



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS
DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

UNIDAD QUERÉTARO

**Estudio de la inhibición de acrilamida durante el freído de tortillas
de maíz nixtamalizado**

Tesis que presenta

M.C. Ricardo Salazar López

Para obtener el Grado de

Doctor en Ciencias

En la Especialidad de

Materiales

Director de la Tesis:

Dr. Gerónimo Arámbula Villa

**CINVESTAV
IPN
ADQUISICION
LIBROS**

Santiago de Querétaro, Qro. Diciembre 2013

CLASIF.. CA 00224
ADQUIS.. CA-239-551
FECHA: 21-October-2014
PROCED.. Don-2014
\$ _____

ID: 216312-'00'

A dios

A Vero por ser mi fuente de motivación e inspiración para poder superarme cada día más y así poder luchar para que la vida nos depare un futuro mejor.

A mis padres y hermanos por su amor, trabajo y sacrificio, gracias a ustedes he podido llegar hasta aquí.

Agradecimientos

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)** por la beca otorgada para realizar el presente trabajo de tesis (No. Becario 205051).

Al **Doctor Gerónimo Arámbula Villa** por su dirección, asesoría, apoyo, disposición, consejos y enseñanzas para la culminación de esta investigación.

También les agradezco a los miembros de mi comité de tesis el **Dr. J. Gabriel Luna Bárcenas, Dr. Juan de Dios Figueroa Cárdenas, Pedro A. Vázquez Landaverde** y al **Dr. J. Abraham Méndez Albores** por su valioso apoyo, sugerencias y correcciones, que permitieron mejorar este trabajo

Agradezco, muy especialmente a los **Doctores Francisco J. Hidalgo y Rosario Zamora** por ser ejemplo de dedicación al trabajo, por su acertada orientación, y por darme la confianza para realizar esta investigación. Porque gracias a su apoyo y consejo he llegado a realizar la más grande de mis metas.

A **Rosa, Esmeralda, Arturo y José Luis** por su ayuda incondicional, por el convivio, por su calidez y compañerismo al compartir inquietudes, éxitos y fracasos durante mi estancia con ellos.

A mis amigos del CINVESTAV **Javi, Francisco, Oscar, Rica, Jani, Wendy, Clau, Ami, Paty, Alma, Nalle, Clemente, Cheli, Yoss, Eloy**, por invaluable afecto, cariño y respaldo.

A **Juan Veles, Edmundo Gutiérrez, Carlos A. Ávila, Araceli Mauricio, Marcela Gaytán, Verónica Flores y Eleazar Urbina** por la ayuda técnica brindada para la realización de este trabajo

Índice

Índice	i
Índice de figuras.....	v
Índice de cuadros	vii
Resumen.....	viii
Abstract.....	ix
1. Introducción.....	1
2. Revisión de la literatura	3
2.1 Acrilamida: generalidades.....	3
2.2 Toxicología de la acrilamida.....	4
2.3 Formación de acrilamida en los alimentos.....	6
2.3.1 Reacción de Maillard.....	7
2.3.2 Mecanismo de formación de acrilamida por reacción de Maillard.	8
2.4 Modelos de estudio en matrices alimentarias.....	9
2.4.1 Papa	9
2.4.2 Productos de panadería.....	10
2.4.3 Cereales	10
2.4.4 Café.....	11
2.5 Estrategias utilizadas para reducir el contenido de acrilamida en los alimentos ...	12
2.5.1 Control de precursores (asparagina y azúcares reductores)	12
2.5.2 Optimización de los métodos de procesamiento	13
2.5.3 Adición de modificadores del pH.....	16
2.5.4 Adición de asparaginasa	16
2.5.5 Adición de carbonato hidrógenos	17
2.5.6 Adición de agentes antioxidantes	17

