatocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90:8586-8590.

Alberts JF, Engelbrecht Y, Steyn PS, Holzapfel WH, Van Zyl WH. 2006. Biological degradation of aflatoxin B1 by *Rhodococcus erythropolis* cultures. *International Journal of Food Microbiology*, 109:121-126.

Anguiano-Ruvalcaba GL, Vargas-Cortina AV, Peña GD. 2005. Inactivación de aflatoxina B1 y aflatoxicol por nixtamalización tradicional del maíz y su regeneración por acidificación de la masa. *Salud Pública de México*, 47(5):369-375.

Antuna-Grijalva O, Rodríguez-Herrera SA, Arámbula-Villa G, Palomo-Gil A, Gutiérrez-Arias E, Espinosa-Banda A, Navarro-Orona EF, Andrio-Enríquez E. 2008. Calidad nixtamalera y tortillera en maíces criollos de México. *Fitotecnia Mexicana*, 31(3):23-27.

AOAC. 2000. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th Edition, Gaithersburg, Md.

Arámbula VG, Mauricio SRA, Figueroa CJD, González-Hernández J, Ordorica FCA. 1999. Corn masa and tortillas from extruded instant corn flour containing hydrocolloids and lime. *Journal of Food Science*, 64:120-124.

Arámbula-Villa G, González-Hernández J, Ordorica-Falomir CA. 2001. Physicochemical, structural and textural properties of tortillas from extruded instant corn flour supplemented with various types of corn lipids. *Journal of Cereal Science*, 33:245-252.

Autrup H, Essigmann JM, Croy RG, Trump BF, Wogan NG, Harris CC. 1979. Metabolism of aflatoxin B1 and identification of the major aflatoxin B1-DNA adducts formed in cultured human bronchus and colon. *Cancer Research*, 39:694-698.

Bailey EA, Iyer RS, Stone MP, Harris TM, Essigmann JM. 1996. Mutational properties of the primary aflatoxin B1-DNA adduct. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93:1535-1539.

Barug D, Van Egmon H, López-García R, van Osenbruggen T, Visconti A. 2004. Meeting the mycotoxin menace. Wageningen Academic Publishers. Wageningen, Netherlands:17-20.

Bata Á, Lásztity R. 1999. Detoxification of mycotoxin-contaminated food and feed by microorganisms. *Trends in Food Science & Technology*, 10:223-228.

Bauza R. 2007. Las micotoxinas, una amenaza constante en la alimentación animal. *XI Encuentro de Nutrición y Producción en Animales Monogástricos en Montevideo, Uruguay*:1-28.

Beadle G. 1939. Teosinte and the origin of maize. *The Journal of Heredity*, 30:245-247.

Beuchat LR, Chmielewski R, Keswani J, Law SE, Frank JF. 1999. Inactivation of aflatoxigenic *Aspergilli* by treatment with ozone. *Letters in Applied Microbiology*, 29:202-205.

Billeb-de-Sinibaldi AC, Bressani R. 2001. Características de cocción por nixtamalización de once variedades de maíz. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 51(1):86-94.

Bressani R, Gomez-Brenes R, Scrimshaw NS. 1961. Effect of processing on distribution and *in vitro* availability of niacin of corn (*Zea mays*). *Food Technology*, 15:450-454.

Bressani R, Paz y Paz R, Scrimshaw, NS. 1958. Chemical changes in corn during preparation of tortillas. *Agricultural and Food Chemistry*, 6(10):770-774.

Bressani R, Scrimshaw NS. 1958. Lime-heat effects on corn nutrients, effect of lime treatment on *in vitro* availability of essential amino acids and solubility of protein fractions in corn. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 6:774-778.

Bressani R, Turcios JC, de Ruiz, ASC. 2002. Nixtamalization effects on the contents of phytic acid, calcium, iron and zinc in the whole grain, endosperm and germ of maize. *Food Science and Technology International*, 8:81-86.

Brown RL, Chen ZY, Warburton M, Luo M, Menkir A, Fakhoury A, Bhatnagar D. 2010. Discovery and characterization of proteins associated with aflatoxin-resistance: Evaluating their potential as breeding markers. *Toxins*, 2:919-933.

Brown RL, Cotty PJ, Cleveland TE. 1991. Reduction in aflatoxin content of maize by atoxigenic strains of *Aspergillus flavus*. *Journal of Food Protection*, 54(8):623-626.

Bucio-Villalobos CM, Peña-Cabrales JJ, Guzmán de Peña D. 2001. Producción de aflatoxinas en maíz *in vitro*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 19(2):218-222.

Bullerman LB, Bianchini A. 2007. Stability of mycotoxins during food processing. *International Journal of Food Microbiology*, 119:140-146.

Campechano-Carrera EM, Figueroa-Cárdenas JD, Arámbula-Villa G, Martínez-Flores HE, Jiménez-Sandoval SJ, Luna-Bárcenas JG. 2012. New ecological nixtamalization process for tortilla production and its impact on the chemical

properties of whole corn flour and wastewater effluents. *International Journal of Food Science and Technology*, 47:564-571.

