

UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA. UNIDAD IZTAPALAPA.

CIENCIAS BIOLOGICAS Y DE LA SALUD. DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGIA.



ANALISIS MICROBIOLOGICO DE LA CADENA MAÍZ-TORTILLA PARA LA DETERMINACION DE SU VIDA MEDIA.

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE: ESPECIALIDAD EN BIOTECNOLOGÍA.

PRESENTA:

I.A. MARIA IVONNE LINARES MOSQUEDA

ASESOR.

DR. GERARDO RAMÍREZ ROMERO.

LECTOR.

DRA. ALMA ELIZABETH CRUZ GUERRERO.

MARZO, 2012.

Asesores.

Dr. Gerardo Ramírez Romero.

Director.

Departamento de Biotecnología.

Ciencias Biológicas y de la Salud.

Dra. Alma Elizabeth Cruz Guerrero.

Lector.

Departamento de Biotecnología.

Ciencias Biológicas y de la Salud.

Agradecimientos.

A DIOS por otorgarme las fuerzas necesarias cada día para salir adelante ante cualquier circunstancia, por su paciencia pero sobre todo por estar ahí.

A la Universidad Autónoma Metropolitana y al área de Ciencias Biológicas y de la Salud por el apoyo para realizar la investigación de este proyecto.

A los molinos por darme la facilidad de tomar muestras y analizarlas para mejorar los productos obtenidos de la nixtamalización.

Dedicatorias.

A mis padres:

Antonio Linares Rivera

y

Ma. Gloria Mosqueda Zepeda.

Por enseñarme a siempre dar lo mejor de mí, por el impulso que siempre he recibido para dar lo mejor como persona, sus consejos y su comprensión pero sobre todo por su cariño y su amor.

A mi novio:

Miguel Esteban Duran Rodríguez.

Le agradezco el apoyo ofrecido en cada momento, la paciencia que tuvo y mostro en cada día que se llevó a cabo este trabajo pero sobre todo a su amor incondicional para conmigo. Eres una persona maravillosa con la cual se puede contar en cada situación "TE AMO".

Aprendemos a amar no cuando encontramos a la persona perfecta, sino cuando llegamos a ver de manera perfecta a una persona imperfecta.

Sam Keen

A mi profesor:

Dr. Gerardo Ramírez Romero.

Gracias por el tiempo y la sabiduría que me mostro para poder realizar la investigación del proyecto.

Gracias a su apoyo y confianza depositada en mí, la cual me ayudo para ser una mejor persona, con lo cual podre desarrollarse profesionalmente de una manera ética y profesional. A la profesora:

Dra. Alma Cruz Guerrero.

Por dedicarle el tiempo y a su asesoría en los resultados obtenidos a la paciencia pero sobre todo a su colaboración para terminar de la mejor forma este proyecto.

Al profesor:

Dr. Héctor Escalona B.

Por su ayuda, su tiempo, pero sobre todo a la asesoría que tuvo para la mejor interpretación de los resultados estadísticos desarrollados en esta investigación para poder terminar de manera adecuada

"GRACIAS".

A mis compañeros de Trabajo:

Abigail Morales y Miguel Ángel Hernández.

Les agradezco su tiempo y dedicación, por la explotación que sufrieron al estar realizando dicha investigación de la cual se obtuvieron excelentes resultados, pero sobre todo por la amistad que surgió de esta. "GRACIAS POR TODO".

Índice.

	Pág.
Introducción.	1
Antecedentes.	5
Maíz.	5
La nixtamalización tradicional.	10
La nixtamalización a baja temperatura.	16
Microbiología.	18
Toxinas de los cereales.	21
Toxinas de aspergillus.	22
Buenas prácticas de manufactura (BPM).	27
 Análisis de puntos críticos de control (HACCP) 	28
Objetivo general.	
Objetivos particulares.	31
Metodología.	32
Nixtamalización tradicional	32
Toma de muestra.	33
Nixtamalización a baja temperatura propuesta UAM.	34
Toma de muestra.	35
Tortillería que utiliza masa y harina de maíz nixtamalizada.	36
Toma de muestra.	36
Análisis microbiológico.	38

•	Preparación de medios de cultivo	39
•	Determinación y recuento.	40
•	Análisis estadístico.	41
•	Buenas Prácticas de Manufactura. (BPM)	41
•	Determinación y Análisis de Puntos Críticos de Control. (HACCP)	43
Resi	ultados.	45
•	Comparativo de cuenta total molino "A" y sus tres tortillerías.	45
•	Comparativo de coliformes molino "A" y sus tres tortillerías	47
•	Hongos presentes en el molino "A".	48
•	Comparativo de cuenta total molino "B" y sus tres tortillerías.	49
•	Comparativo de coliformes molino "B" y sus tres tortillerías	50
•	Cuenta total a baja temperatura propuesta UAM	51
•	Coliformes a baja temperatura propuesta UAM	52
•	Comparativo de cuenta total y coliformes a baja temperatura	53
	propuesta UAM	
•	Cuenta total tortillería que utiliza masa y harina de maíz	54
	nixtamalizada.	
•	Coliformes tortillería que utiliza masa y harina de maíz	55
	nixtamalizada.	
•	Comparativo de cuenta total y coliformes en tortillería que utiliza	56
	masa y harina de maíz nixtamalizada.	
•	Hongos presentes en la tortillería que utiliza masa y harina de	57

maíz nixtamalizada.

 Buenas Prácticas de Manufactura (BPM). 	57
 Determinación de Puntos Críticos de Control (HACCP). 	60
Discusión.	61
Conclusión.	
Bibliografía.	
Anexos.	



Introducción.

Es bien sabido que el maíz, es base de la alimentación en México y que en años recientes su producción ha disminuido debido a factores estructurales como resultado de las políticas públicas. El maíz, hecho tortilla, es consumido en México por todos los estratos sociales, llega incluso a ser sinónimo de identidad nacional. Más allá de la importancia ancestral, es necesario revalorar la importancia actual de la masa nixtamalizada y la tortilla como el alimento fundamental de la dieta mexicana, al ser un componente básico de la dieta de grandes estratos de la población tanto rural como urbana. Baste recordar que dicha masa y tortilla, como fuente de energía y calcio, por lo general, combinados con otros alimentos (leguminosas como el frijol, los quelites, los chiles y algunos de origen animal entre ellos algunos insectos), ofrecen carbohidratos y las proteínas necesarias que se necesitan para la vida y el trabajo, formando un núcleo alimentario básico, sin el cual, más del 50 por ciento de la población mexicana que vive en situaciones de pobreza, difícilmente podrían vivir.

La Universidad Autónoma Metropolitana ha estado trabajando con diversos grupos de molinos y tortillerías resolviendo problemas de la industria, el primero de ellos fue el manejo del agua residual, donde se ha logrado disminuir el consumo de agua, recircular los sólidos del nejayote y se está a punto de cumplir con los parámetros de la norma 002 de SEMARNAT, incluso se tiene una patente en trámite.



El otro de los problemas que se ha venido trabajando es el consumo eficiente de la energía. Durante muchos años, el costo de la energía así como el del maíz estuvo subsidiado por el gobierno, en la actualidad estas circunstancias han cambiado y hoy en día el costo de energía es el segundo costo más importante en la elaboración de la tortilla.

En trabajos recientes se ha probado que se puede obtener masa nixtamalizada a bajas temperaturas con características adecuadas para hacer una buena tortilla y logrando rendimientos atractivos. Esto se ha logrado mediante el uso de aislantes o mediante el uso de fuentes alternas de energía (energía solar) para mantener la temperatura de la tina por lo menos durante 5 horas.

Actualmente en los molinos, el control microbiológico lo llevan a cabo mediante el empleo de cal. Primero cuando el maíz se cuece a 90°C con cal durante un periodo de 15 a 30 minutos. Posteriormente a la salida del reposo de la nixtamalización se le agrega otro poco de cal para darle color y posteriormente cuando la masa se siente que se está empezando a acidificar, le ponen otro poco de cal, esto último sucede normalmente en la tortillería.

La flora microbiana de la masa de maíz y las tortillas pueden tener su origen en el suelo, en el medio ambiente del almacén, en la fase de cocimiento y reposo, así como en la manipulación y traslado a los diferentes expendios.



El hecho de que estos productos contengan en proteínas y carbohidratos, los hace factibles de ser atacados por microrganismos dados su actividad acuosa (a_w).

En condiciones de a_w favorables, ya que en el agua se llevan a cabo la mayoría de las reacciones químicas, enzimáticas y las transformaciones hidrolíticas necesarias para que un organismo crezca y se desarrollen, las bacterias del genero Bacillus y determinados géneros de mohos son capaces de producir amilasas, que utilizan fácilmente los carbohidratos de la masa y productos afines como fuente de energía, además de que tiene la suficiente humedad para permitir el crecimiento.

Dentro de esta microflora se pueden encontrar bacterias coliformes, que son perjudiciales en los alimentos ya que su presencia, se considera como signo de contaminación por desperdicios cloacales y por lo tanto posiblemente por bacterias entero patógenas. Ya que este tipo de bacterias crece en cualquier tipo de sustrato y pueden causar sabores anormales y desagradables en el alimento.

También se pueden encontrar algunos microorganismos patógenos, especialmente los que causan infecciones respiratorias que pueden llegar por medio del aire a los empleados y a los mismos alimentos, al igual que las esporas de los hongos que se trasmiten por aire pueden ocasionar problemas importantes.

Los estudios de la microflora en la masa de maíz elaborada por el proceso de nixtamalización, son muy escasos dadas las condiciones tan drásticas de pH y temperatura a la que se desarrolla la nixtamalización, sin embargo, ¿Qué es lo que



ocasiona la acidez de la masa?, ¿Por qué este es uno de los principales problemas que enfrentan los molinos de masa de maíz?

Para este estudio la parte más importante es saber si las modificaciones al proceso de nixtamalización propuesto no afecta negativamente la vida de la masa y la tortilla. Las razones para pensarlo son que en la recirculación de los sólidos del nejayote, existe un tiempo de 90 min en los que tanto el maíz como el nejayote se encuentran de manera separada y en reposo, que aunque en ese tiempo no se observan grandes variaciones de pH en el nejayote, la duda existe.

Por otro lado si se evita el calentamiento del agua hasta 90°C y por el contrario se mantiene el reposo del maíz a 50°C durante 4 hrs. ¿no se estará desarrollando un caldo de cultivo en la masa? aparentemente no, esto básicamente porque el pH de la masa no cambia mucho con relación al proceso tradicional, aunque puede haber crecimiento de esporulados.

Por estas razones se hace indispensable conocer la dinámica microbiológica debida a los cambios en el proceso de nixtamalización propuesto comparándolos con las condiciones actuales de preparación.



Antecedentes.

Maíz.

La evidencia arqueológica indica que el maíz existió como un precursor silvestre hace unos 7000 años en la región central de México. Unos 2000 años más tarde el maíz ya fue cultivado por el hombre y fue utilizado diariamente como alimento durante el desarrollo de la gran civilización Mesoamericana. Su cultivo y su transformación a productos comestibles han sido parte de la cultura de estas civilizaciones y también ha servido como tema para el arte, encontrándose en cuadros, libros, poesía y canciones compuestas por diferentes autores. La domesticación del maíz por las antiguas civilizaciones de Mesoamérica es responsable en gran medida en la evolución de estas sociedades, siendo muy importante en proporcionar la energía que este alimento vino a proveer a la población. (Rodríguez et al., 2008)

El maíz es uno de los cereales más importantes del mundo, pues además de suministrar elementos nutritivos tanto a los seres humanos como a los animales, es una materia prima básica en la industria de la transformación, con la que se produce almidón, aceite, proteínas, bebidas alcohólicas, edulcorantes y recientemente combustible. Como alimento se pude usar todo el grano, maduro o no, o bien se puede procesar con técnicas de molienda en seco para obtener un número relativamente amplio de productos intermedios (harinas, sémolas o aceites).



En México la forma más importante de consumo del maíz es como tortilla, un alimento producido tanto en el hogar como a nivel industrial, utilizando hidróxido de calcio en forma de cal en la cocción del grano. Este proceso se conoce en la actualidad como nixtamalización y consiste básicamente en una operación de cocción alcalina y una de remojo y lavado del grano cocido. La tecnología de la nixtamalización permite transformar el maíz en tortilla. Las tortillas o "tlaxcallin" eran la comida principal de los antiguos aztecas y grupos étnicos mesoamericanos, y hasta la fecha es el alimento básico de consumo diario en México, es la base de la supervivencia y desarrollo de nuestra sociedad desde hace 3500 años.

En México la tortilla forma parte de la dieta de todos los estratos sociales, con un consumo per cápita de 120 Kg anuales, esto es, 328 g de tortilla por día. En las zonas urbanas se estima que la tortilla sola provee 38.8% de proteínas, 45.2% de calorías y 49.1% de calcio en la dieta diaria de la población en México, mientras que en las zonas rurales provee alrededor del 70% del total de calorías y el 50% de las proteínas ingeridas diariamente por la población.

La palabra maíz (*Zea mays*) significa literalmente "lo que sustenta la vida"; el grano pertenece a la familia de las gramíneas y es una planta alta dotada de un sistema radicular fibroso (figura 1). Se trata de una especie que se produce por polinización cruzada, donde las flores femeninas (elote, mazorca, choclo o espiga) y la masculina (espiguilla) se hayan en distintas partes de la planta. El grano constituye aproximadamente el 42% del peso seco de la planta. La planta de maíz se puede



definir como un sistema metabólico cuyo producto final y fundamental es el almidón que se encuentra depositado en unos órganos especializados: los granos. El grano se desarrolla en unas estructuras llamadas panojas, con un número variable de hileras (12-16), produciendo de 300 a 1000 granos por elote.