2.5.7 Adición de iones metálicos.....	18
2.5.8 Adición de proteínas o aminoácidos.....	19
2.6 Alimentos a base de maíz nixtamalizado	22
2.6.1 El maíz.....	22
2.6.2 La nixtamalización	23
2.6.3 Botanas elaboradas a partir de la tortilla de maíz.....	24
3. Justificación	26
4. Objetivos	27
4.1 Objetivo general	27
4.2 Objetivos particulares.....	27
5. Materiales y Métodos.....	28
5.1 Materiales.....	28
5.2 Elaboración de la harina de maíz nixtamalizado.....	28
5.3 Efecto de un extracto oleoso de chile piquín en la formación de acrilamida en frituras de papa y tortilla.....	29
5.3.1 Preparación del extracto oleoso de chile piquín.....	29
5.3.2 Efecto de un extracto oleoso de chile piquín en la formación de acrilamida en sistemas modelo asparagina/glucosa.....	29
5.3.3 Efecto de la oxidación del extracto oleoso de chile piquín en la formación de acrilamida en sistemas modelo asparagina/glucosa	29
5.3.4 Análisis de peroxidación de lípidos.....	30
5.3.5 Efecto de un extracto oleoso de chile piquín en la formación de acrilamida en frituras de papa.....	30
5.3.6 Efecto de un extracto oleoso de chile piquín en la formación de acrilamida en frituras de tortilla.....	31
5.4 Efecto de la proteína de amaranto en la formación de acrilamida en alimentos....	31

5.4.1 Preparación de la harina y el aislado proteico de amaranto	31
5.4.2 Efecto de la harina y el aislado proteico de amaranto en la formación de acrilamida en sistemas modelo asparagina/glucosa	32
5.4.3 Efecto de la harina y del aislado proteico de amaranto en la formación de acrilamida en galletas	32
5.4.4 Efecto de la harina y del aislado proteico de amaranto en la formación de acrilamida en tortilla horneada y frituras de tortilla.....	33
5.5 Efecto de la adición de cationes a la masa en la formación de acrilamida en frituras de tortilla	33
5.6 Efecto del hidróxido de calcio durante la nixtamalización en el contenido de acrilamida en frituras de tortilla.....	34
5.7 Efecto de la actividad de agua en la tortilla y su relación con la formación de acrilamida después del freído.....	34
5.7.1 Construcción de isotermas de desorción de vapor de agua	34
5.7.2 Cálculo de las propiedades termodinámicas de desorción	35
5.7.3 Efecto de la actividad de agua de la tortilla en la formación de acrilamida en frituras de tortilla.....	37
5.8. Determinación de color	37
5.9 Determinación de la textura	38
5.10 Determinación del contenido de acrilamida en sistemas modelo	38
5.11 Determinación de acrilamida en los alimentos	39
5.12 Diseño experimental y análisis estadístico.....	40
6. Resultados y Discusión.....	41
6.1 Efecto de un extracto oleoso chile piquín en la formación de acrilamida en frituras de papa y tortilla.	41
6.2 Efecto de la proteína de amaranto en la formación de acrilamida en alimentos....	48

6.3 Disminución de la formación de acrilamida en frituras de tortilla debido a la adición de iones de calcio y magnesio.....	56
6.4 Efecto del hidróxido de calcio durante la nixtamalización sobre el contenido de acrilamida en frituras de tortilla.....	59
6.5 Efecto de la actividad de agua en la tortilla y su relación con la formación de acrilamida después del freído.....	65
7. Conclusiones.....	74
8. Perspectivas	75
9. Bibliografía	76