Celma AR, Rojas S, Lopez-Rodriguez F. 2008. Mathematical modelling of thin-layer infrared drying of wet olive husk. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 47:1810-1818.

Chanvrier H, Colonna P, Della-Valle G, Lourdin D. 2005. Structure and mechanical behaviour of corn flour and starch–zein based materials in the glassy state. *Carbohydrate Polymers*, 59:109-119.

Chen ZY, Brown RL, Menkir A, Cleveland TE. 2012. Identification of resistance-associated proteins in closely-related maize lines varying in aflatoxin accumulation. *Molecular Breeding*, 30:53-68.

Chulze SN. Strategies to reduce mycotoxin levels in maize during storage: a review. *Food Additives and Contaminants*, 27(5):651-657

Codifer Jr LP, Mann GE, Dollear FG. 1976. Aflatoxin inactivation: treatment of peanut meal with formaldehyde and calcium hydroxide. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 53:204-206.

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

Cuevas-Martínez D, Moreno-Ramos C, Martínez-Manrique E, Moreno-Martínez E, Méndez-Albores A. 2010. Nutrition and texture evaluation of maize-white common bean nixtamalized tortillas. *Interciencia*, 35(11):828-832.

Davis ND, Diener, UL, Eldridge DW. 1966. Production of aflatoxins B1 and G1 by *Aspergillus flavus* in a semisynthetic medium. *Applied Microbiology*, 14(3):378-380.

De Arriola MDC, De Porres E, De Cabrera S, De Zepeda M, Rolz C. 1988. Aflatoxin fate during alkaline cooking of corn for tortilla preparation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36:530-533.

- Del Pozo-Insfran D, Serna-Saldivar SO, Brenes CH, Talcott ST. 2007. Polyphenolics and antioxidant capacity of white and blue corns processed into tortillas and chips. *Cereal Chemistry*, 84(2):162-168.
- Deshpande S.S. 2002. Handbook of food toxicology. Editorial Marcel Dekker, Basel, Switzerland.
- Doebley J. 1990a. Molecular evidence and the evolution of maize. *Economic Botany*, 44(3):6-27
- Doebley J, Stec A, Wendel J, Edwards M. 1990b. Genetic and morphological analysis of a maize-teosinte F2 population: implications for the origin of maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87:9888-9892
- Duran-de-Bazúa C, Sánchez-Tovar SA, Hernández-Morales MR, Bernal-González M. 2007. Use of anaerobic-aerobic treatment systems for maize processing installations: applied microbiology in action. *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*:3-12.
- Elias-Orozco R, Castellanos-Nava A, Gaytán-Martínez M, Figueroa-Cárdenas JD, Loarca-Piña G. 2002. Comparison of nixtamalization and extrusion processes for a reduction in aflatoxin content. *Food Additives & Contaminants*, 19(9):878-885.
- Ellis WO, Smith JP, Simpson BK, Khanizadeh S, Oldham JH. 1993. Control of growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* under modified atmosphere packaging (MAP) conditions. *Food Microbiology*, 10:9-21.
- Ellis WO, Smith JP, Simpson BK, Oldham JH, Scott PM. 1991. Aflatoxins in food: occurrence, biosynthesis, effects on organisms, detection, and methods of control. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 30(3):403-439.
- Epstein E, Steinberg MP, Nelson AI, Wei LS. 1970. Aflatoxin production as affected by environmental conditions. *Journal of Food Science*, 35:389-391.
- Essigmann JM, Croy RG, Nadzan AM, Busby WFJr, Reinhold VN, Büchi G, Wogan GN. 1977. Structural identification of the major DNA adduct formed by

aflatoxin B1 *in vitro*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74(5):1870-1874.

Fellows P. 2000. Tecnología del procesado de los alimentos: principios y práctica. 2ª Ed. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España.

Fernández-Muñoz JL, Acosta-Osorio AA, Gruintal-Santos MA, Zelaya-Angel O. 2011. Kinetics of water diffusion in corn grain during the alkaline cooking at different temperatures and calcium hydroxide concentration. *Journal of Food Engineering*, 106:60-64.

Fernández-Muñoz JL, Rojas-Molina I, González-Dávalos ML, Leal M, Valtierra ME, Martín-Martínez ES, Rodríguez ME. 2004. Study of calcium ion diffusion in components of maize kernels during traditional nixtamalization process. *Cereal Chemistry*, 81(1):65-69.

García-Aguirre G, Martínez-Flores R. 2006. Mohos y aflatoxinas en mazapán. *Revista Mexicana de Micología*, 23:49-52.

Gasca-Mancera JC, Casas-Alencáster NB. 2007. Adición de harina de maíz nixtamalizado a masa fresca de maíz nixtamalizado. Efecto en las propiedades texturales de masa y tortilla. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 6(3):317-328.

Ghanem I, Orfi M, Shamma M. 2008. Effect of gamma radiation on the inactivation of aflatoxin B1 in food and feed crops. *Brazilian Journal of Microbiology*, 39:787-791.

Giorni P, Battilani P, Pietri A, Magan N. 2008. Effect of  $a_w$  and CO<sub>2</sub> level on *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin production in high moisture maize post-harvest. *International Journal of Food Microbiology*, 122:109-113.