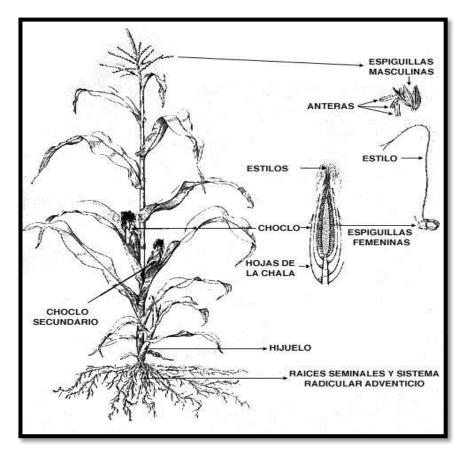


Figura 1. Partes del maíz.

Fuente: Salinas et al., 2003

El crecimiento de la planta se divide en dos fases fisiológicas. En la primera, o fase vegetativa, se desarrollan y se diferencian distintos tejidos hasta que aparecen las estructuras florales, se forman las primeras hojas y se desarrollan los órganos de



reproducción. Este ciclo acaba con la emisión de los estigmas (pelos o cabellos del maíz).

La segunda fase, también llamada fase de reproducción, comienza con la fertilización de las estructuras femeninas que se diferenciarán en espigas y granos. La etapa inicial de esta fase se caracteriza por el incremento de peso de las hojas y otras partes de la flor; durante la segunda etapa, el peso de los granos aumenta con rapidez.

El maíz es a menudo de color blanco o amarillo, aunque también hay variedades de color negro, rojo y jaspeado. Hay varios tipos de granos, que se distinguen por las diferencias de los compuestos químicos depositados o almacenados en él.

Las principales variedades de maíz son: de vaina, dentado, dulce, palomero, harinoso ceroso y duro, este último también se utiliza como pienso. El de mayor importancia comercial es el dentado (73% de la producción global), que se emplea principalmente como alimento para ganado y para la elaboración de productos industriales.

El maíz blando (la variedad favorita para el consumo humano) consiste en granos suaves que son fácilmente molidos y cocinados para elaborar tortillas, tamales, atoles, etc. Este tipo de maíz ocupa el 12% de la producción mundial.

El maíz reventador o palomero es un grano esférico y pequeño con un núcleo harinoso (suave) y una cubierta cristalina (dura). La humedad atrapada en la parte



harinosa se expande cuando se aplica calentamiento y revienta a través de la cubierta dura, creando palomitas de maíz. Se produce muy poco a nivel mundial.

El maíz dulce tiene un endospermo (cuerpo del grano, tejido nutritivo de reserva para el embrión) constituido principalmente por azúcares, con poca proporción de almidón. Su producción no es muy elevada (1%), pero es apreciado en la industria de alimentos.

El maíz azul es un genotipo de endospermo pigmentado y harinoso que crece por lo general en mazorcas largas (8-12 filas). El maíz azul fue especialmente valorado como un maíz ceremonial por las tribus indias norteamericanas y en la actualidad se utiliza para producir comida orgánica, como frituras de maíz Dickerso encontró que la calidad de la proteína del maíz azul era mayor que la de los granos amarillos o blancos debido a que contienen mayores niveles de lisina.

Dentro de los diversos compuestos fitoquímicos presentes en el maíz nativo azul de México, se encuentran, entre otros, las antocianinas. Se ha reportado que estos químicos tienen propiedades bioactivas como la actividad antioxidante, la habilidad de reducir la formación de radicales libres, la inhibición de nitrosamiento, el secuestro de metales y la capacidad de modular ciertas actividades celulares enzimáticas. También han demostrado actividades antimutagenicas/anticarcinogénicas, antimicrobiales y antiinflamatorias, así como la disminución de las enfermedades cardiovasculares. (De Teresa Ochoa *et al.*, 2009).



La Nixtamalización Tradicional.

En México, el consumo de maíz es principalmente a través de las tortillas, para lo cual se emplea casi exclusivamente el maíz blanco. La razón de esto es que el gusto general del país favorece este tipo de grano y se supone que mientras más blancas sean las tortillas, son de mejor calidad.

El maíz amarillo se usa en forma esporádica por la industria nixtamalera cuando el maíz blanco escasea. En tales situaciones, el maíz amarillo se mezcla con objeto de obtener una harina de color intermedio.

Para la elaboración de tortillas, el maíz se somete a un tratamiento llamado nixtamalización, un proceso de antigüedad milenaria usado en México y en algunos países de América Central. Proviene de la palabra náhuatl "nextli" que significa cenizas o cenizas de cal, y "tamalli" que significa masa de maíz, y consiste en la cocción del maíz en agua adicionada con cal para lograr la gelificación de los almidones existentes en él y otorgar a la tortilla su flexibilidad y sabor característico.

En su forma tradicional, primero se hierve el maíz en agua en una proporción de 1:3 (peso: volumen) a la que se ha añadido 1-3% de cal, con lo cual se alcanza un pH que varia de 11 a 13. El tiempo de cocimiento, que fluctúa entre 10 y 20 minutos, depende de las variedades de maíz, pues las variedades de endospermo suave requieren menos tiempo que las de endospermo duro. La dureza del grano está dada por la composición y grosor del pericarpio, y de la relación de concentración de



amilosa y amilopectina. Después de este corto tiempo de ebullición, se deja reposar de 10 a 14 horas. El agua de cocción llamada "nejayote", se elimina y después el maíz se lava con agua para eliminar el exceso de álcali, y mejorar el sabor de la tortilla que de otra forma sería alcalino. El nejayote es un contaminante importante por su alta demanda biológica de oxígeno y su pH de aproximadamente 12. (De Teresa Ochoa *et al.*, 2009)

El maíz ya lavado se muele en un molino de piedras que, por la fricción, genera una gran cantidad de calor que incrementa considerablemente la temperatura de la masa obtenida. Finalmente, esta masa sirve para preparar un gran número de alimentos, entre los que destaca notablemente la tortilla; para su fabricación, se requiere un cocimiento a 170-190°C durante 4 a 5 minutos, mismo que se lleva a cabo en planchas metálicas o de barro. Como se observa, para fabricar la tortilla de maíz se somete a tratamientos drásticos, poco comunes en la industria alimenticia: primeramente el térmico-alcalino, seguido del calentamiento en el molino y por último, el de la cocción final en la plancha, todos ellos tratamientos severos. Para ser aceptada, la tortilla debe reunir ciertas características de aroma y de sabor. Además debe contar con buena flexibilidad y una textura adecuadas para poderla doblar y enrollar para comerla sin romperse. Sus propiedades sensoriales y mecánico-plásticas dependen de muchos factores entre los que destacan la variedad de maíz, la temperatura, el tiempo de cocción y el pH.



Cuando en lugar de la tradicional cal se utilizan iones monovalentes como álcali (NaOH o KOH), no se obtienen buenos resultados, sobre todo en lo relacionado con las propiedades plásticas de la tortilla; el almidón no contiene grupos ionizables, pero en condiciones fuertemente alcalinas y a temperaturas elevadas (como las de la nixtamalización), puede ocurrir la disociación de los hidroxilos y producir cargas negativas en las moléculas de glucosa; éstas, a su vez, interaccionan mediante los iones divalentes de calcio o magnesio y crean una estructura continua; es algo semejante a lo que ocurre en la gelificación de las pectinas de bajo metoxilo.

Durante las distintas etapas de la nixtamalización, y debido a los múltiples factores que intervienen en ella, puede ocurrir una gran variedad de reacciones físicas y químicas, los parámetros más importantes a controlar son: los tiempos de remojo, la concentración de álcali, la velocidad de incremento de temperatura, entre otros. La composición química de cada variedad de maíz, como el contenido de carbohidratos, de proteínas y de algunos otros componentes debe también considerarse, pues todo ello repercute en las características de la masa y de la tortilla. Un ejemplo reciente lo constituye el establecimiento de las condiciones de nixtamalización para las variedades de maíz QPM (variedades de mejor calidad proteica en cuanto al contenido de lisina y triptófano), cuyo procesamiento debe ser diferente.

Algunos de los cambios que suceden durante la nixtamalización ya han sido estudiados: se gelatiniza el almidón, se hidroliza la hemicelulosa del pericarpio y se destruyen algunos aminoácidos y vitaminas; por otra parte, en el nejayote se



solubilizan minerales, grasas, vitaminas y algunas proteínas, como las albúminas y las globulinas. A pesar de ser un tratamiento severo, la nixtamalización tiene beneficios, ya que mejora la calidad nutritiva del maíz, debido a las siguientes transformaciones: la biodisponibilidad de la lisina de la glutelina se incrementa considerablemente, así como la del triptófano y; lo mismo ocurre con la niacina, que originalmente se encuentra en forma no disponible biológicamente; la destrucción de leucina hace que la relación de este aminoácido con la isoleucina mejore considerablemente y se incremente el aprovechamiento de ambos; la gelatinización del almidón propicia que éste sea utilizado por el organismo humano.

Por lo mencionado anteriormente, algunos autores consideran que fue precisamente la nixtamalización del maíz lo que hizo que florecieran las culturas precolombinas. En otros pueblos como por ejemplo Egipto, donde se consume sólo cocido sin adición de álcalis se desarrollaba la pelagra, enfermedad mortal causada por la deficiencia de niacina; en cambio, los maíces preparados por este método no la provocan ya que la niacina se hace disponible, así como el triptófano (precursor de esta vitamina), además de que se corrige la relación desequilibrada de leucina/isoleucina.

En resumen, a pesar de que el maíz nixtamalizado pierde algo de proteína, fibra, grasa y vitamina, su calidad nutritiva es mayor que la de la materia prima; cabe mencionar que gracias a este proceso, un amplio sector de la población mexicana satisface sus necesidades diarias de calcio; aproximadamente 40% del utilizado en la nixtamalización se retiene en el grano y en sus derivados.



Es posible que debido a las condiciones térmico-alcalinas drásticas a que se somete el maíz se favorezcan otras reacciones como las de racemización de aminoácidos, las síntesis de enlaces isopeptídicos y la formación de lisinoalanina es mucho más fácil con álcalis de cationes monovalentes que con divalentes, puesto que con calcio no se lleva a cabo tan fácilmente como con hidróxido de sodio. Aun cuando la nixtamalización mejora la calidad nutritiva del maíz, es un producto deficiente de lisina, pero rico en metionina; por otra parte, como en México también es costumbre consumir frijol (*Phaseolus vulgaris*) que es deficiente en metionina, pero rico en lisina, la mezcla de estos dos productos se complementa muy adecuadamente, de tal forma que con el consumo de ambos en una proporción de 50% cada uno se obtienen los mejores resultados.

Se ha propuesto la fortificación de las tortillas con harina de soya, lo que incrementa la utilización biológica y el índice PDCCEAS (Cuenta Química con Digestibilidad Verdadera) de las tortillas elaboradas, con efectos notables si la dieta se mantiene por más de una generación en animales de laboratorio. (Badui., 2006)

Algunos expertos sugieren que la temperatura mínima para efectuar la nixtamalización es de 70°C ya que a menor temperatura el grano no se hidrata lo suficiente y se endurece, la temperatura máxima sugerida es de 90°C pues a mayor temperatura el almidón del grano se gelatiniza, quedando demasiado suave y obteniéndose una masa flácida y chiclosa que no permite la elaboración de las tortillas. (De Teresa Ochoa *et al.*, 2009)



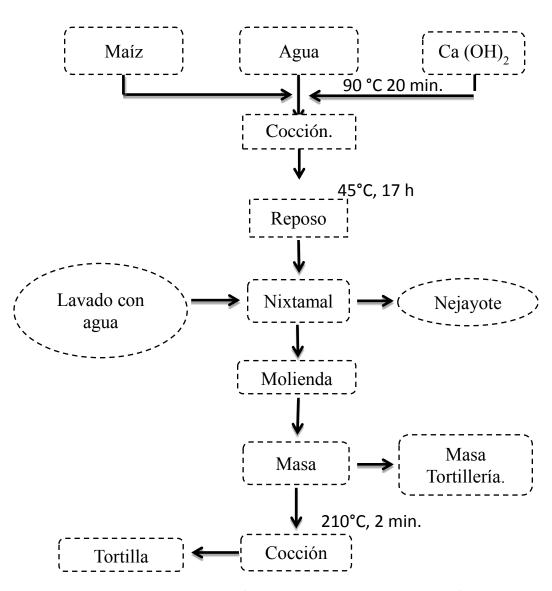


Figura 2. Metodología tradicional del proceso de nixtamalización.



La Nixtamalización a Baja Temperatura.

En trabajos recientes de la Universidad se ha probado que es posible obtener masa de maíz nixtamalizado a bajas temperaturas durante el proceso de nixtamalización con características adecuadas para hacer una buena tortilla y logrando rendimientos atractivos. Esto se logró con el uso de aislantes y el empleo de fuentes externas de energía (energía solar) para mantener la energía de la tina.

Este proceso se llevó a cabo a bajas temperaturas de nixtamalización, a una temperatura de 60°C la cual disminuye al incorporarle el Ca (OH)₂ cal y el maíz, los cuales alcanzan una temperatura de 50°C, se deja en reposo la tina donde se llevó a cabo el proceso por 24 horas, dicha tina se encuentra cubierta por un aislante elastómero el cual permite que la temperatura se mantenga constante y no disminuya durante el tiempo de reposo (técnica en proceso de patente).