Índice de figuras

Figura 1. Acrilamida y su metabolito, glicidamida.	4
Figura 2. Rutas principales de formación de la acrilamida.	9
Figura 3. Efecto de la cantidad de extracto oleoso en la formación de acrilamida en sistemas modelo asparagina/glucosa.	41
Figura 4. Oxidación a través del tiempo medida como TBARS del aceite de soya y el extracto oleoso de chile piquín.	42
Figura 5. Efecto del tiempo de oxidación del aceite de soya y del extracto oleoso de chile piquín en el contenido de acrilamida en sistemas modelo asparagina/glucosa.	42
Figura 6. Efecto del tiempo de freído a 180°C en: A, formación de acrilamida, y B, cambio de color (ΔE), en frituras de papa usando aceite de soya ó el extracto oleoso de chile piquín.	44
Figura 7. Efecto del tiempo de freído a 180°C en: A, formación de acrilamida, y B, cambio de color (ΔE), en frituras de tortilla usando aceite de soya ó el extracto oleoso de chile piquín.	45
Figura 8. Efecto de la cantidad de capsaicina en la formación de acrilamida en sistemas modelo asparagina/glucosa.	47
Figura 9. Efecto de la cantidad de harina de amaranto y del aislado de proteína de amaranto en la acrilamida producida en sistemas modelo asparagina/glucosa.	48
Figura 10. Efecto de la harina de amaranto y del aislado de proteína de amaranto en: A, contenido de acrilamida; B, color; C, textura, en galletas horneadas a 190°C durante 7 y 9 min.	50
Figura 11. Efecto de la harina de amaranto y del aislado de proteína de amaranto en: A, contenido de acrilamida; B, color; C, textura, en tortilla freída a 190°C durante 30 y 45 s.	52
Figura 12. Efecto de la harina de amaranto y del aislado de proteína de amaranto en: A, contenido de acrilamida; B, color; C, textura, en tortillas horneadas a 205°C durante 4 y 5.25 min.	53
Figura 13. Efecto del cloruro de calcio y del cloruro de magnesio en el contenido de acrilamida en frituras de tortilla freídas a 190°C por 30 s.	56

Figura 14. Efecto del cloruro de calcio y del cloruro de magnesio en el color (A) y en la fuerza de fractura (B) en frituras de tortilla freídas a 190°C por 30 s.	58
Figura 15. Efecto del contenido de calcio en la harina de maíz nixtamalizado en el contenido de acrilamida de frituras de tortilla procesadas a 30 y 45 segundos.....	62
Figura 16. Efecto del Ca(OH) ₂ adicionado en la nixtamalización en: (A) absorción de aceite; (B) textura; y (C) color, en frituras de tortilla freídas a 180°C por 30 y 45 segundos.	64
Figura 17. Isotermas de desorción de humedad a 25, 30 y 35 °C de la tortilla utilizada para elaborar frituras.....	65
Figura 18. Cambios en la entropía integral y diferencial a 30°C en función de la actividad de agua de tortilla utilizada para elaborar frituras.	67
Figura 19. Cambios en el contenido de acrilamida en función de la actividad de agua de frituras elaboradas a partir de tortilla almacenada 4 y 10 días.	68
Figura 20. Cambios de pH en función de la actividad de agua de tortilla utilizada para elaborar frituras almacenada 4 y 10 días	70
Figura 21. Cambios en el color (A) y en la textura (B) en función de la actividad de agua de frituras elaboradas a partir de tortillas almacenadas 4 y 10 días.	72

Índice de cuadros

Cuadro 1. Composición química de las harinas de maíz obtenidas con diferentes concentraciones de hidróxido de calcio durante la nixtamalización.	59
Cuadro 2. Coeficientes de correlación entre el hidróxido de calcio usado en la nixtamalización, la composición química de las harinas y el contenido de acrilamida de las frituras elaboradas (n=3)	61
Cuadro 3. Parámetros estimados de la ecuación de GAB para la tortilla utilizada en la elaboración de frituras de maíz.....	66