Goldsmith GA. 1958. Niacin-tryptophan relationships in man and niacin requirement. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 6:479-486.

Groopman JD, Croy RG, Wogan GN. 1981. In vitro reactions of aflatoxin B1-adducted DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 78(9):5445-5449.

Guan S, Zhao L, Ma Q, Zhou T, Wang N, Hu X, Ji C. 2010. *In vitro* efficacy of *Myxococcus fulvus* ANSM068 to biotransform aflatoxin B1. *International Journal of Molecular Sciences*, 11:4063-4079.

Gutiérrez-Urbe JA, Rojas-García C, García-Lara S, Serna-Saldivar SO. 2010. Phytochemical analysis of wastewater (nejayote) obtained after lime-cooking of different types of maize kernels processed into masa for tortillas. *Journal of Cereal Science*, 52:410-416.

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

Hamanaka D, Norimura N, Baba N, Mano K, Kakiuchi M, Tanaka F, Uchino T. 2011. Surface decontamination of fig fruit by combination of infrared radiation heating with ultraviolet irradiation. *Food Control*, 22:375-380.

Hamid SA, Tesfamariam IG, Zhang Y, Zhang ZG. 2013. Aflatoxin B1-induced hepatocellular carcinoma in developing countries: geographical distribution, mechanism of action and prevention (review). *Oncology Letters*, 5:1087-1092.

Hebbar HU, Vishwanathan KH, Ramesh MN. 2004. Development of combined infrared and hot air dryer for vegetables. *Journal of Food Engineering*, 65:557-563.

Hell K, Fandohan P, Bandyopadhyay R, Kiewnick S, Sikora R, Cotty PJ. 2008. Pre-and post-harvest management of aflatoxin in maize: An African perspective. *Mycotoxins: Detection methods, management, public health and agricultural trade*:219-229.

Hernandez-Mendoza A, Guzman-de-Peña D, Garcia HS. 2009. Key role of teichoic acids on aflatoxin B1 binding by probiotic bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 107:395-403.

Herzallah S, Alshawabkeh K, Fataftah AA. 2008. Aflatoxin decontamination of artificially contaminated feeds by sunlight,  $\gamma$ -radiation, and microwave heating. *The Journal of Applied Poultry Research*, 17:515-521.

Holmquist GU, Walker, HW, Stahr MH. 1983. Influence of temperature, pH, water activity and antifungal agents of growth of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus*. *Journal of Food Science*, 48:778-782.

HunterLab. 2012. Application note, AN 1005.00. Hunter L, a, b vs. CIE L\*, a\*, b\*. Measuring color using Hunter L, a, b versus CIE 1976 L\*, a\*, b\*. [En línea]. Disponible en: URL: <http://www.hunterlab.com/an-1005b.pdf> [Último acceso: Enero de 2015].

Hwang JH, Lee KG. 2006. Reduction of aflatoxin B1 contamination in wheat by various cooking treatments. *Food Chemistry*, 98:71-75.

IARC. 1987. International Agency for Research on Cancer. IARC monograph on the evaluation of carcinogenic risk to humans, Suppl. 1. IARC, Lyon, France:82-87.

Janve B, Yang W, Kozman A, Sims C, Teixeira A, Gunderson MA, Rababah TM. 2013. Enhancement of corn nixtamalization by power ultrasound. *Food Bioprocess Technology*, 6:1269-1280.

Jaynes WF, Zartman RE. 2011. Aflatoxin toxicity reduction in feed by enhanced binding to surface-modified clay additives. *Toxins*, 3:551-565.

Jiménez-Juárez JA, Arámbula-Villa G, De la Cruz-Lázaro E, Aparicio-Trapala MA. 2012. Característica del grano, masa y tortilla producida con diferentes genotipos de maíz del trópico mexicano. *Universidad y Ciencia*, 28(2):145-152.

Jun S, Irudayaraj J. 2003. A dynamic fungal inactivation approach using selective infrared heating. *Transactions of the ASAE*, 46:1407-1412.

Karaca H, Nas S. 2009. Combined effect of pH and heat treatment on degradation of aflatoxins in dried figs. *Journal of Food Processing and Preservation*, 33:329-339.

Kensler TW, Roebuck BD, Wogan GN, Groopman JD. 2011. Aflatoxin: A 50-year odyssey of mechanistic and translational toxicology. *Toxicological Sciences*, 120(S1):S28-S48.



Khan MN, DesRosiers MC, Rooney LW, Morgan RG, Sweat VE. 1982. Corn tortillas: evaluation of corn cooking procedures. *Cereal Chemistry*, 59(4):279-284.

Klein PJ, Buckner R, Kelly J, Coulombe RA Jr. 2000. Biochemical basis for the extreme sensitivity of turkeys to aflatoxin B1. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 165:45-52.

Klich MA. 2007. *Aspergillus flavus*: the major producer of aflatoxin. *Molecular Plant Pathology*, 8(6):713-722.

Kok WT. 1994. Derivatization reactions for the determination of aflatoxins by liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Chromatography B*, 659:127-137.