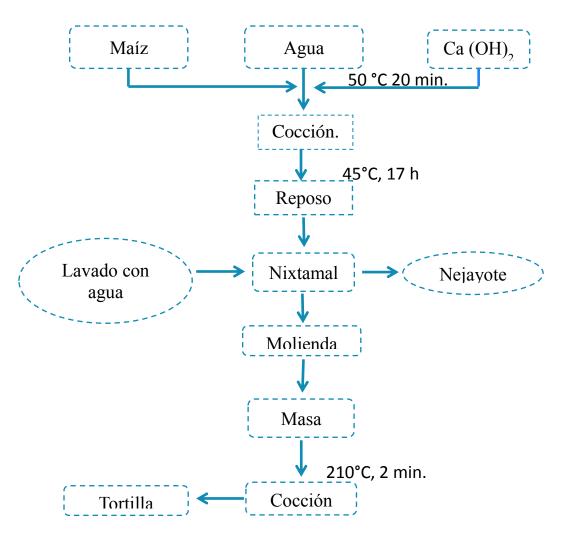


Figura 3. Metodología del proceso a baja temperatura de nixtamalización UAM-I



Microbiología.

La microbiología es el estudio de los microrganismos, un grupo amplio y diverso de organismos microscópicos que existen como células aisladas o asociadas. Las células microbianas se distinguen pues de las células animales y plantas, en que son incapaces de vivir aisladas en la naturaleza y sólo existen formando parte de organismos multicelulares.

La biotecnología implica el uso de microrganismos en procesos industriales a gran escala, utilizando por lo general microrganismos modificados genéticamente y capaces de sintetizar productos específicos de elevado valor comercial.

La biotecnología depende en gran medida de la ingeniería genética, una disciplina que trata de la manipulación artificial de genes y de sus productos. (Brook., 1993)

La microbiología alimentaria considera la parte negativa de los microrganismos. La microbiología alimentaria aborda principalmente dos problemas:

- Los alimentos no pueden causar enfermedades al ser ingeridos. Es básica en un alimento su inocuidad, que no provoquen perjuicios al ser humano, por la presencia de organismos patógenos en ellos.
- Los alimentos han de poder conservarse durante un cierto tiempo, no se pueden estropear por la acción de organismos en ellos, o como mínimo retrasar la degradación.



La microbiología alimentaria se preocupa por la alteración de los alimentos por la acción de los microrganismos desde el punto de vista sanitario y organoléptico. (http://www.quimicaindustrialhn.net/recursos/descargas/doc_view/29-microbiologia-industrial-y-alimentaria.raw?tmpl=component).

Como nuestros alimentos son de origen vegetal y animal, es menester considerar las características de los tejidos de las plantas y de los animales que pueden afectar de algún modo el desarrollo de los microrganismos. Tanto las plantas como los animales que nos sirven de sustento han desarrollado mecanismos de defensa frente a la invasión y proliferación de los microrganismos y algunos de ellos permanecen activos cuando el organismo vivo se transforma en alimento. Teniendo en cuenta este fenómeno natural, es posible aprovecharse de todos o de algunos de estos mecanismos para prevenir, impedir o retardar la multiplicación de los microrganismos alterantes y patógenos en los productos derivados de tales materias primas. (Jay *et al.*, 1994)

La superficie externa de los granos de cereales que se cosechan, conserva algunos de los microrganismos adquiridos durante su desarrollo más la flora contaminante procedente del suelo, de los insectos y de otras procedencias. Los granos de cereales recién cosechados contienen desde algunos miles a varios millones de bacterias por gramo y desde ninguna a varios cientos de miles de esporas de mohos. Las familias se incluyen principalmente en las familias Pseudomonadaceae, Micrococcaceae, Lactobacillaceae, y Bacillaceae. La limpieza y el lavado de los



granos de cereales eliminan algunos microrganismos, si bien la mayoría son eliminados junto con su parte externa durante la molienda.

El grano de maíz molido y la harina de maíz contienen desde varios cientos a varios miles de bacterias y mohos por gramo. Los mohos predominantes son las especies de los géneros Fusarium y Penicillium. Las maltas tienen gran cantidad de bacterias, generalmente del orden de millones por gramo, debido a que su incubación se lleva a cabo con humedad. (Frazier *et al.*, 1993)

Los parámetros intrínsecos, se refieren a ciertas características o componentes que forma parte de, o son inherentes a, los tejidos animales o vegetales. Estos parámetros son:

- 1. pH.
- 2. Contenido de humedad.
- 3. Potencial de óxido reducción (Eh).
- Contenido de nutrientes.
- 5. Componentes antimicrobianos.
- 6. Estructuras biológicas.

También se cuenta con parámetros extrínsecos, estos parámetros son independientes del producto en sí mismo. Se refieren a las condiciones de almacenamiento que afectan tanto al alimento como a los microrganismos que éste contenga los más destacados para la supervivencia de los microrganismos son:



- 1. La temperatura de almacenamiento.
- 2. La humedad relativa del entorno.
- 3. La presencia y concentración de gases.
- 4. La presencia y la actividad de otros microrganismos. (Jay et al., 1994)

Toxinas de los cereales.

Entre los tóxicos asociados a cereales se encuentra principalmente las micotoxinas producidas por hongos, principalmente: *Claviceps, Penilcillium, Aspergillus y Fusarium*. También existe el riesgo de que algunos granos contengan concentraciones elevadas de ácido fítico o bien presenten inhibidores de amilasas. Actualmente las micotoxinas están consideradas entre los compuestos de mayor importancia por ser contaminantes ampliamente distribuidos. Estos son un ejemplo de compuestos de un origen natural pero a la vez considerados contaminantes. Las micotoxinas, al igual que muchos otros compuestos tóxicos, no solamente se encuentran asociadas a los cereales, ya que también se les encuentra en otros alimentos como chiles, café, leguminosas, frutas, alimentos deshidratados, etc.

Son compuestos derivados del metabolismo de hongos verdaderos (Eumicetos) llamándoles micotoxinas y al trastorno ocasionado o enfermedad se le conoce como micotoxicosis. Diversas clases de hongos son capaces de proliferar en los alimentos, produciendo metabolitos sumamente tóxicos al hombre y animales que consumen estos alimentos contaminados.



La presencia de toxinas en granos requiere que estos sean invadidos por el hongo contaminante bajo las condiciones adecuadas de humedad (actividad acuosa de 0.6) y de temperaturas de 0° a 30°C. Las micotoxinas pertenecen a diferentes grupos de compuestos, en general son termoestables y no son volátiles, su efecto toxico puede ser agudo en el caso de ingerir una dosis alta, como podría suceder en algunos alimentos balanceados para aves. Por lo general, se relacionan a dosis bajas y prolongadas, ocasionando una toxicidad crónica. Debido a la gran variedad que presentan las micotoxinas, tanto en su estructura como sus efectos tóxicos sólo se describen algunas de las más importantes según la especie que las produce: toxinas de *Claviceps, Aspergillus, Penicillium, Fusarium,* entre otros.

Toxinas de Aspergillus.

La palabra aflatoxina se utiliza para designar a una serie de compuestos fluorescentes del tipo de las furanocumarinas figura 4, siendo la aflatoxina B₁ el prototipo. El principal riesgo es su hepatotoxicidad al formar hepatomas. Las aflatoxinas son metabolitos producidos por *Aspergillus flavus* o especies afines como *Aspergillus parasiticus*.



Figura 4. Aflatoxinas.

El primer caso relacionado a las aflatoxinas fue descubierto al principio de la década de los años sesenta, al observarse que varios pavos morían presentando lesiones de hígado. El compuesto responsable fue aislado de una pasta brasileña de cacahuate, la cual fue usada como parte del alimento para estos animales.

El problema de aflatoxinas se puede presentar en cualquier parte del mundo, ya que el *Aspergillus flavus* crece a temperaturas de 25°C, y con una humedad relativa del



70%. Siendo diferentes alimentos en los que puede desarrollarse, entre los que están: el maíz, cacao, sorgo, trigo, avena, centeno, algodón, cacahuate, etc.

Las aflatoxinas más comunes son la B_1 y B_2 , G_1 y G_2 , las cuales pueden separarse por cromatografía en placa fina e identificárseles por su Rf respecto a un patrón. La aflatoxina B_1 es fluorescente a la luz ultravioleta de onda larga a concentraciones de 1 x 10^{-4} µg.

La aflatoxina B_1 es uno de los hepatocarcinógenos más potentes conocidos, solo basta con ingerir 15 µg/kg diariamente para ocasionar cáncer, siendo excretada como aflatoxina M_1 en leche u orina al hidroxilarse el carbono 4. Otra forma de transformación de la B_1 es como aflatoxina P_1 , la cual es eliminada como glucurónido. Otro metabolito, es el aflatoxicol el cual se encuentra en el hígado de los pollos que han sido alimentados con granos contaminados. No debe olvidarse que el precursor de la aflatoxina B_1 , es esterigmatocistina, la cual también tiene potencial toxicológico, desafortunadamente esta no es de fácil detección.

Existen varias alternativas para disminuir el nivel de aflatoxinas en granos, el más simple y comúnmente empleado es el de "diluir" semillas contaminadas con otras que no lo estén. En forma separada se ha tratado de ensilar al maíz contaminado, sin embargo, no se aprecia una disminución aceptable en la B₁. En forma separada se ha tratado de extraerlas por diferentes disolventes, sin embargo, estos presentan desventajas económicas y técnicas. Tratamientos térmicos (freido, tostado, microondas, etc.) demuestran una ligera disminución; sin embargo pueden quedar



muy por arriba de los límites recomendados como seguros por diferentes organismos internacionales. El uso de energía ionizante como un medio descontaminante de aflatoxina, requeriría de dosis tan elevadas, que también se afectaría al alimento. Recientemente, se han considerado los tratamientos alcalinos como posibles formas para su disminución; entre estos esta la "nixtamalización" con hidróxido de calcio o procesos similares realizados en Latinoamérica Prehispánica. El uso de amoniaco ha tenido un éxito relativo, ya que bien si se logra disminuir los niveles elevados de contaminación (100 μg/kg) y logra llevarlo a niveles de 20 μg/kg esto no es aceptable para la seguridad humana. A nivel de laboratorio se recomienda usar hipoclorito como medio descontaminante o de limpieza. Recientemente se ha sugerido el uso de agentes reductores del tipo –SH, como el glutatión, cristeína, etc., que también son capaces de inactivar a la forma toxica de las aflatoxinas o sea el 2, 3 epóxido-aflatoxina B₁ figura 5. También se ha pensado en la utilización de haptenos para disminuir su toxicidad. (Valle *et al.*, 2000)



Figura 5. Biotransformación de la aflatoxina B₁, su interacción con ácidos nucleicos y con grupos reductores (-RSH).



Buenas Prácticas de Manufactura.

Las Buenas Prácticas de Manufactura se conocen con las siglas de BPM o también por sus siglas en inglés GMP (Good Manufacture Practices). Los lineamientos a seguir se enfocan en las personas y en las instalaciones. (http://mapacalidad.com/consultoria/index.php?option=com_content&task=view&id=23<emid=23limit=1&limistart=1)

Son acciones, operaciones y procedimientos aplicables en todas las áreas de proceso y manejo de los alimentos, incluyendo el personal, instalaciones físicas y sanitarias, equipos, utensilios, procedimientos de limpieza y sanitización, desinfección y control de plagas con el objeto de disminuir los riegos de contaminación, entre los que tenemos son los peligros físicos, químicos y biológicos (microbiológicos) asociados a la elaboración y producción de alimentos inocuos (que no produzcan daños al consumidor).

La aplicación adecuada reduce significativamente el riesgo de intoxicaciones a la población consumidora, lo mismo que a las pérdidas del producto, al protegerlo contra contaminaciones contribuyendo a formarle una imagen de calidad adicionalmente, a evitar al empresario sanciones legales por parte de la autoridad sanitaria. (http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/documentos/sanidad/.html)



Análisis de Puntos Críticos de Control (HACCP sus siglas en inglés Hazard Analysis Critical Control Points).

El sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP), que tiene como fundamentos científicos y carácter sistemático, permite identificar peligros específicos y medidas para su control con el fin de garantizar la inocuidad de los alimentos. Es un instrumento para evaluar los peligros y establecer sistemas de control que se centran en la prevención en lugar de basarse principalmente en el ensayo del producto final. Todo sistema de HACCP es susceptible a cambios que pueden derivar de los avances del diseño del equipo, los procedimientos de elaboración o el sector tecnológico.

Puede aplicarse a lo largo de toda la cadena alimentaria, desde el producto primario hasta el consumidor final, y su aplicación deberá basarse en pruebas científicas de peligros para la salud humana, además de mejorar la inocuidad de los alimentos. (Flores *et al.*, 1999)

Tiene varias ventajas que son:

- Se aplica a la gestión de la inocuidad alimentaria.
- Controla los puntos críticos en la fabricación de alimentos relativos a la inocuidad.
- Se basa en fundamentos científicos y es de carácter sistemático.
- Es preventivo en vez de inspectivo y de comprobación a producto final.



- Puede utilizarse desde la producción primaria hasta el consumidor.
- Permite el uso eficaz de recursos y ahorro al responder oportunamente a problemas de inocuidad.
- Aumenta la responsabilidad y el grado de control de los fabricantes.
- Puede utilizarse como un instrumento útil para las inspecciones de inocuidad.
- Fomenta el comercio internacional.
- Puede ajustarse a los cambios tecnológicos y es compatible con otros sistemas para la gestión de la calidad (ISO 9001, e inocuidad en ISO 22000).

Este sistema consta de siete principios:

- Principio 1. Realizar un análisis de peligros.
- o Principio 2. Determinar los puntos críticos de control (PCC).
- Principio 3. Establecer un límite o límites críticos.
- Principio 4. Establecer un sistema de vigilancia del control de los PCC.
- Principio 5. Establecer medidas correctivas que han de adoptarse cuando la vigilancia indica que un determinado PCC no está controlado.
- Principio 6. Establecer un sistema de documentación sobre todos los procedimientos y los registros apropiados para estos principios y su aplicación.
- Principio 7. Establecer un sistema de documentación sobre todos los procedimientos y los registros apropiados para estos principios y su aplicación.