Resumen

Desde el descubrimiento (año 2002) de su presencia en alimentos procesados térmicamente, la acrilamida atrajo la atención de la comunidad científica como consecuencia de su potencial toxicidad, dando inicio a un sinnúmero de investigaciones con la finalidad de entender mejor su formación, y en lo posible, disminuir su presencia. Existe un amplio consenso de que la reacción de Maillard es una de las rutas principales de formación de acrilamida en los alimentos. La reacción ocurre por degradación de la asparagina en presencia de azúcares y de lípidos oxidados como consecuencia de reacciones amino-carbonilo. El objetivo general de esta investigación fue estudiar y cuantificar la formación de acrilamida en botanas a base de tortilla de maíz, mediante el establecimiento de metodologías que permiten su reducción a partir de modificaciones en los procesos de elaboración. Dichas modificaciones incluyeron el uso de un extracto oleoso de chile piquín durante el freído, la adición de sales de magnesio y calcio y la inclusión de un aislado de proteína de amaranto. Así mismo, se evaluó el efecto de la cantidad de hidróxido de calcio utilizada durante la nixtamalización y por último, el efecto de la actividad de agua de la tortilla y su relación con el contenido de acrilamida después del freído. El uso del extracto oleoso durante el freído disminuyó el contenido de acrilamida de las frituras de tortilla en un 77 %. Así mismo, se obtuvo una reducción menor aunque significativa (51 %) al adicionar un aislado de proteína de amaranto a la masa utilizada para preparar las frituras de tortilla. En el mismo contexto, al agregar sales de CaCl_2 y el MgCl_2 se logró una reducción en el contenido de acrilamida del 67 y 70%, respectivamente. Por otra parte, la cantidad de cal utilizada durante la nixtamalización influyó en la formación de acrilamida en las frituras de maíz, por lo que el mayor contenido de acrilamida se obtuvo cuando se utilizó el 1% de cal. Finalmente, la actividad de agua de la tortilla antes de ser freída es capaz de restringir la movilidad de los precursores responsables de la formación de acrilamida, y de esta forma disminuye el contenido de acrilamida en aquellas frituras elaboradas a partir de tortillas equilibradas en actividades de agua correspondientes a la zona de mínima entropía integral de desorción.

Palabras clave: Nixtamalización, Acrilamida, Fritura de tortilla.

Abstract

Since the discovery (2002) of the presence of acrylamide in thermally processed foods, this compound attracted the attention of the scientific community due to its potential toxicity. For this reason, extensive investigations have been carried out in order to both explain its formation and mitigate its presence in foods. Its formation is closely related to the Maillard reaction and specifically with the presence of carbonyl compounds with groups capable of forming a Schiff Base with the amino acid asparagine. The objective of this research was to study and quantify the acrylamide formation in tortilla chips, in order to establish methodologies for its reduction from changes in the elaboration process. Such modifications included the use of piquin pepper oily extract during frying and the addition of calcium and magnesium salts and amaranth protein isolate in tortilla chips formulation. Also, the effect of the amount of lime used during nixtamalization was evaluated. Finally, the effect of water activity of the tortilla and its relationship with the acrylamide content after frying was analyzed. The use of oily extract during frying decreased the acrylamide content of tortilla chips by 77 %. Furthermore, we obtained a significant reduction (51 %) when adding amaranth protein isolate to the masa used to prepare tortilla chips. In the same context, the addition of CaCl_2 and MgCl_2 salts reduced the acrylamide content in 67 and 70 %, respectively. Moreover, the amount of lime used during nixtamalization influenced the acrylamide formation in tortilla chips, so that the highest levels of acrylamide were obtained when using the 1% of lime. Finally, the activity of water before tortilla frying is capable of restricting acrylamide precursors mobility, and thus reduces the acrylamide content in those tortillas chips prepared from tortilla equilibrated to water activities corresponding to the minimum integral desorption entropy.

Keywords: Nixtamalization , Acrylamide, Tortilla Chips.

1. Introducción

Durante el procesamiento térmico de los alimentos, los cambios químicos inducidos por el calor pueden producir efectos tanto benéficos como perjudiciales. La degradación térmica de los componentes en los alimentos no solo puede causar caramelización y conducir a la formación de un oscurecimiento, aromas y sabores deseables, sino también pueden generar tóxicos con propiedades mutágenas y cancerígenas. Algunos ejemplos de lo anterior son el 3-monocloropropano-1,2-diol (3-MCPD), el cual ha sido encontrado en pan tostado a niveles proporcionales al grado de tostado; las aminas heterocíclicas (HAs), especialmente las que pertenecen a la clase de los aminoimidazoazarenos, fueron descubiertas en superficies carbonizadas de pescado y carne. Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH) son otra clase de contaminantes que se forman en alimentos procesados a temperaturas muy extremas; otro ejemplo son las nitrosaminas, las cuales se forman en presencia de aditivos como nitritos o nitratos. Recientemente, la acrilamida, una sustancia química simple, ha sido considerada como parte del grupo de agentes tóxicos formados durante el procesamiento térmico de alimentos ricos en azúcares reductores y/o asparagina (Yaylayan, 2005). Su importancia, a diferencia de los compuestos antes mencionados, radica en que su formación está asociada con la reacción de Maillard, la cual está estrechamente ligada con los procesos de calentamiento y esterilización que se llevan a cabo comúnmente en nuestro hogar y en la industria para la producción de alimentos microbiológicamente seguros y organolépticamente aceptables.