Konica Minolta. 2003. Comunicación precisa del color. Control del color: de percepción a instrumentación. [En línea]. Disponible en: [URL: http://www.aquatecnica.com/document/1/p80\\_pcc-espanol.pdf](http://www.aquatecnica.com/document/1/p80_pcc-espanol.pdf) [Último acceso: Enero de 2015].

Krishnamurthy K, Khurana HK, Jun S, Irudayaraj J, Demirci A. 2008. Infrared heating in food processing: an overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 7:2-13.

Kumagai S. 1989. Intestinal absorption and excretion of aflatoxin in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 97:88-97.

López OP, Lara FG, Pérez LAB. 2009. La nixtamalización y el valor nutritivo del maíz. *Ciencias*, 92:60-70.

Macé K, Wang JS, Vautravers P, Gómez-Lechón M, Gonzalez FJ, Groopman J, Harris CC, Pfeifer AMA. 1997. Aflatoxin B1-induced DNA adduct formation and p53 mutations in CYP450-expressing human liver cell lines. *Carcinogenesis*, 18(7):1291-1297.

Madrigal-Bujaidar E, Madrigal-Santillán O, Álvarez-González I, Morales-González A. 2011. Aflatoxin B1 – Prevention of its genetic damage by means of

chemical agents. Aflatoxins – Detection, Measurement and control. Intech. Chapter 14.

Mahoney N, Molyneux RJ. 2010. A raphid analytical method for determination of aflatoxins in plant-derived dietary supplement and cosmetic oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(7):4065-4070.

Martínez-Bustos F, García MN, Chang YK, Sánchez-Sinencio F, Figueroa CJD. 2000. Characteristics of nixtamalised maize fours produced with the use of microwave heating during alkaline cooking. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80:651-656.

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

Martínez-Flores HE, Gaytán-Martínez M, Figueroa-Cárdenas JD, Martínez-Bustos F, Reyes-Vega ML, Rodríguez-Vidal A. 2004. Effect of some preservatives on shelf-life of corn tortillas obtained from extruded masa. *Agrociencia*, 3:285-292.

Martínez-Flores HE, Martínez-Bustos F, Figueroa-Cárdenas JD, González-Hernández J. 2002. Studies and biological assays in corn tortillas made from fresh masa prepared by extrusion and nixtamalization processes. *Journal of Food Science*, 67:1196-1199.

Mauricio-Sánchez RA, Figueroa-Cárdenas JD, Taba S, Reyes-Vega ML, Rincón-Sánchez F, Mendoza-Galván A. 2004. Caracterización de accesiones de maíz por calidad de grano y tortilla. *Fitotecnia Mexicana*, 27(3):213-222.

Maya-Cortés DC, Figueroa-Cárdenas JD, Garnica-Romo M, Cuevas-Villanueva RA, Cortés-Martínez R, Véles-Medina JJ, Martínez-Flores HE. 2010. Whole-grain corn tortilla prepared using an ecological nixtamalisation process and its impact on the nutritional value. *International Journal of Food Science & Technology*, 45:23-28.

McGuire RG. 1992. Reporting of objective color measurements. *HortScience*, 27(12):1254-1255.

Méndez-Albores A, Zamora-Rodríguez D, Arámbula-Villa G, Vázquez-Durán A, Moreno-Martínez E. 2014. Impact of different alkaline-Heating processes on technological and nutritional properties of maize tortillas. *Journal of Food and Nutrition Research*, 53(1):60-70.

Méndez-Albores A, Arámbula-Villa G, Loarca-Piña MGF, Castaño-Tostado E, Moreno-Martínez E. 2005. Safety and efficacy evaluation of aqueous citric acid to degrade B-aflatoxins in maize. *Food and Chemical Toxicology*, 43:233-238.

Méndez-Albores A, Martínez-Bustos F, Gaytán-Martínez M, Moreno-Martínez E. 2008a. Effect of lactic and citric acid on the stability of B-aflatoxins in extrusion-cooked sorghum. *Letters in Applied Microbiology*, 47:1-7.

Méndez-Albores A, Martínez-Bustos F, Véles-Medina J, Castaño-Tostado E, Moreno-Martínez E. 2008b. Effect of moisture content, lactic acid addition and extrusion conditions on reduction of  $\beta$ -aflatoxins in milled sorghum (*Sorghum L. Moench*). *Journal of Animal and Feed Sciences*, 17:442-451.

Méndez-Albores A, Martínez-Morquecho RA, Moreno-Martínez E, Vázquez-Durán A. 2012. Technological properties of maize tortillas produced by microwave nixtamalization with variable alkalinity. *African Journal of Biotechnology*, 11(85):15178-15187.

Méndez-Albores A, Moreno-Martínez E. 2009. Las micotoxinas: contaminantes naturales de los alimentos. *Ciencia*:1-7.

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

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

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

Méndez-Montevalvo G, García-Suárez FJ, Paredes-López O, Bello-Pérez LA. 2008. Effect of nixtamalization on morphological and rheological characteristics of maize starch. *Journal of Cereal Science*, 48:420-425.