Antes de aplicar cualquier sistema HACCP a cualquier sector de la cadena alimentaria, es necesario que el sector cuente con programas, como buenas prácticas de manufactura e higiene, con forme a los Principios Generales de Higiene del Codex, los Códigos de Prácticas del Codex pertinentes, y requisitos apropiados en materia de inocuidad de los alimentos. Estos programas previos necesarios para el sistema HACCP, incluida la capacitación, deben estar firmemente establecidos y en pleno funcionamiento, y haberse verificado adecuadamente para facilitar la aplicación eficaz de dicho sistema. (CODEX ALIMENTARIUS)

Objetivo General.

 Cuantificar y determinar si las modificaciones realizadas al proceso de nixtamalización tradicional afectan microbiológicamente a los productos obtenidos, así como identificar los puntos críticos de control dentro del proceso y cómo influyen en la inocuidad, vida de anaquel de la masa y tortilla.



Objetivos Particulares.

- Cuantificar la flora microbiana de la cadena de producción maíz-tortilla en molinos donde se lleva a cabo la nixtamalización tradicional y a baja temperatura propuesta por la UAM-I.
- Cuantificar la flora microbiana en la distribución de masa elaborada en dos molinos que realicen la nixtamalización tradicional.
- Cuantificar la flora microbiana de una tortillería donde se realiza la mezcla de masa de maíz nixtamalizada y harina de maíz nixtamalizada.
- Comparar la flora microbiana entre el proceso de Nixtamalización tradicional y
 el proceso de nixtamalización a baja temperatura propuesto por la UAM-I, así
 como de sus tortillerías y otra que utiliza masa y harina de maíz nixtamalizada.
- Determinar la manera de implementar las Buenas Prácticas de Manufactura e
 Higiene en las tortillas, así como en su inocuidad.
- Determinar los Puntos Críticos de Control en los procesos de nixtamalización de acuerdo con el Sistema HACCP para controlar la inocuidad de los productos obtenidos.



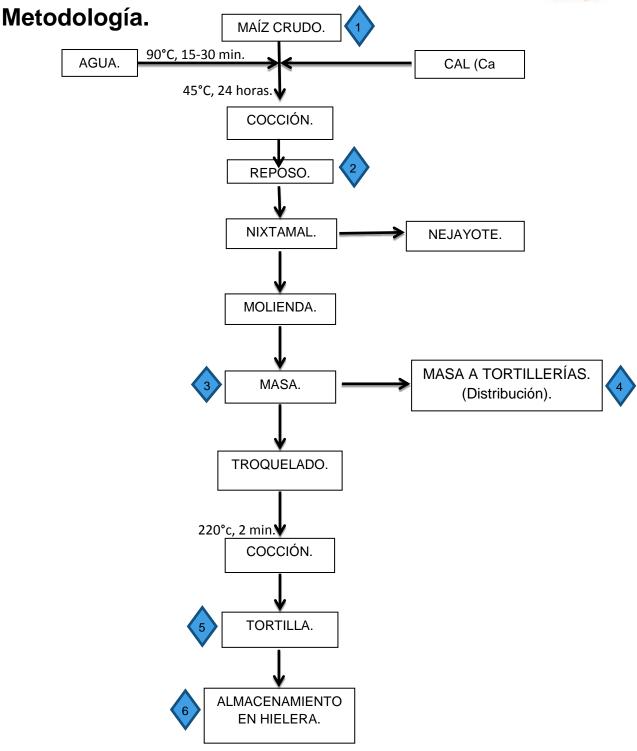


Figura 6. Diagrama de bloques del proceso de nixtamalización tradicional.



La figura 6 indica cómo se lleva a cabo el proceso de nixtamalización tradicional y en que partes del proceso se realizó el muestreo por triplicado, con guantes y frascos de vidrio estériles.

El muestreo se realizó para los molinos "A" y "B":

- Maíz crudo. En esta parte del proceso se tomó muestra de la materia prima antes de iniciar el proceso de nixtamalización, al ser abierto el bulto, para saber si cuenta con flora microbiana.
- 2. Reposo. Se tomaron muestras de maíz y nejayote partiendo del tiempo de reposo, tiempo en el que maíz se encuentra en la tina, y cinco muestras más a intervalos de 60 minutos. Los cuales serán graficados, con las siguientes siglas T0, T1, etc., para poder determinar el desarrollo microbiológico que tiene durante este.
- Masa. Se toma muestra después de que se lleva a cabo la molienda del nixtamal y cuando es almacenada en maletas de 50 kg, las cuales están en reposo.
- 4. Masa a tortillerías (Distribución). Esta masa es transportada en camionetas a tortillerías las cuales se encuentran a diferentes distancias de los molinos, se toman muestras ya que están en las tortillerías. Para determinar la flora microbiana presente.



- Tortilla. Se toma muestra en el momento que sale de la máquina, la cual por las condiciones de tiempo y de temperatura mantiene un proceso de pasteurización.
- 6. Almacenamiento en hielera. Las tortillerías trabajan en lotes, el producto es almacenado y en ese momento se toma muestra de estas para determinar la flora microbiana.

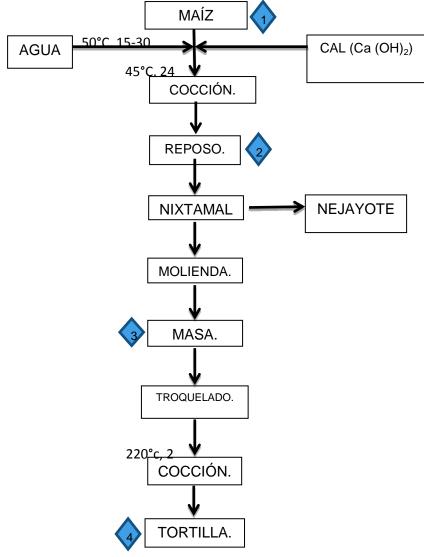




Figura 7. Diagrama de bloques del proceso de nixtamalización a baja temperatura propuesto por la UAM.

La figura 7 indica cómo se realiza el proceso de nixtamalización a baja temperatura propuesto por la UAM, y como se llevó a cabo el muestreo por triplicado, con guantes y frascos de vidrio estériles:

- Maíz crudo. El maíz es tomado cuando se abre el bulto antes de que inicie el proceso de nixtamalización a baja temperatura.
- 2. Reposo. Se tomó muestra de maíz y nejayote, partiendo del tiempo de reposo, el tiempo en el que el maíz se encuentra en la tina, y cinco muestras más a intervalos de 60 minutos. Estos son identificados en las gráficas como T0, T1, T2, etc. respectivamente, para poder determinar el desarrollo microbiológico que tiene durante este.
- 3. Masa. Después que se lleva a cabo la molienda, se tomó la muestra de masa la cual es transportada a la tortillería que está ubicada a un costado del molino "A", a la cual no sufre un amasado está es utilizada directamente en el troquelado.
- 4. Tortilla. La muestra es recolectada al momento en que esta sale de la máquina y es distribuida. Para el caso de esta tortilla no es almacenada en hielera, esta es comercializada en el momento de su elaboración.



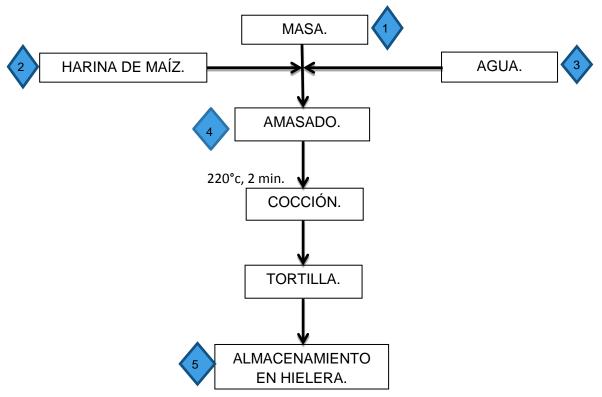


Figura 8. Diagrama de bloques del proceso de elaboración de tortillas que utiliza masa y harina de maíz nixtamalizada.

La figura 8 indica cómo se lleva a cabo el proceso de elaboración de tortillas, en una tortillería que utiliza masa y harina de maíz nixtamalizada. Y como se llevó a cabo el muestreo por triplicado, con guantes y frascos de vidrio estériles:

- Masa. La masa que se utiliza en esta tortillería esta almacenada en una mesa de cemento, la cual es ya tiene un reposo, la cual presenta deshidratación.
- 2. Harina de maíz. La muestra tomada es del bulto que se encuentra en uso,



- Agua. Esta se encuentra almacenada en una cubeta, la cual es agregada en el momento del amasado para darle un rendimiento mayor a ambos productos.
- 4. Amasado. Cuando la masa y la harina son colocadas en una amasadora, se toma la muestra.
- Almacenamiento en hielera. En esta tortillería se lleva a cabo una producción en lotes, las tortillas son almacenadas en hieleras y en ese momento se toma la muestra.



Análisis microbiológico.

En el cuadro 1 se muestra cuáles fueron las pruebas microbiológicas que se realizaron con las muestras obtenidas en las diferentes etapas de los procesos de: Nixtamalización de dos molinos tradicionales, Nixtamalización a baja temperatura propuesta de la UAM-I, y de una tortillería que utiliza mezcla de masa nixtamalizada y harina de maíz nixtamalizada para la elaboración de tortillas.

Cuadro 1. Técnicas que se realizaron para llevar a cabo los análisis microbiológicos en las diferentes etapas de los procesos.

Análisis Microbiológico.

Cuenta Total Estandar.

Coliformes.

Hongos y Levaduras.

Agar para métodos estándar 24-48 h a 35°C.

Agar bilis rojo violeta 24-48 h a 35°C.

Agar PDA 2-5 días a 25°C.



Preparación de muestras y medios de cultivo.

Preparación de muestras sólidas: maíz crudo, maíz del nixtamalizado, masa de maíz nixtamalizado, nejayote, harina de maíz nixtamalizado, tortilla. Estas muestras fueron recolectadas en frascos de vidrio esterilizados, para su análisis son pesados 10 g de muestra y se le adicionan 90 ml de diluyente (solución salina o solución peptonada), se licuan estas es la solución primaria, de aquí se realizan las diluciones decimales adicionales. Se transfiere 1 ml de la solución primaria en un tubo de ensaye estéril con 9 ml del diluyente estéril, se agitan con movimientos de arriba a bajo en un ángulo de 30 grados para la homogenización de las diluciones. Esta dilución corresponderá a 10⁻¹ y a partir de ella se harán tantas diluciones decimales necesarias, en esta investigación se llegó hasta la dilución 10⁻⁶. Se siembra 0.1 ml de cada dilución preparada extendiendo sobre la superficie con una varilla de vidrio estéril.

Preparación de muestras líquidas: agua y nejayote, la muestra es tomada en un frasco esterilizado, se toman 10 g o 10 ml de la muestra y con 90 ml del diluyente estéril (solución salina o peptonada), se agitan con movimientos de arriba a bajo en un ángulo de 30 grados, esta será la solución primaria, de esta se realizaran las diluciones decimales adicionales, se transfiere 1 ml de la solución primaria en un tubo de ensaye estéril con 9 ml del diluyente estéril y nuevamente se agitan como se mencionó anteriormente. Esta dilución corresponderá a 10⁻¹ y a partir de ella se harán tantas diluciones decimales necesarias, en esta investigación se llego hasta la



dilución 10⁻⁶. Se siembra 0.1 ml de cada dilución preparada extendiendo sobre la superficie con una varilla de vidrio estéril.

Determinación y recuento.

<u>Microrganismos coliformes</u>: el agar bilis rojo violeta es un medio que se utiliza para el desarrollo de dichos microrganismos. Se realizo una siembra en placa, se incubaron de manera invertida a una temperatura de 35-37°C, durante 24-48 horas.

Levaduras y hongos: el agar papa dextrosa (PDA) es un medio no selectivo y no diferencial. Este medio favorece el crecimiento de levaduras y mohos. Al agregar ácidos orgánicos al PDA se disminuye el pH hasta que inhibe el crecimiento de bacterias pero permite el crecimiento de mohos. Se utilizo la siembra en placa e incubar las cajas (con la tapa hacia arriba) a temperatura de 25-30°C durante 2-5 días.

<u>Cuenta total</u>: el agar para métodos estándar es utilizado para cultivar una amplia variedad de microrganismos. En este medio el extracto de carne y la peptona aportan la fuente de nitrógeno, vitaminas y carbono. El agar es adicionado como agente gelificador. Para determinar la cuenta total en placa puede utilizarse la técnica de siembra en superficie, las cajas se incuban a 35-37°C durante 24-48 horas.



Análisis Estadístico.

Este se realizo por medio de del programa Statgraphics el cual es un programa estadístico, en el cual se compararon las muestras: maíz crudo, nixtamal en sus diferentes tiempos de reposo, masa, harina y tortillas. Comparando entre las muestras y los microrganismos presentes en estas.

Buenas Prácticas de Manufactura.

Con base en la NOM-251-SSA1-2009 se analizaron las siguientes características de la infraestructura de los molinos, las tortillerías y su distribución.

Organización.

- Equipos.
- Edificios.
 - o Paredes.
 - Techos.
 - o Pisos.
 - Ventanas.
 - o Puertas.
 - Abastecimiento de agua.



- Higiene personal.
- Alumbrado.
- Drenaje.
- Control de operaciones.
 - Materias primas.
 - o Proveedores de materias primas.
 - o Aspectos fundamentales de los sistemas de control de la higiene.
 - Embalado del producto.
 - o Almacenamiento de producto terminado.
- Mantenimiento y limpieza.
 - Mantenimiento.
 - o Limpieza.
- Control de plagas.
- Tratamiento de desechos.
- Higiene del personal.
 - Estado de salud.
 - o Examen médico.
 - Aseo personal.
 - Lavado de manos.
- Transporte.



Determinación y análisis de puntos críticos de control.

El sistema de HACCP se basa en la existencia del sistema de gestión de la calidad sólidamente implantada, como las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM).