El descubrimiento de la acrilamida se originó a partir de la detección de un aducto acrilamida-hemoglobina en humanos; más adelante también fue encontrada por los científicos de la Universidad de Estocolmo en ratas nutridas con alimentos fritos (Tareke *et al.*, 2000).

El hallazgo de cantidades elevadas de acrilamida ($\mu\text{g}/\text{kg}$) en diferentes alimentos de consumo habitual, sometidos previamente a tratamientos térmicos para su preparación, fue reportada conjuntamente por investigadores de la Universidad de Estocolmo y de la Administración Nacional de Alimentos de Suecia, en conferencia de prensa el 24 de abril

del 2002. Al mismo tiempo, datos analíticos de varios alimentos fueron puestos a disposición del público en el sitio Web de la misma universidad (Rosén y Hellenäs, 2002).

Los resultados de las investigaciones suecas fueron confirmados rápidamente por distintas agencias estatales de alimentos, lo cual dio origen a la creación de un comité científico que deliberó sobre el riesgo potencial para la salud de la acrilamida. Posteriormente, todos los datos disponibles fueron difundidos por los grupos de expertos de organismos internacionales como la Organización Mundial de la Salud (WHO), la Organización de la Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Junta del Instituto para la Seguridad Alimentaria y Nutrición Aplicada/Centro Nacional para la Seguridad y la Tecnología Alimentaria (JIFSAN/NCFST) (JIFSAN/NCFST, 2002).

Algunos enfoques tan importantes como la validación de una metodología definida de análisis, además de estudios complejos tanto epidemiológicos como de biodisponibilidad, se deben resolver en los próximos años. Debido a ello, en la última década se han fortalecido los proyectos enfocados a la investigación de este compuesto, el cual está presente en alimentos consumidos de manera habitual en nuestra dieta diaria, como las papas fritas, el pan, galletas, cereales para el desayuno, café, productos *snacks*, entre otros.

Consecuentemente, el presente trabajo pretende establecer metodologías que permitan la reducción de las cantidades de acrilamida presentes en frituras de tortilla de maíz, a partir de modificaciones en los procesos de elaboración, mediante cambios en la nixtamalización y la a_w además de la adición de cationes, antioxidantes y amaranto.

2. Revisión de la literatura

2.1 Acrilamida: generalidades

La acrilamida ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CONH}_2$) (también conocida como 2-propenamida, etilen carboxamida, ácido acrílico amida, vinil amida y ácido propenoico amida) es un polvo cristalino, de color blanco e inodoro con un punto de fusión de 84.5°C y un punto de ebullición de 125°C a 25 mmHg. Es soluble en solventes polares como agua (2155 g/L a 30°C), alcoholes (1550 g/L en metanol y 860 g/L en etanol), acetonitrilo (396 g/L), acetato de etilo (126 g/L) y acetona (631 g/L). Es un monómero no fluorescente formado a partir de la hidratación del acrilonitrilo y debido a que es un cromóforo débil no puede ser detectado en el rango UV ya que se polimeriza (Friedman, 2003; Castle y Eriksson, 2005; Elder, 2005; Moreno *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2009).

La acrilamida es un intermediario químico usado en la producción y síntesis de poliacrilamida, la cual se utiliza en la industria cementera, textil, papelera y de cosméticos, además de emplearse como floculante para el tratamiento de aguas residuales. Así mismo, la acrilamida se usa de forma extensa en los laboratorios moleculares como gel en la separación de proteínas y otros compuestos mediante electroforesis (Friedman, 2003; Moreno *et al.*, 2007).