Mendez-Montevalvo G, Sánchez-Rivera MM, Paredes-López O, Bello-Pérez LA. 2006. Thermal and rheological properties of nixtamalized maize starch. *International Journal of Biological Macromolecules*, 40:59-63.

Milán-Carrillo J, Gutiérrez-Dorado R, Cuevas-Rodríguez EO, Garzón-Tiznado JA, Reyes-Moreno C. 2004. Nixtamalized flour from quality protein maize (*Zea mays* L.). Optimization of alkaline processing. *Plant Foods for Human Nutrition*, 59:35-44.

Milán-Carrillo J, Gutiérrez-Dorado R, Perales-Sánchez JXK, Cuevas-Rodríguez EO, Ramírez-Wong B, Reyes-Moreno C. 2006. The optimization of the extrusion process when using maize flour with a modified amino acid profile for making tortillas. *International Journal of Food Science & Technology*, 41:727-736.

Miller JD. 1994. Fungi and mycotoxins in grain: implications for stored product research. Proceedings of the 6<sup>th</sup> International Working Conference on Stored-product Protection, 2:971-977.

Mondragón M, Bello-Pérez LA, Agama-Acevedo E, Betancur-Ancona D, Peña JL. 2004. Effect of cooking time, steeping and lime concentration on starch gelatinization of corn during nixtamalization. *Starch/Stärke*, 56:248-253.

Moreno-Martínez E. 1988. Manual para la identificación de hongos en granos y sus derivados. 1<sup>a</sup> Ed. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.:31-44

Motarjemi Y, Moy G, Todd E. 2014. Encyclopedia of food safety. Elsevier, Inc. Waltham, MA: 292-294.

Nesci A, Gsponer N, Etcheverry M. 2007. Natural maize phenolic acids for control of aflatoxigenic fungi on maize. *Journal of food science*, 72:M180-M185.

NMX-FF-034/1-SCF1-2002. 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.

NOM-184-SSA1-2002. Productos y servicios. Leche, formula láctea y producto lácteo combinado. Especificaciones sanitarias.

NOM-187-SSA1/SCFI-2002. Productos y servicios. Masa, tortillas, tostadas y harinas preparadas para su elaboración y establecimientos donde se procesan. Especificaciones sanitarias. Información comercial. Métodos de prueba.

NOM-188-SSA1-2002. Productos y servicios. Control de aflatoxinas en cereales para consume humano y animal. Especificaciones sanitarias.

NOM-247-SSA1-2008. Productos y servicios. Cereales y sus productos. Cereales, harinas de cereales, sémolas o semolinas. Alimentos a base de: cereales, semillas comestibles, de harinas, sémolas o semolinas o sus mezclas. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales. Métodos de prueba.

Nowak D, Lewicki PP. 2004. Infrared drying of apple slices. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 5:353-360.

Oleykowski CA, Mayernik JA, Lim SE, Groopman JD, Grossman L, Wogan GN, Yeung AT. 1993. Repair of aflatoxin B1-DNA adducts by the UvrABC endonuclease of *Escherichia coli*. *The Journal of Biological Chemistry*, 268(11):7990-8002.

Ospina-Machado JE. 2001. Características físico mecánicas y análisis de calidad de granos. Universidad Nacional de Colombia:15-19.

Paliwal RL, Granados G, Lafitte HR, Violic AD. 2001. El maíz en los trópicos, mejoramiento y producción. Colección FAO: Producción y protección vegetal 28, Roma:5-11

- Pan Z, Shih C, McHugh TH, Hirschberg E. 2008. Study of banana dehydration using sequential infrared radiation heating and freeze-drying. *LWT-Food Science and Technology*, 41:1944-1951.
- Pappa MR, Palacios de Palomo P, Bressani R. 2010. Effect of lime and wood ash on the nixtamalization of maize and tortilla chemical and nutritional characteristics. *Plants Foods for Human Nutrition*, 65:130-135.
- Park JW, Kim YB. 2006. Effect of pressure cooking on aflatoxin B1 in rice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54:2431-2435.
- Peraica M, Radic B, Lucic A, Pavlovic M. 1999. Toxic effects of mycotoxins in humans. *Bulletin of the World Health Organization* 77(9):754-766.
- Pérez-Flores GC, Moreno-Martínez E, Méndez-Albores A. 2011. Effect of microwave heating during alkaline-cooking of aflatoxin contaminated maize. *Journal of Food Science*, 76(2):T48-T52.
- Piva G, Galvano F, Pietri A, Piva A. 1995. Detoxification methods of aflatoxins. A review. *Nutrition Research*, 15(5):767-776.
- Price RL, Jorgensen KV. 1985. Effects of processing on aflatoxin levels and on mutagenic potential of tortillas made from naturally contaminated corn. *Journal of Food Science*, 50:347-349.
- Poitevin E. 2012. Determination of calcium, copper, iron, magnesium, manganese, potassium, phosphorus, sodium, and zinc in fortified food products by microwave digestion and inductively coupled plasma-optical emission spectrometry: single-laboratory validation and ring trial. *Journal of AOAC International*, 95(1):177-185.
- Quintanar-Guzmán A, Jaramillo-Flores ME, Solorza-Feria J, Méndez-Montealvo MG, Wang YJ. 2010. Effects of polymerization changes in maize proteins during nixtamalization on the thermal and viscoelastic properties of masa in model systems. *Journal of Cereal Science*, 52:152-160.
- Rahaie S, Emam-Djomeh Z, Razavi SH, Mazaheri M. 2012. Evaluation of aflatoxin decontaminating by two strains of *Saccharomyces cerevisiae* and

*Lactobacillus rhamnosus* strain GG in pistachio nuts. *International Journal of Food Science & Technology*, 47:1647-1653.