La finalidad del sistema HACCP es lograr que el control se encuentre en los Puntos Críticos de Control (PCC). En el caso de que se identifique un peligro que debe controlarse pero no se encuentre ningún PCC, deberá considerarse la posibilidad de formular de nuevo la operación. (12)

Para determinar los PCC se tuvo que tomar en cuenta la inocuidad y principalmente la calidad del producto, para ello se analizaron los peligros en cada una de las etapas empleando una herramienta conocida como el árbol de decisiones, la cual consta de una serie lógica de preguntas que deben responderse para cada peligro, como se muestra en la figura 9.



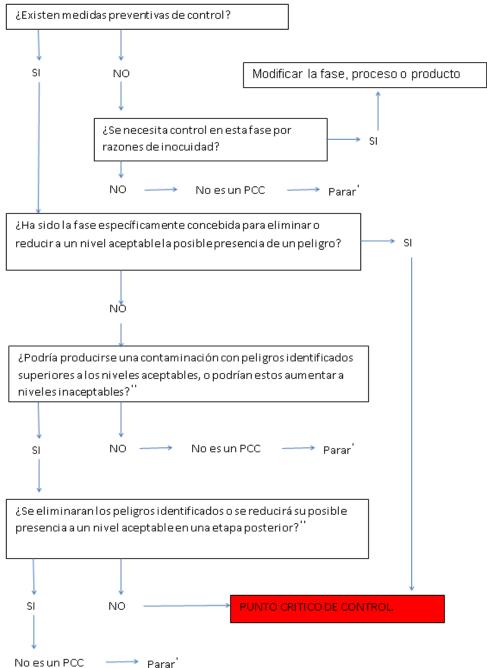


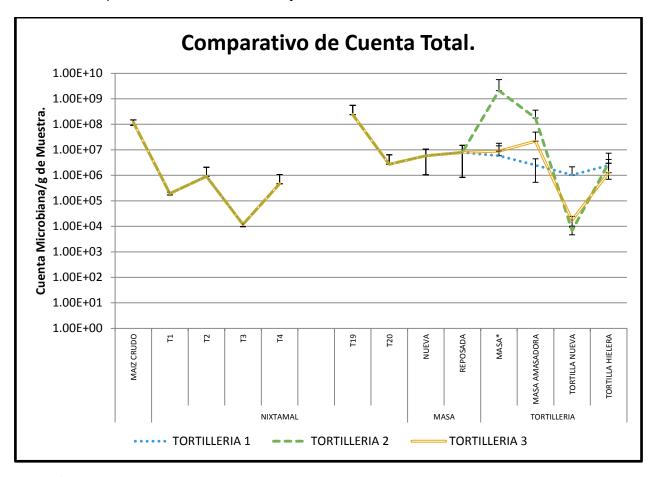
Figura 9. Árbol de decisiones para determinar Puntos Críticos de Control.



Resultados.

Molino "A" y sus tortillerías.

Cuenta total presente en el molino "A" y sus tres tortillerías.



Gráfica 10. Comparativo de Cuenta total en el proceso de nixtamalización del molino "A" y sus diferentes tortillerías.

Masa: Recién elaborada, a la salida de la molienda.

Reposada, almacenada por un periodo de tiempo (3 horas) en el molino.

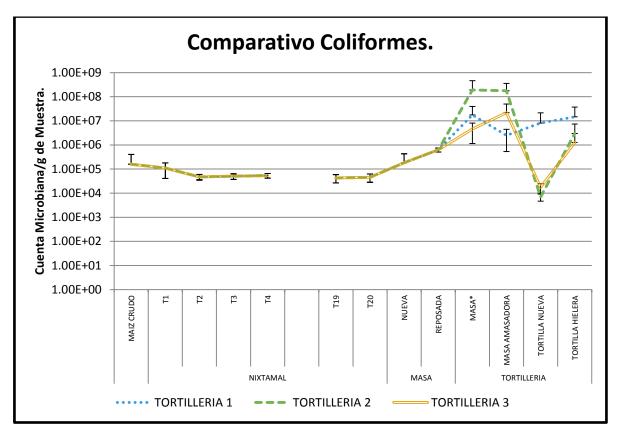
Masa*: esta ya sufrió una distribución hacia las tortillerías.

En la figura 10 se observa el comportamiento en el proceso de nixtamalización de un molino tradicional molino "A", desde el maíz crudo hasta la elaboración de masa y tortilla. Como se observa hay presencia microbiana alta desde que inicia el proceso



con el maíz crudo, el cual va descendiendo en el reposo pero no desaparece, al realizarse la molienda se observa que no hay un descenso mayor de la flora presente en la nixtamalización la cual se mantiene cuando la masa sufre un reposo antes de ser distribuida a las diferentes tortillerías. Como se observa hay diferente flora para la masa* hay una mayor presencia para la tortillería 2 y una menor flora presente en la tortillería 1 la cual sufre una transportación menor ya que esta tortillería se encuentra ubicada a un costado del molino, la tortillería 3 tiene una flora un poco mayor a la de la tortillería 1. Cuando esta masa sufre un amasado para darle las características adecuadas para su troquelado se observa que la tortillería 2 nuevamente cuenta con una flora mayor que la tortillería 3 y 1 las cuales son menores a está. Al obtener la tortilla se observa que hay una menor flora microbiana en las tortillerías 2 y 3, para el caso de la tortillería 1 hay una mayor presencia. Las tortillas son almacenadas en hieleras ya que la producción es en lotes lo cual nos indica que al ser depositadas aumenta la flora microbiana de las tortillas obtenidas de una manera considerable para las tortillerías 2 y 3, ya que para el caso de la tortillería 1 aumenta de manera menor.





Gráfica 11. Comparativo de microrganismos coliformes en el proceso de nixtamalización del molino "A" y sus diferentes tortillerías.

Masa: Recién elaborada, a la salida de la molienda.

Reposada, almacenada por un periodo de tiempo (3 horas) en el molino.

Masa*: esta ya sufrió una distribución hacia las tortillerías.

En la grafica 11 se puede observar los coliformes presentes en el proceso de nixtamalización tradicional del molino "A" y sus tres tortillerías analizadas. Se observa la presencia de estos microrganismos en todo el proceso, los cuales disminuyen de manera considerable para las tortillerías 2 y 3, para la tortillería 1 la presencia de esos es mayor, al momento de ser depositadas en la hielera se observa un incremento en estas bacterias.



Al compararse los gráficos 10 y 11, se observo que el comportamiento de coliformes y de cuenta total es parecido desde el maíz crudo hasta que se realiza la molienda, y de igual forma estos aumentan cuando son trasladados y manipulados para la obtención de tortilla para el molino "A" y sus tortillerías analizadas.

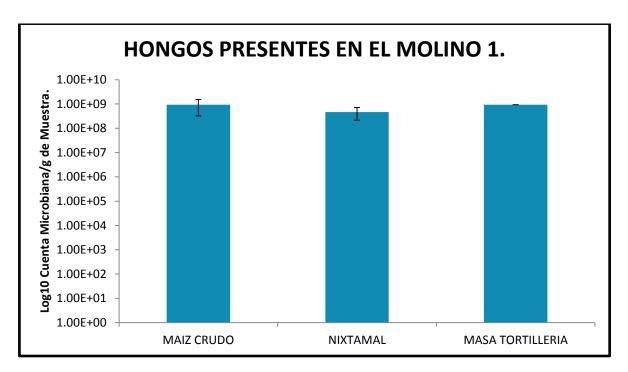


Figura 12. Hongos presentes en el proceso de nixtamalización del molino "A".

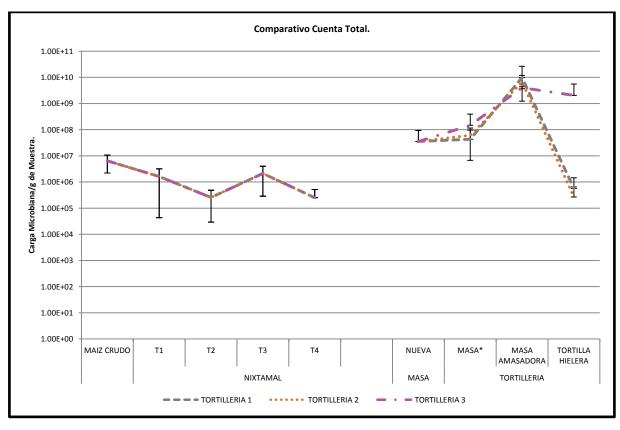
Como se observa en la figura 12 si hay un desarrollo de hongos los cuales se encuentras en mayor en el maíz crudo hay que recordar que este se utiliza para la obtención de masa la cual es distribuida a las diferentes tortillerías analizadas para esta investigación, y en la masa tortillería 3, no se desarrollaron hongos en las muestras de la tortillería 1 y 2. Hay que recordar que no significa que estén



contaminadas se le dan las condiciones necesarias a las muestras para que se desarrollen.

Molino "B" y sus tortillerías.

Cuenta total presente en el molino "B" y tres tortillerías.



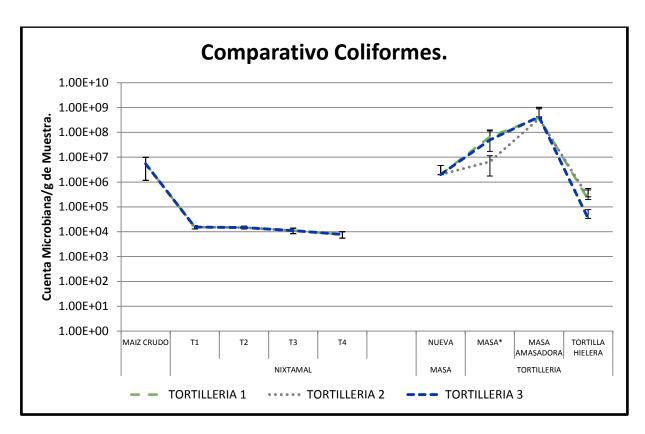
Gráfica 13. Comparativo de cuenta total en el proceso de nixtamalización del molino "B" y sus tortillerías.

Masa: Recién elaborada, a la salida de la molienda. Masa*: esta ya sufrió una distribución hacia las tortillerías

En la figura 13 se observa el comportamiento microbiano que se encuentra en el proceso de nixtamalización de un molino tradicional "B", desde el maíz crudo hasta la elaboración de masa y tortilla. Como se observa hay una flora microbiana presente



desde que inicia el proceso el cual se analizó en las primeras horas de su reposo, cuando se lleva a cabo la molienda aumenta de manera considerable, al ser transportada para el caso de las tortillerías 1 y 2, no hay un desarrollo mayor como en el caso de la tortillería 3. Al realizarse un amasado se observa que la presencia de flora microbiana aumenta y para el caso de la tortillería 3, es menor que para las tortillerías 1 y 2. Para la muestra de tortilla almacenada en hieleras ya que como en el molino "A" la producción es de igual manera en lotes, se observa que hay una disminución de dicha flora cuando se encuentra almacenada.



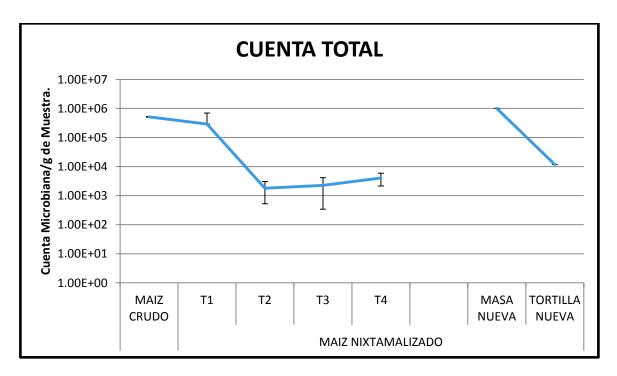
Gráfica 14. Comparativo de microrganismos coliformes en el proceso de nixtamalización del molino "B" y sus tortillerías.



Masa: Recién elaborada, a la salida de la molienda. Masa*: esta ya sufrió una distribución hacia las tortillerías

Como se observa en la gráfica 14, la presencia de microrganismos coliformes desde el inicio del proceso disminuye, pero cuando se lleva a cabo la molienda se observó un aumento en la población de microrganismos, la cual se incrementa cuando esta es distribuida a sus respectivas tortillerías, esta masa al ser amasada para su posterior troquelado nuevamente aumenta la flora microbiana. La tortilla almacenada en hieleras tiene una menor carga microbiana.

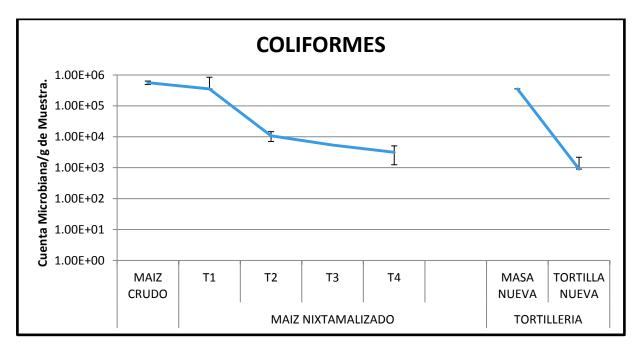
Proceso de nixtamalización propuesto por la UAM-I.



Gráfica 15. Cuenta total presente en el proceso de nixtamalización a baja temperatura propuesto por la UAM-I.