Ramírez-Wong B, Sweat VE, Torres PI, Rooney LW. 1996. Evaluation of the rheological properties of fresh corn masa using squeezing flow viscometry: biaxial extensional viscosity. *Journal of Texture Studies*, 27:185-198.

Raney VM, Harris TM, Stone MP. 1993. DNA conformation mediates aflatoxin B<sub>1</sub>-DNA binding and the formation of guanine N7 adducts by aflatoxin B<sub>1</sub> 8,9-exo-epoxide. *Chemical Research in Toxicology*, 6:64-68.

Rendon-Villalobos R, Bello-Pérez LA, Osorio-Díaz P, Tovar J, Paredes-López O. 2002. Effect of storage time on in vitro digestibility and resistant starch content of nixtamal, masa, and tortilla. *Cereal Chemistry*, 79(3):340-344.

Reyes-Moreno C, Milán-Carrillo J, Gutiérrez-Dorado R, Paredes-López, O., Cuevas-Rodríguez EO, Garzón-Tiznado JA. 2003. Instant flour from quality protein maize (*Zea mays* L). Optimization of extrusion process. *LWT-Food Science and Technology*, 36:685-695.

Rodrigues P, Venâncio A, Lima N. 2012. Aflatoxigenic fungi and aflatoxins in Portuguese almonds. *The Scientific World Journal*:1-9.

Rodríguez ME, Yáñez-Limón M, Alvarado-Gil JJ, Vargas H, Sánchez-Sinencio F, Figueroa JDC, Martínez-Bustos F, Martínez-Montes JL, González-Hernández J, Silva MD, Miranda LCM. 1996. Influence of the structural changes during alkaline cooking on the thermal, reological, and dielectric properties of corn tortillas. *Cereal Chemistry*, 73(5):593-600.

Rodríguez-García ME, Serna-Saldívar SO, Sánchez-Sinencio F. 2008. Nixtamalización del maíz a la tortilla. Aspectos nutrimentales y toxicológicos. 1a. Ed. Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México:19-70

Rodríguez-Méndez LI, Figueroa-Cárdenas JD, Ramos-Gómez M, Méndez-Lagunas LL. 2013. Nutraceutical properties of flour and tortillas made with an ecological nixtamalization process. *Journal of Food Science*, 78:C1529-C1534.

Rojas-Molina I, Gutiérrez E, Rojas A, Cortés-Álvarez M, Campos-Solís L, Hernández-Urbiola M, Arjona JL, Cornejo A, Rodríguez-García ME. 2009. Effect of temperature and steeping time on calcium and phosphorus content in nixtamalized corn flours obtained by traditional nixtamalization process. *Cereal Chemistry*, 86(5):516-521.

Ruiz-Gutiérrez MG, Quintero-Ramos A, Meléndez-Pizarro CO, Talamás-Abbud R, Barnard J, Márquez-Meléndez R, Lardizábal-Gutiérrez D. 2012. Nixtamalization in two steps with different calcium salts and the relationship with chemical, texture and thermal properties in masa and tortilla. *Journal of Food Process Engineering*, 35:772-783.

Rustom IY. 1997. Aflatoxin in food and feed: occurrence, legislation and inactivation by physical methods. *Food Chemistry*, 59(1):57-67.

SAGARPA, 2013. Cierre de la producción agrícola por cultivo. Servicio de información agroalimentaria y pesquera. [En línea] Disponible en: [URL:http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/](http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/) [Último acceso: enero de 2015]

Sahai D, Mua JP, Surjewan I, Buendia MO, Rowe M, Jackson DS. 2001. Alkaline processing (nixtamalization) of white mexican corn hybrids for tortilla production: significance of corn physicochemical characteristics and process conditions. *Cereal Chemistry*, 78(2):116-120.

Sahai D, Surjewan I, Mua JP, Buendia MO, Rowe M, Jackson DS. 2000. Dry matter loss during nixtamalization of a white corn hybrid: Impact of processing parameters. *Cereal Chemistry*, 77(2):254-258.

Sala R, Barroeta AC. 2003. Manual de microscopía de piensos. Colección materials. Universitat Autònoma de Barcelona; Servei de Publicacions:13-18.

Saleemullah AI, Iqtidar AK, Hamidullah S. 2006. Aflatoxin contents of stored and artificially inoculated cereals and nuts. *Food Chemistry*, 98:699-703.

Salinas-Moreno Y, Aguilar-Modesto L. 2010. Efecto de la dureza del grano de maíz (*Zea mays* L.) sobre el rendimiento y calidad de la tortilla. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas*, 2(1):5-11.



Salinas-Moreno Y, Castillo-Linares EB, Vázquez-Carrillo MG, Buendía-González MO. 2011. Mezclas de maíz normal con maíz ceroso y su efecto en la calidad de la tortilla. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 2(5):689-702.

Salinas-Moreno Y, Gómez-Montiel NO, Cervantes-Martínez JE, Sierra-Macías M, Palafox-Caballero A, Betanzos-Mendoza E, Coutiño Estrada B. 2010. Calidad nixtamalera y tortillera en maíces del trópico húmedo y sub-húmedo de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 1(4):509-523.

Salinas-Moreno Y, Saavedra-Arellano S, Soria-Ruíz J, Espinosa-Trujillo E. 2008. Características fisicoquímicas y contenido de carotenoides en maíces (*Zea mays* L.) amarillos cultivados en el Estado de México. *Agricultura Técnica en México*, 34(3):357-364.

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

Sanchis V, Marín S, Ramos AJ. 2000. Control de micotoxinas emergentes. Situación legislativa actual. *Revista Iberoamericana de Micología*, 17:S69-S75.

Sandosskumar R, Karthikeyan M, Mathiyazhagan S, Mohankumar M, Chandrasekar G, Velazhahan R. 2007. Inhibition of *Aspergillus flavus* growth and detoxification of aflatoxin B1 by the medicinal plant zimmu (*Allium sativum* L. x *Allium cepa* L.). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23:1007-1014.

Sandu C. 1986. Infrared radiative drying in food engineering: a process analysis. *Biotechnology Progress*, 2:109-119.

SAS, 1998. Statical Analysis System. NC, USA.

Saulnier L, Marot, C, Chanliaud E, Thibault JF. 1995. Cell wall polysaccharide interactions in maize bran. *Carbohydrate Polymers*, 26: 279-287.

Schindler AF, Palmer JG, Eisenberg WV. 1967. Aflatoxin production by *Aspergillus flavus* as related to various temperatures. *Applied Microbiology*, 15(5):1006-1009.

Secretaría de Economía, 2012. Análisis de la cadena de valor maíz-tortilla: situación actual y factores de competencia local. Dirección general de industrias básicas. [En línea] Disponible en: [URL:http://www.economia.gob.mx/files/comunidad\\_negocios/industria\\_comercio/informacionSectorial/20120411\\_analisis\\_cadena\\_valor\\_maiz-tortilla.pdf](http://www.economia.gob.mx/files/comunidad_negocios/industria_comercio/informacionSectorial/20120411_analisis_cadena_valor_maiz-tortilla.pdf) [Último acceso: enero de 2015].

Sefa-Dedeh S, Cornelius B, Sakyi-Dawson E, Afoakwa EO. 2004. Effect of nixtamalization on the chemical and functional properties of maize. *Food Chemistry*, 86:317-324.

Serna-Saldivar SO, Almeida-Dominguez HD, Gomez MH, Bockholt AJ, Rooney LW. 1991. Method to evaluate ease of pericarp removal on lime-cooked corn kernels. *Crop Science*, 31:842-844.

Serna-Saldivar SO, Guerra CAA, Macias PH, Cuellar JLM, Ortiz REP, Ibarra ADT, Carrillo GV. 2008. Evaluation of the lime-cooking and tortilla making properties of quality protein maize hybrids grown in Mexico. *Plant Foods for Human Nutrition*, 63:119-125.

Sharma GP, Verma RC, Pathare PB. 2005. Thin-layer infrared radiation drying of onion slices. *Journal of Food Engineering*, 67:361-366.

Shi J, Pan Z, McHugh TH, Wood D, Hirschberg E, Olson D. 2008. Drying and quality characteristics of fresh and sugar-infused blueberries dried with infrared radiation heating. *LWT-Food Science and Technology*, 41:1962-1972.

Shimada T, Guengerich PF. 1989. Evidence for cytochrome P-450<sub>NF</sub>, the nifedipine oxidase, being the principal enzyme involved in the bioactivation of aflatoxins in human liver. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86:462-465.

Sierra-Macías M, Palafox-Caballero A, Vázquez-Carrillo G, Rodríguez-Montalvo F, Espinosa-Calderón A. 2010. Caracterización agronómica, calidad industrial y nutricional de maíz para el trópico mexicano. *Agronomía Mesoamericana*, 21(1):21-29.

Smith JE, Henderson RS. 1991. Mycotoxins and animal foods. CRC Press, Inc. Boca Ration, Florida:101-110.

Soriano del Castillo JM, Zakhia-Rozis N, Catalá AM. 2007. Micotoxinas en los alimentos. Editorial Díaz de Santos, España:119-129.

Stark AA, Essigmann JM, Demain AL, Skopek TR, Wogan GN. 1979. Aflatoxin B1 mutagenesis, DNA binding, and adduct formation in *Salmonella typhimurium*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 76(3):1343-1347.