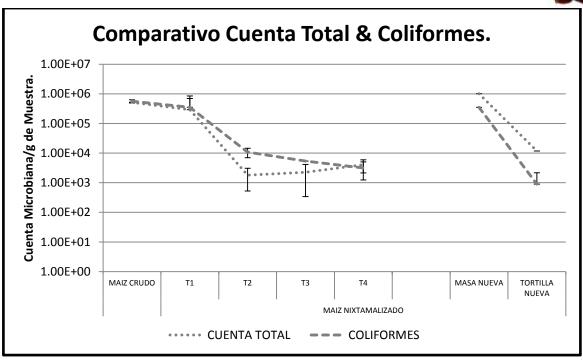
En el gráfico 15 se observa el comportamiento de la flora microbiana presente en el proceso de nixtamalización a baja temperatura propuesta por la UAM-I, nos indica que el desarrollo de los microrganismos va en descenso con forme va pasando el tiempo de reposo, pero se ve un aumento cuando se lleva a cabo la molienda del nixtamal, mientras que en la tortilla se observa un descenso de microrganismos.



Gráfica 16. Microrganismos coliformes presentes en el proceso de nixtamalización a baja temperatura propuesta por la UAM-I.

En la gráfica 16 se observa el comportamiento de la flora microbiana de coliformes esta presente desde que comienza el proceso de nixtamalización a baja temperatura propuesto por la UAM-I, y cuando se llega a la molienda hay un incremento, cuando se obtiene la tortilla se observa un descenso de esta flora microbiana.



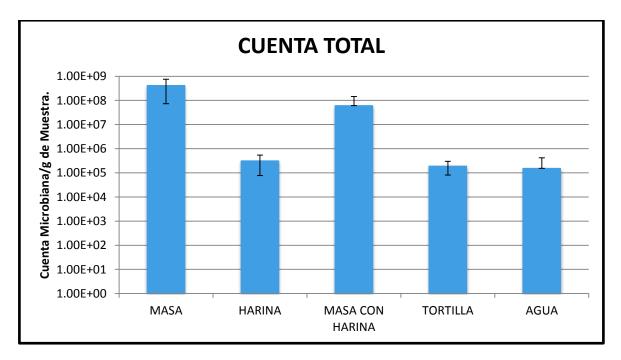


Gráfica 17. Comparación de microrganismos presentes en el proceso de nixtamalización a baja temperatura propuesta por la UAM.I.

En la grafica 17 se muestra una comparación de la cuenta total y de los coliformes presentes en el proceso de nixtamalización a baja temperatura propuesto por la UAM-I y se observa una mayor presencia de coliformes hasta la cuarta hora de reposo, cuando se lleva a cabo la molienda y la obtención de tortilla se observo un descenso en microrganismos coliformes y un incremento para la cuenta total.



Tortillería mixta.

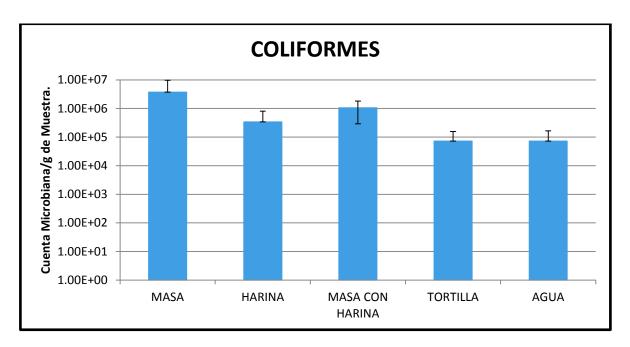


Gráfica 18. Cuenta total presente en una tortillería que utiliza masa de maíz nixtamalizada y harina de maíz nixtamalizada.

En la gráfica 18 indica la cantidad de microrganismos presentes en la elaboración de tortillas con masa de maíz y harina de maíz nixtamalizada, los cuales en las materias primas utilizadas: masa, harina y agua encontramos un valor alto de flora microbiana, al realizarse la mezcla de éstos se observa que es grande la cantidad de microrganismo permicrorganismoque la flora presente en la masa. Cuando se lleva a cabo el troquelado de esta para la obtención de tortillas disminuye, las muestras de tortillas analizadas fueron tomadas de una hielera ya que esta tortillería realiza su



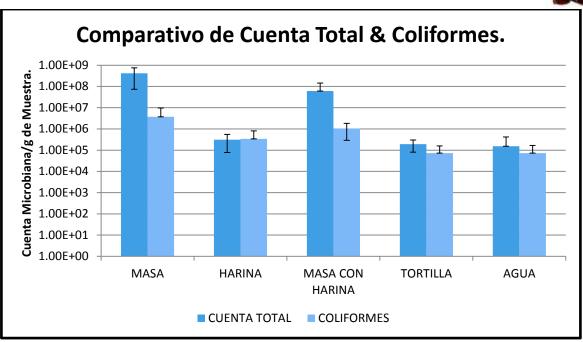
producción en lotes y al igual que las demás almacenadas para su posterior comercialización.



Gráfica 19. Microrganismos coliformes presentes en una tortillería que utiliza masa de maíz y harina de maíz nixtamalizada.

En la gráfica 19 se observa la cantidad de microrganismos coliformes presentes en la elaboración de tortillas en una tortillería que utiliza masa de maíz y harina de maíz nixtamalizada, los cuales se encuentran todas las muestras analizadas, la masa tiene mayor presencia de coliformes.





Gráfica 20. Comparación de microrganismos en una tortillería que utiliza masa de maíz nixtamalizada y harina de maíz nixtamalizada.

Como se observa en la gráfica 20 la cuenta total presente en el proceso de elaboración de tortillas que utiliza masa de maíz y harina de maíz nixtamalizada es mayor que la flora microbiana de coliformes.



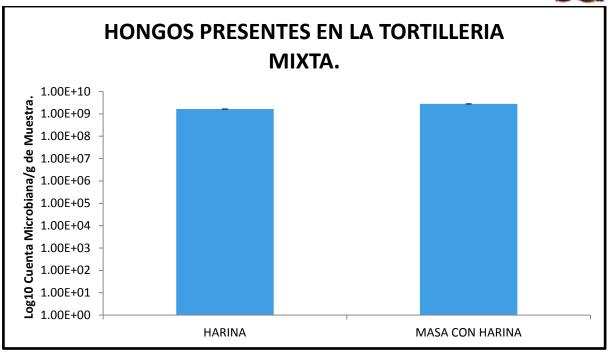


Figura 21. Hongos presentes en una tortillería que utiliza masa y harina de maíz nixtamalizada.

En la figura 21 se observa el desarrollo de hongos en harina y masa con harina están iguales. Lo cual nos indica que si tiene esporas.

Buenas Prácticas de Manufactura.

Por medio del método de visualización se pudo observar que la industria molinera tiene muchos déficits en las instalaciones, en el manejo de las materias primas y los productos obtenidos. Esto implica que los productos no sean inocuos para el consumidor.



Esto son los resultados observados:

No cuenta con un responsable en el área de trabajo y un supervisor en las unidades de producción y de elaboración del producto (masa y tortilla).

Los equipos deberán estar de manera lineal buscando la manera de limpiarlos al terminar la jornada laboral para que al día siguiente se encuentres disponibles. Así se evitara que queden muestras rezagadas de nixtamal en cualquier parte del equipo, y por su puesto un crecimiento microbiano en estos.

Se deberá determinar el área de almacenamiento de las materias primas evitando que estas estén en el área de proceso así no habrá una contaminación cruzada. Tratar poner seguridad en las ventanas y en el traga luz donde se encuentra la caldera, para que no haya una contaminación por animales, así mismo evitara que se empiezan a desarrollar plagas (ratón, cucarachas, etc.), las paredes necesitan ser acondicionadas ya que estas no cuentan con un acabado adecuado, y tienen humedad.

El techo también necesita ser acondicionado ya que este cuenta con mucha humedad y no tiene un aplanado adecuado.

Para los techos se necesita un aplanado y una pintura epóxica la cual ayude a disminuir la humedad de estos y se pueda realizar una limpieza diaria de estos.

Los pisos necesitan darles un mantenimiento por que se encuentran quebrados y hay un almacenamiento de agua, polvo, granos de maíz, etc.



Las puertas con las que cuentan siempre se encuentran abiertas, con ello también contribuye a una contaminación cruzada tanto en el proceso como en la obtesión de los productos (masa y tortilla).

Para el abastecimiento de agua hay que acondicionar la tubería ya que esta solo está colocada con manguera y sostenida por alambres en el techo.

El sanitario se encuentra dentro del área de proceso, este siempre esta con la puerta abierta.

La iluminación se encuentra sin protección y sin estar empotradas en el techo.

Las coladeras del drenaje no cuentan con protección.

Para el mantenimiento y limpieza de las instalaciones y del equipo, no es constante ya que tienen residuos de nixtamal en varios de estos, lo cual indica que no se realiza dicho mantenimiento y por supuesto la limpieza no es adecuada.

Para controlar las plagas no se ve que se lleve a cabo ningún tipo de control, ya encontramos que los gatos entran y salen cuando estos quieren, las coladeras como no se encuentran cerradas y selladas puede existir una plaga no controlada, también se observó la presencia de hormigas en las paredes.

Los desechos que tienen son almacenados en un tambo que se encuentra en la parte posterior del molino donde se lleva a cabo la molienda. Y los cestos de la



basura se encuentran a un costado de la maquinaria donde se lleva a cabo el proceso de elaboración de tortillas.

El personal no se ve que padezca algún tipo de enfermedad, su vestimenta es inadecuada para llevar a cabo sus tareas, ya que es ropa normal no utilizan delantal, cofia, cubre bocas, etc., las manos utilizan una cubeta en la cual se lavan las manos todos los trabajadores.

El transporte que tienen es adecuado para la distribución de los productos (masa y tortilla), pero no se vio que le realizaran ningún lavado.

Determinación de Puntos Críticos de Control.

Se realizó un análisis de peligros, para determinar los puntos críticos de control (PCC), con ayuda de un árbol de decisiones mostrado en la figura 7, el cual está basado en una serie de preguntas, ayudando a determinar los PCC, ya identificado indica si se controla, elimina o reduce un peligro a nivel aceptable o son puntos de control (PC) los cuales pueden ser controlados con las buenas prácticas de manufactura.

Con ayuda de este árbol de decisiones se encontró que solo hay un punto crítico de control que es la "cocción" de la tortilla, la cual se lleva a cabo a 230°C, y con esto se elimina cualquier tipo de microrganismo.



Discusión.

En la investigación realizada de este trabajo se observó que la industria molinera está descuidada ya que los molinos se encuentran laborando de una manera poco higiénica, se encontraron factores que se pueden controlar para manejar adecuadamente los productos que estos realizan (masa y tortilla).

En la microbiología se utilizaron medios no selectivos para observar si este proceso contaba con desarrollo de microrganismos, y resulto positivo, lo cual indica que el medio alcalino que se encuentra el maíz ayuda a la reducción de éstos, pero el manejo que se tiene de la masa y tortilla no es adecuado ya que ahí es donde vuelve a adquirir microrganismos. Todavía falta investigación ya que solamente se demostró que si hay desarrollo microbiológico pero falta saber que tipo de microrganismo es el que está atacando a los productos, desafortunadamente no se cuenta con referencias publicadas sobre el proceso de nixtamalización para apoyarse y poder mejorar la industria.

Se encontró la presencia de hongos en las muestras analizadas pero esto no significa que se encuentren contaminadas, el motivo pudo ser que las esporas se encuentran en el medio depositándose en las muestras.

Con el proceso de nixtamalización a baja temperatura propuesta por la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, se realiza a una temperatura de 50°C, obteniendo masa y tortilla de muy buena calidad.



De acuerdo a los resultados obtenidos se encontró que la carga microbiana no disminuye se mantiene por debajo de la de un molino tradicional pero no es suficiente ya que se tiene que seguir investigando para controlar los microrganismos presentes.

La nixtamalización tradicional que se lleva a cabo en dos molinos, y la nixtamalización a baja temperatura propuesto por la UAM-I son muy parecidas.

La mayoría de los microrganismos presentes en la masa y en las tortillas son contaminados por la manipulación que estos tienen con los operarios de los establecimientos y en el momento en que son distribuidas.

En estudios realizados en un servicio social se demostró que la vida de anaquel de la tortilla es mejor cuando se mantienen en refrigeración.

Las buenas prácticas de manufactura son aplicables a toda tipo de industria si se mejoran las deficiencias encontradas en los molinos analizados y siguiendo las siguientes recomendaciones:

Tener un responsable en el área de trabajo y un supervisor en las unidades de producción y elaboración del producto, estos pueden ser los operadores del establecimiento los cuales pueden ser capacitados

Los equipos están de manera lineal, pero hay que buscar un método adecuado para que se lleve a cabo la limpieza, una opción puede ser agua a presión para desprender los residuos de nixtamal, polvo u otros residuos.



Determinar un área de almacenamiento diferente al área de proceso, así se evitará una contaminación cruzada, colocar protecciones en los espacios abiertos, evitando contaminación por animales.

Aplanar techos, paredes y con ayuda de pintura epóxica evitar humedad por la condensación del vapor.

Los pisos necesitan ser de un material resistente al peso como el granito para evitar que se quiebren por el peso de la materia prima.

Mantener las puertas cerradas tanto las del interior como las del exterior del molino, así se reducirá la contaminación.

Las tuberías deberán ser empotradas de manera adecuada en las paredes pintándolas para saber que es lo que transportan: azul-agua, amarillo-gas, y deberán estar separadas de la tubería del desagüe.

El sanitario deberá estar fuera del área de producción.

Las coladeras colocarles protección evitando así una contaminación y plagas.

Tener fumigación constante la cual tiene que estar regulada para evitar la contaminación de nuestra materia prima, productos e intoxicaciones en los trabajadores.

Los desechos tienen que estar fuera del área de producción.



El personal deberá contar con análisis clínicos al menos una vez por año así se mantendrá la salud de los empleados evitando algún tipo de contagio para los productos elaborados.

Los vehículos de transporte serán lavados y sanitizados para asegurar la inocuidad al ser transportados.

Para la determinación de los puntos críticos de control se sabe que la cocción es el punto que se debe tener mayor cuidado ya que si esta no se lleva a una temperatura adecuada no se acabará con la carga microbiana presente en ellas y podrían causar daños a la salud del consumidor.