Takahashi N, Dashwoo RH, Bjeldanes LF, Williams DE, Bailey GS. Mechanisms of indole-3-carbonil (I3C) anticarcinogenesis: inhibition of aflatoxin B1-DNA adduction and mutagenesis by I3C acid condensation products. *Food and Chemical Toxicology*, 33(10):851-857.

Tédihou E, Olatinwo R, Hell K, Hau B, Hoogenboom G. 2012. Effects of variety, cropping system and soil inoculation with *Aspergillus flavus* on aflatoxin levels during store of maize. *Tropical Plant Pathology*, 37(1):25-36.

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

Trejo-González A, Fera-Morales A, Wild-Altamirano C. 1982. The role of lime in the alkaline treatment of corn for tortilla preparation. *Advances in Chemistry Series*, 198:245-263.

Urrego Novoa JR, Díaz GJ. 2006. Aflatoxinas: mecanismos de toxicidad en la etiología de cáncer hepático celular. *Revista de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia*, 54 (2):108-116.

USDA. 2014. Grain: World markets and trade. [En línea] Disponible en: [URL:http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/grain.pdf](http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/grain.pdf) [Último acceso: enero de 2015].

Valderrama-Bravo C, Gutiérrez-Cortez E, Contreras-Padilla M, Oaxaca-Luna A, Del Real-López A, Espinosa-Arbelaez DG, Rodríguez-García ME. 2013.

Physico-mechanic treatment of nixtamalization by-product (nejayote). *CyTA-Journal of Food*, 11:75-83.

Valderrama-Bravo C, Rojas-Molina A, Gutiérrez-Cortéz E, Rojas-Molina I, Oaxaca-Luna A, De la Rosa-Rincón E, Rodríguez-García ME. 2010. Mechanism of calcium uptake in corn kernels during the traditional nixtamalization process: Diffusion, accumulation and percolation. *Journal of Food Engineering*, 98:126-132.

Van Rensburg CJ, Van Rensburg CEJ, Van Ryssen JBJ, Casey NH, Rottinghaus GE. 2006. *In vitro* and *in vivo* assessment of humic acid as an aflatoxin binder in broiler chickens. *Poultry Science*, 85:1576-1583.

Varga J, Frisvad JC, Samson RA. 2011. Two new aflatoxin producing species and an overview of *Aspergillus* section *flavi*. *Studies in Micology*, 69:57-80.

Vázquez-Carrillo MG, Ávila-Uribe G, Hernández-Montes A, Castillo-Merino J, Angulo-Guerrero O. 2011. Evaluación sensorial de tortillas de maíz recién elaboradas y empacadas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 2:161-167.

Velasco-Martínez M, Angulo O, Vazquez-Couturier DL, Arroyo-Lara A, Monroy-Rivera JA. 1997. *Poultry Science*, 76:1531-1534.

Velazhahan R, Vijayanandraj S, Vijayasamundeeswari A, Paranidharan V, Samiyappan R, Iwamoto T, Friebe B, Muthukrishnan S. 2010. Detoxification of aflatoxins by seed extracts of the medicinal plant, *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague ex Turrill – Structural analysis and biological toxicity of degradation product of aflatoxin G1. *Food Control*, 21:719-725.

Velu V, Nagender A, Rao PP, Rao DG. 2006. Dry milling characteristics of microwave dried maize grains (*Zea mays* L.). *Journal of Food Engineering*, 74:30-36.

Wang H, Nussbaum-Wagler T, Li B, Zhao Q, Vigouroux Y, Faller M, Bomblies-Yant K, Lukens L, Doebley J. 2005. The origin of the naked grains of maize. *Nature*, 436(7051):714-719.

Wang TV, Cerutti PA. 1979. Formation and removal of aflatoxin B1-induced DNA lesions in epithelioid human lung cells. *Cancer research*, 39:5165-5170.

Wild CP, Gong YY. 2010. Mycotoxins and human disease: a largely ignored global health issue. *Carcinogenesis*, 31(1):71-82.

Wild CP, Turner PC. 2002. The toxicology of aflatoxins as a basis for public health decisions. *Mutagenesis*, 17(6):471-481.

Wilkes HG. 1977. Hybridization of maize and teosinte, in Mexico and Guatemala and the improvement of maize. *Economic Botany*, 31:254-293.

Wilkes, H.G., 1995. El teocintle en México: panorama retrospectivo y análisis personal. Memoria del foro flujo genético entre maíz criollo, maíz mejorado y teocintle: implicaciones para el maíz transgénico:11-19.

Wilson DM, Jay E. 1976. Effect of controlled atmosphere storage on aflatoxin production in high moisture peanuts (groundnuts). *Journal of Stored Products Research*, 12:97-100.

Wu Q, Jezkova A, Yuan Z, Pavlikova L, Dohnal V, Kuca K. 2009. Biological degradation of aflatoxins. *Drug Metabolism Reviews*, 41(1):1-7.

Yang CY. 1972. Comparative studies on the detoxification of aflatoxins by sodium hypochlorite and commercial bleaches. *Applied Microbiology*, 24(6):885-890.

Yu J, Bhatnagar D, Ehrlich K. 2002. Aflatoxin biosynthesis. *Revista Iberoamericana de Micología*, 19: 191-200.