Conclusión.

A lo largo de esta investigación se analizaron dos molinos y seis tortillerías que son surtidas con la masa que estos producen. Un molino que realiza la nixtamalización a baja temperatura propuesta de la UAM-I. Y una tortillería que utiliza masa y harina de maíz nixtamalizada.

En ambos molinos se encontraron microrganismos presentes en toda la cadena de producción maíz-tortilla. Para el caso del maíz la cantidad de carga microbiana presente se debe al manejo de post cosecha, recolección, transportación y almacenamiento de este. La cual va disminuyendo en el proceso de elaboración de masa y tortilla.



Para la masa se encontró gran diferencia de microrganismos, ya que la masa del molino "A" es sometida a un reposo por un largo periodo de tiempo, en cuanto a la masa que es producida en el molino "B" no contiene una gran cantidad ya que esta es elaborada al momento que se necesita.

Durante la distribución de la masa es donde se lleva a cabo el incremento en carga microbiana debido a la manipulación que esta tiene y al vehículo donde es transportada.

Se cuantificaron microrganismos: Cuenta Total, Coliformes, Hongos y Levaduras para los procesos de nixtamalización donde se encontró lo siguiente:

Cuenta Total. El maíz del molino "A", cuenta con una carga microbiana mayor al molino "B", y cuando se lleva a cabo el reposo la flora microbiana del molino "A" es menor que la del molino "B", el proceso de nixtamalización a baja temperatura se realiza en el molino "A" y el maíz crudo contiene una menor carga microbiana en comparación a ambos molinos. Cuando se lleva a cabo el reposo se observa que el desarrollo microbiano esta entre los molinos, para cuando se obtiene masa y tortillas la desarrollo microbiano es menor que en ambos molinos, los cuales se encuentran por encima de los resultados obtenidos por el proceso a baja temperatura propuesto por la UAM.

Para el caso de la tortillería que utiliza mezcla de masa y harina de maíz nixtamalizada se observó que hay microrganismos presentes en todas las muestras



que se analizaron en el caso de la harina no debería de haber ya que cuentan con un proceso de pasteurización.

Coliformes. Como se puede observar el desarrollo de estos microrganismos decae cuando se lleva a cabo la cocción de la masa para la obtención de tortillas. Pero la carga microbiana aumenta cuando estas son almacenadas en hieleras, en donde se les da las condiciones adecuadas para que se desarrollen, también tiene que ver las manipulación que estas sufren por el encargado de las tortillerías.

Hongos y Levaduras. Como se observó hay desarrollo hongos en las siguientes muestras analizadas: maíz crudo, nixtamal, masa, harina y masa con harina, las cuales se pueden contaminar por el ambiente ya que las esporas se encuentran en él, más no porque los productos se encuentren contaminadas. Para el caso de las levaduras no hubo un desarrollo de estas.

El proceso de nixtamalización a baja temperatura propuesto por la UAM-I presenta un mayor número de microrganismos en la fase de producción de masa, debido que cuando esta se produce no se limpia el molino y así se lleva a cabo la molienda, este puede ser un factor para que se contamine el producto obtenido de esta técnica. Está técnica se lleva a cabo en un sistema cerrado para evitar la pérdida de calor y si se utiliza una cantidad mayor de cal, se podría mejorar el proceso para poder desarrollar una menor cantidad de microrganismos.



El sistema HACCP brinda un planteamiento racional para el control de riesgos microbiológicos en los alimentos, resultando más favorables las relaciones costos/beneficios, eliminando el uso improductivo de consideraciones superfluas. El consumidor o usuario final del alimento puede confiar en que se adquieren y se mantienen los niveles adecuados de sanidad y de calidad. Para el caso de nuestros productos encontramos muchos puntos de control los cuales se pueden evitar utilizando las buenas prácticas de manufactura. El maíz si es llevado a una cocción térmica-alcalina no representa ningún daño para la salud, para la masa si se realiza una cocción adecuada no es nociva para su consumo, para las tortillas no representa ningún daño a la salud. Tanto para el proceso tradicional de nixtamalización como para la técnica propuesta por la UAM-I.



Bibliografía.

- (1) Rodríguez García, M. E., Serna Saldívar, S. O., Sánchez Sinencio, F., Nixtamalización del maíz a la tortilla Aspectos nutrimentales y toxicológicos. Ed. Universidad Autónoma de Querétaro. Pág. 20. 2008
- (2) De Teresa Ochoa, A. P, Viniegra González, G. 2009. Temas selectos de la cadena Maíz-Tortilla, Un enfoque multidisciplinario. Ed. Universidad Autónoma Metropolitana, México. Pág.143-146, 159-161. 2009
- (3) Badui Dergal, S. Química de los Alimentos. Ed. Pearson Educación. Pág. 227-229. 4ª Edición, 2006.
- (4) Brock, Biología de los Microrganismos. Ed. Pearson Prentice Hall. Pág. 8, 12.
 2ª Edición, 1993.
- (5) http://www.quimicaindustrialhn.net/recursos/descargas/doc_view/29-microbiologia-industrial-y-alimentaria.raw?tmpl=component.
- (6) Jay, J. M., Loessner, M. J., Golden, D. A. Microbiología moderna de los alimentos. Ed. Acribia, S. A. pág. 35, 50. 3ª Edición. 1994.
- (7) Frazier, W. C., Westhoff, D. C., Microbiología de los alimentos. Ed. Acribia S. A. pág. 229-¿??. 4ª Edición, 1993.
- (8) http://mapacalidad.com/consultoria/index.php?option=com_content&task=viuw
 https://wapacalidad.com/consultoria/index.php?option=com_content&task=viuw
 https://wapacalidad.com/consultoria/index.php?option=com_content&task=viuw
 https://wapacalidad.com/consultoria/index.php?option=com_content&task=viuw
 https://wapacalidad.com/consultoria/index.php?option=com_content&task=viuw
 https://wapacalidad.com/consultoria/index.php?option=com_content&task=viuw
 <a href="https://wapacalidad.com/consultoria/index.php?option=com/cons
- (9) http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/documentos/sanidad.html



(10) Flores et al., Manual de Buenas Prácticas de Higiene y Sanidad. 1999 http://www.fao.org/docrep/005Y1579S/y1579s3.HTM

(11) CODEX ALIMENTARIUS.

http://www.fao.org/docrep/009/y5307s/y5307s03.htm

- (12) http://www.gencat.cat/salut/depsalut/html/es/dir87/doc5011.html
- (13) Valle, V. P., Lucas, F. B., Toxicología de Alimentos. Instituto Nacional de Salud Pública.Centro Nacional de Salud Ambiental. México, D. F. pág. 82, 84-87. 2000. (http://es.scribd.com/doc/6640704/Toxicologia-de-Alimentos?ref=nf)



ANEXOS.



ANEXO I.

Resultados estadísticos realizados al molino "A" y a sus tres tortillerías:

• Análisis de cuenta total.



Tabla ANOVA para CUENTA TOTAL según MUESTRA

Análisis de la Varianza						
Fuente	Sumas de cuad.	GI Cuadrado Medio Cociente-F P-Valor				
Entre grupos Intra grupos		3 9.8978E15 45.29 0.0000 8 2.18521E14				
Total (Corr.)	3.14416E16	11				



• Análisis de coliformes



Tabla ANOVA para COLIFORMES según MUESTRA

	Análisis de la V	arianza
Fuente	Sumas de cuad.	GI Cuadrado Medio Cociente-F P-Valor
Entre grupos Intra grupos		3 1.73249E11 4.92 0.0318 8 3.51975E10
Total (Corr.)	8.01327E11	 11



• Análisis de cuenta total tortillería 1.



Tabla ANOVA para CUENTA TOTAL según MUESTRA

Análisis de la Varianza						
Fuente	Sumas de cuad.	GI Cuadrado Medio Cociente-F P-Valor				
Entre grupos Intra grupos		3 1.26232E13 0.64 0.6088 8 1.96419E13				
Total (Corr.)	1.95005E14	11				



• Análisis de cuenta total tortillería 2.



Tabla ANOVA para CUENTA TOTAL según MUESTRA

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	GI Cuadrado Medio Cociente-F	P-Valor		
Entre grupos Intra grupos	3.47974E19 6.73203E16	4 8.69936E18 904.56 0. 7 9.61719E15	0000		
Total (Corr.)	3.48648E19	 			



• Análisis de cuenta total tortillería 3.

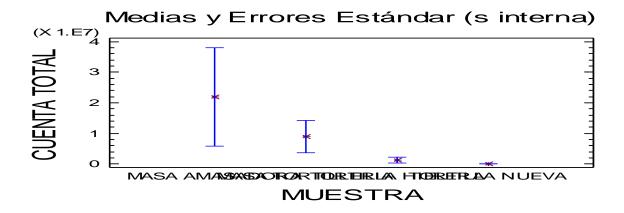


Tabla ANOVA para CUENTA TOTAL según MUESTRA

Análisis de la Varianza						
Fuente	Sumas de cuad.	GI Cuadrado Medio Cociente-F P-Valor				
Entre grupos Intra grupos	9.12153E14 1.71818E15	3 3.04051E14 1.42 0.3078 8 2.14772E14				
Total (Corr.)	2.63033E15	11				



• Análisis de coliformes tortillería 1.



Tabla ANOVA para COLIFORMES según MUESTRA

Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	GI	Cuadrado Medio	Cocien	te-F P-Valor
Entre grupos Intra grupos	4.13107E14 2.32354E15	_		0.47	0.7089
Total (Corr.)	2.73665E15	11			



• Análisis de coliformes tortillería 2.

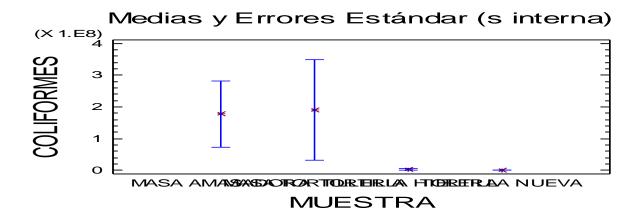


Tabla ANOVA para COLIFORMES según MUESTRA

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	GI Cuadrado Medio Cociente-F P-Valor			
Entre grupos Intra grupos		3 3.33687E16 1.24 0.3582 8 2.69658E16			
Total (Corr.)	3.15833E17	11			



• Análisis de coliformes tortillería 3.

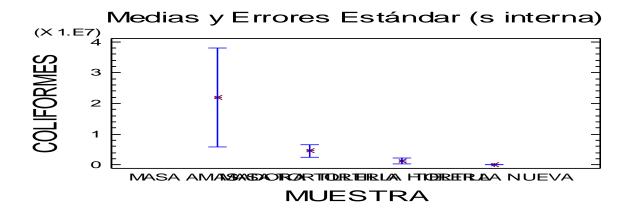
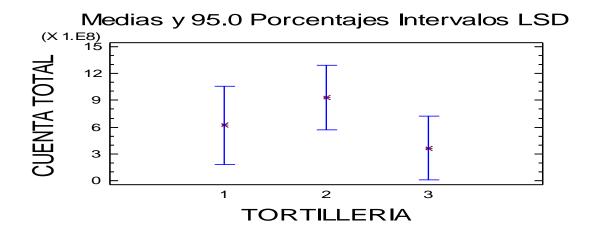


Tabla ANOVA para COLIFORMES según MUESTRA

Análisis de la Varianza						
Fuente	Sumas de cuad.	GI	Cuadrado Medio	Cocient	te-F P-Valor	
Entre grupos Intra grupos	9.31391E14 1.57371E15		3.10464E14 1.96714E14	1.58	0.2690	
Total (Corr.)	2.5051E15	11				



• Análisis de cuenta total entre tortillerías.



Análisis de la Varianza para CUENTA TOTAL - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL C	uadrado Medio	Cociente	e-F P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES					
A: MUESTRA B: TORTILLE		-	4.36583E18 9.40396E17	6.52 1.40	0.0009 0.2634
RESIDUOS	1.74043E19	26	6.69394E17		
TOTAL (CORF	REGIDO) 3.72738E19	32			



Análisis de cuenta total entre muestras.



EFECTOS PRINCIPALES

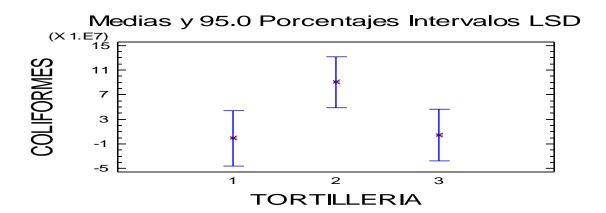
A: MUESTRA 1.74633E19 4 4.36583E18 6.52 0.0009 B: TORTILLERIA 1.88079E18 2 9.40396E17 1.40 0.2634

RESIDUOS 1.74043E19 26 6.69394E17

TOTAL (CORREGIDO) 3.72738E19 32



• Análisis de coliformes entre tortillerías.

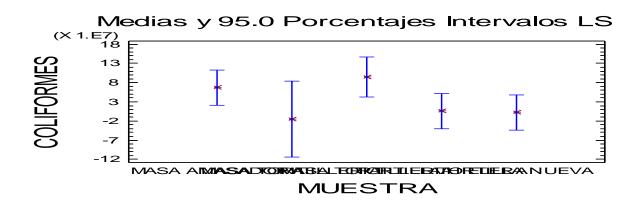


Análisis de la Varianza para COLIFORMES - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL C	Cuadrado Medio	Cocient	e-F P-Valor	
	EFECTOS PRINCIPALES					
A: MUESTRA	5.58432E16	4	1.39608E16	1.53	0.2206	
B: TORTILLE	RIA 6.21249E16	2	3.10625E16	3.40	0.0473	
RESIDUOS	2.65231E17	29	9.1459E15			
TOTAL (CORF	REGIDO) 3.77449E17	35				



• Análisis de coliformes entre muestras.



Análisis de la Varianza para COLIFORMES - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL C	Cuadrado Medio	Cocient	e-F P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES					
A: MUESTRA		4	1.39608E16	1.53	0.2206
B: TORTILLE	RIA 6.21249E16	2	3.10625E16	3.40	0.0473
RESIDUOS	2.65231E17	29	9.1459E15		
TOTAL (CORI	REGIDO) 3.77449E17	35			



ANEXO II.

Resultados estadísticos realizados al molino "B" y sus tres tortillerías:

• Análisis de cuenta total.



Tabla ANOVA para CUENTA TOTAL según MUESTRA

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Cuadrado Medio Co	ociente-F P-Valor		
Entre grupos Intra grupos	2.01024E15 7.08989E15	2 1.00512E15 0.8 1.18165E15	5 0.4729		
Total (Corr.)	9.10013E15	;			



Análisis de coliformes



Tabla ANOVA para COLIFORMES según MUESTRA

Análisis de la Varianza ente Sumas de cuad. Gl Cuadrado Medio Cociente-F P-Valor

Entre grupos 4.63828E13 2 2.31914E13 2.69 0.1469
Intra grupos 5.18152E13 6 8.63586E12

Total (Corr.) 9.81979E13 8



• Análisis de cuenta total tortillería 1.



Tabla ANOVA para CUENTA TOTAL según MUESTRA

	Análisis de la V	arianza
Fuente	Sumas de cuad.	GI Cuadrado Medio Cociente-F P-Valor
Entre grupos Intra grupos	1.92346E20 5.68714E20	2 9.61731E19 1.01 0.4173 6 9.47857E19
Total (Corr.)	7 61061F20	8



• Análisis de cuenta total tortillería 2.



Tabla ANOVA para CUENTA TOTAL según MUESTRA

	Análisis de la Va	arian	za			
Fuente	Sumas de cuad.	GI	Cuadrado Medio	Cocien	ite-F P-Va	alor
Entre grupos Intra grupos	8.55467E19 5.68886E19		4.27733E19 9.48144E18	4.51	0.0637	
Total (Corr.)	1.42435E20	8				



• Análisis de cuenta total tortillería 3.



Tabla ANOVA para CUENTA TOTAL según MUESTRA

Análisis de la Varianza

Fuente	Sumas de cuad.	GI Cuadrado Medio Cociente-F P-Valor
Entre grupos Intra grupos	2.28622E19 2.53462E19	2 1.14311E19 2.71 0.1453 6 4.22437E18
Total (Corr.)	4.82084E19	8



• Análisis de coliformes tortillería 1.



Tabla ANOVA para COLIFORMES según MUESTRA

	Análisis de la V	arianza
Fuente	Sumas de cuad.	GI Cuadrado Medio Cociente-F P-Valor
Entre grupos Intra grupos		2 1.25771E17 1.05 0.4049 6 1.19216E17
Total (Corr.)	9.66839E17	8



• Análisis de coliformes tortillería 2.



Tabla ANOVA para COLIFORMES según MUESTRA

Análisis de la Varianza						
Fuente	Sumas de cuad.	GI	Cuadrado Me	dio Cocie	nte-F P	-Valor
Entre grupos Intra grupos	2.42699E17 5.79301E17		1.2135E17 9.65501E16	1.26	0.3500	
Total (Corr.)	8.22E17 8	3				



• Análisis de coliformes tortillería 3.

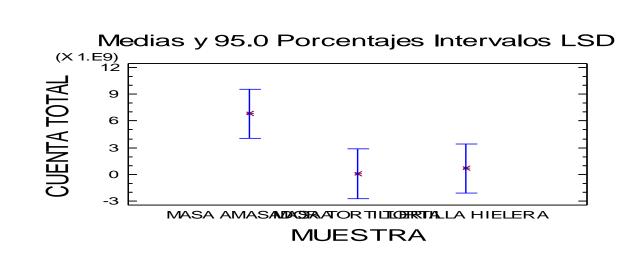


Tabla ANOVA para COLIFORMES según MUESTRA

	Análisis de la V	arianza
Fuente	Sumas de cuad.	GI Cuadrado Medio Cociente-F P-Valor
Entre grupos Intra grupos		2 1.63633E17 1.30 0.3387 6 1.25499E17
Total (Corr.)	1.08026E18	8



• Comparativo de cuenta total entre tortillerías.

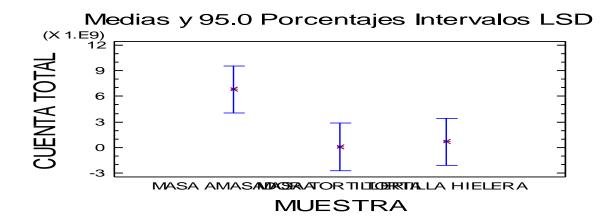


Análisis de la Varianza para CUENTA TOTAL - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma d	e cuadrados	GL C	uadrado Medio	Cocient	e-F P-Valor
EFECTOS PR	INCIPAL	.ES				
A: MUESTRA		2.50009E20	2	1.25005E20	3.92	0.0350
B: TORTILLE	RIA	7.95614E18	2	3.97807E18	0.12	0.8834
RESIDUOS		7.01695E20	22	3.18952E19	_	
TOTAL (CORREGIDO) 9.5966E20 26						



• Comparativo de cuenta total entre muestras.

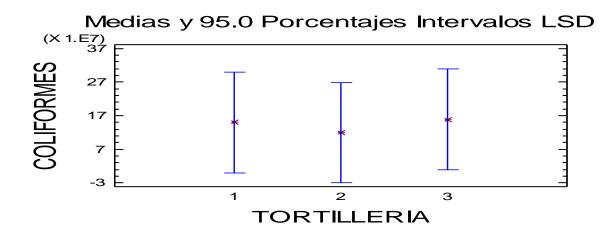


Análisis de la Varianza para CUENTA TOTAL - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados		Cuadrado Medio	•••••	
EFECTOS PR					
A: MUESTRA	2.50009E20	2	1.25005E20	3.92	0.0350
B: TORTILLE	RIA 7.95614E18	2	3.97807E18	0.12	0.8834
RESIDUOS	7.01695E20	22	3.18952E19		
TOTAL (COR	TOTAL (CORREGIDO) 9.5966E20 26				



• Comparativo de coliformes entre tortillerías.

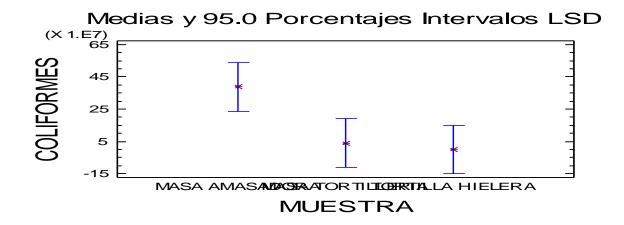


Análisis de la Varianza para COLIFORMES - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de	cuadrados	GL C	Cuadrado Medio	Cociente	e-F P-Valor
EFECTOS PR	_	_		_		
A: MUESTRA B: TORTILLE				4.07451E17 3.82705E15	4.36 0.04	0.0253 0.9599
b. TORTILLE	NIA	7.00411610	2	3.02703E13	0.04	0.9599
RESIDUOS	2	2.0542E18	22	9.33726E16		
TOTAL (CORF	REGIDO)	2.87675E18	26			



• Comparativo de coliformes entre muestras.



Análisis de la Varianza para COLIFORMES - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados		GL Cuadrado Medio Cociente-F P-Val			e-F P-Valor	
EFECTOS PR	INCIPALE	:S					
A: MUESTRA	\	8.14902E17	2	4.07451E17	4.36	0.0253	
B: TORTILLE	RIA	7.65411E15	2	3.82705E15	0.04	0.9599	
RESIDUOS	2	2.0542E18	22	9.33726E16	_		
TOTAL (COR	REGIDO) 2	2.87675E18	26				



ANEXO III.

Resultados estadísticos realizados en el molino "A" a baja temperatura:

• Análisis de cuenta total.



Tabla ANOVA para CUENTA TOTAL según MUESTRA

Analisis de la \	/arıanza

Fuente	Sumas de cuad.	GI Cuadrado Medio Cociente-F P-Valor
Entre grupos Intra grupos		3 3.56396E11 8.80 0.0310 4 4.04822E10
Total (Corr.)	1.23112E12	7



• Análisis de coliformes.



Tabla ANOVA para COLIFORMES según MUESTRA

Análisis de la Varianza							
Fuente	Sumas de cuad.	GI Cuadrado Medio Cociente-F P-Valor					
Entre grupos Intra grupos		3 1.08375E11 1.73 0.2979 4 6.25105E10					
Total (Corr.)	5.75168E11	7					



ANEXO IV.

Análisis estadísticos realizados a una tortillería que utiliza mezcla de masa y harina de maíz nixtamalizada:

Análisis de cuenta total.



Tabla ANOVA para CUENTA TOTAL según MUESTRA

Análisis de la Varianza							
Fuente	Sumas de cuad.	GI Cuadrado Medio Cociente-F P-Valor					
Entre grupos Intra grupos		4 9.79733E16 3.95 0.0356 10 2.48318E16					
Total (Corr.)	6.40211E17	14					



• Análisis de coliformes.

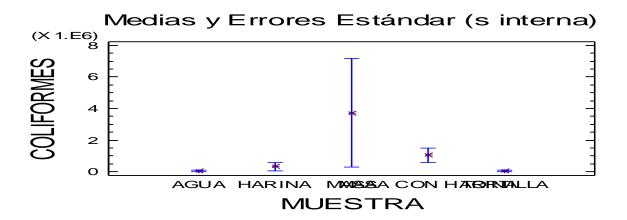


Tabla ANOVA para COLIFORMES según MUESTRA

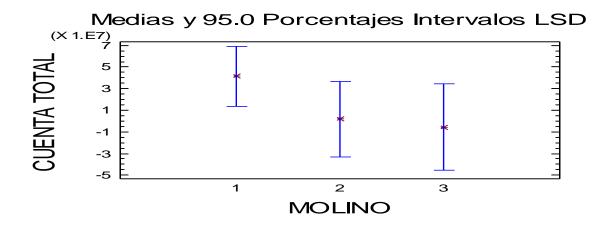
Análisis de la Varianza							
Fuente	Sumas de cuad.	GI Cuadrado Medio Cociente-F P-Valor					
Entre grupos Intra grupos		4 7.20639E12 0.99 0.4544 10 7.2521E12					
Total (Corr.)	1.01347E14	14					



ANEXO V.

Resultados que se realizaron al comparar los molinos, las tortillerías.

• Comparativo de cuenta total entre molinos.

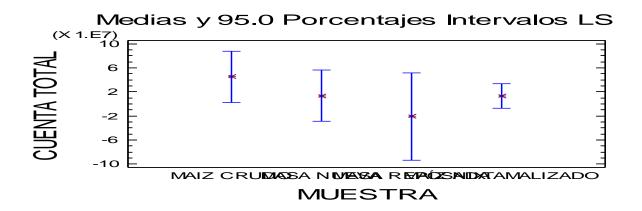


Análisis de la Varianza para CUENTA TOTAL - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL C	cuadrado Medio	Cocient	e-F P-Valor
EFECTOS PR A: MUESTRA B: MOLINO	1.07823E16		3.59412E15 1.21971E16	0.50 1.70	0.6842 0.1937
RESIDUOS	3.66883E17				
TOTAL (CORREGIDO) 3.97536E17				- -	



• Comparativo de cuenta total entre muestras.

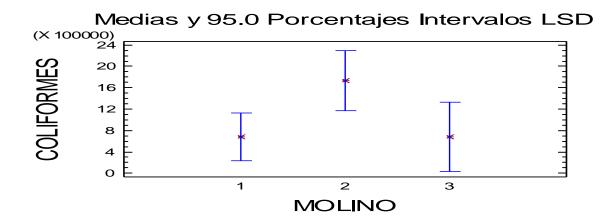


Análisis de la Varianza para CUENTA TOTAL - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL (Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor		
EFECTOS PRINCIPALES							
A: MUESTRA	1.07823E16	3	3.59412E15	0.50	0.6842		
B: MOLINO	2.43943E16	2	1.21971E16	1.70	0.1937		
RESIDUOS	3.66883E17	51	7.19379E15				
TOTAL (CORREGIDO) 3.97536E			56				



• Comparativo de coliformes entre molinos.

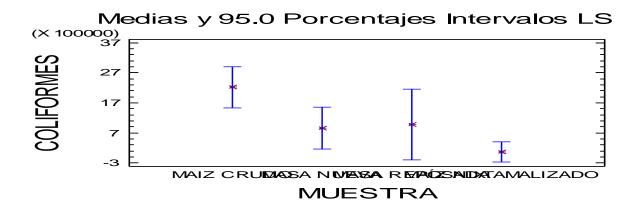


Análisis de la Varianza para COLIFORMES - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL (Cuadrado Medio C	Cociente-F	P-Valor		
EFECTOS PRINCIPALES							
A: MUESTRA	3.23733E13	3	1.07911E13	5.74	0.0018		
B: MOLINO	1.31635E13	2	6.58176E12	3.50	0.0376		
RESIDUOS	9.58404E13	51	1.87922E12				
TOTAL (CORI	REGIDO) 1.42954	56					



• Comparativo de coliformes entre muestras.



Análisis de la Varianza para COLIFORMES - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL Cuadrado Medio Cociente-F			P-Valor		
EFECTOS PRINCIPALES							
A: MUESTRA	3.23733E13	3	1.07911E13	5.74	0.0018		
B: MOLINO	1.31635E13	2	6.58176E12	3.50	0.0376		
RESIDUOS	9.58404E13	51	1.87922E12				
TOTAL (CORREGIDO) 1.42954E14							