Hasta hace una década, el agua potable y el humo del cigarro eran las principales fuentes conocidas de exposición a la acrilamida. Sin embargo, en el año 2002 diversos estudios realizados por la Administración Nacional de Alimentos de Suecia e investigadores de la Universidad de Estocolmo reportaron niveles elevados de esta sustancia en diferentes alimentos de consumo habitual, los cuales habían sido sometidos a procesos térmicos durante su preparación. Dichos niveles, excedían los valores máximos considerados por la OMS (Organización Mundial de la Salud) para el agua bebible ($0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$) y la legislación europea para la migración química en envolturas plásticas ($10 \mu\text{g}/\text{kg}$) (OMS, 1996; EEC, 1992).

Investigaciones posteriores confirmaron la presencia de la acrilamida en diferentes alimentos procesados y demostraron que la concentración depende de la composición y tipo de procesamiento, pudiendo alcanzar valores en el orden de mg/kg (Ahn *et al.*, 2002; Hoenicke y Gaterman, 2005). Debido a la toxicidad de la acrilamida, este descubrimiento desencadenó numerosas investigaciones a nivel mundial enfocadas a determinar su origen, análisis y mecanismos de formación y disminución en los alimentos, además de los riesgos para la salud asociados a su consumo (Claus *et al.*, 2008).

2.2 Toxicología de la acrilamida

La acrilamida ha sido clasificada como “probable carcinogénico para humanos” (Grupo 2A) por la Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer – IARC, (IARC, 1994). Su exposición causa daño al sistema nervioso en seres humanos y animales (Lopachin y Lehning, 1994; Tilson, 1981) y también se considera una toxina reproductiva (Costa *et al.*, 1992; Dearfield *et al.*, 1988) con características mutágenas y carcinógenas en sistemas experimentales *in-vitro* e *in-vivo* (Dearfield *et al.*, 1995). Diversos ensayos experimentales en laboratorios mostraron que la acrilamida y su principal metabolito, la glicidamida (**Figura 1**), son genotóxicos y carcinógenos *in vitro* e *in vivo* en niveles altos. En estudios celulares, estos dos compuestos indujeron ruptura cromosómica y puntos de mutación (Rice, 2005).

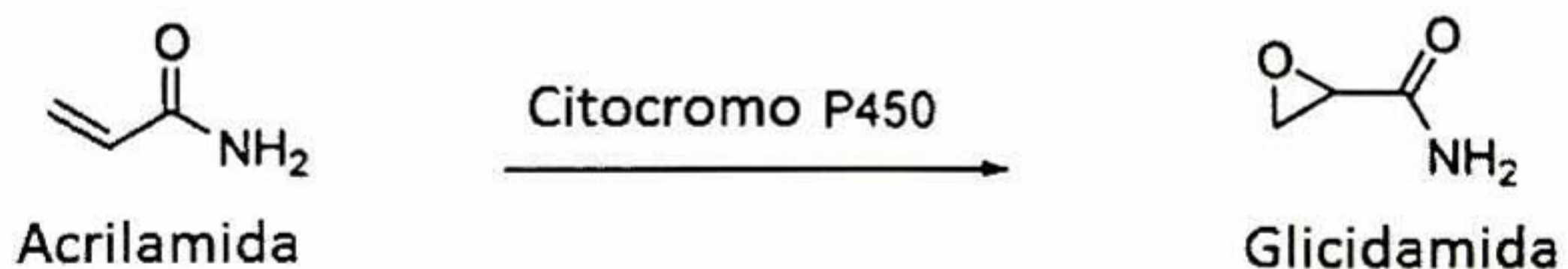


Figura 1. Acrilamida y su metabolito, glicidamida.

En 1985, la OMS estableció un valor de ingesta diaria tolerable de 12 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corporal/día, basada en la neurotoxicidad aparecida en ratas expuestas a dosis repetidas. En 1996, la misma organización estableció el límite de acrilamida en agua potable en 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, que corresponde a una ingesta de 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ considerando un consumo de agua de 2 L diarios. La ingesta crónica promedio estimada en humanos está en el orden de 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de

peso/día. (OMS, 1985,1996, 2002). En el mismo contexto, Tardiff *et al.*, (2010), estimaron un consumo diario tolerable de 40 µg/kg de peso/día y de 2.6-16 µg/kg de peso/día con relación a la neurotoxicidad y al desarrollo de algún tipo de cáncer, respectivamente. Sin embargo, en 2010 el Comité Conjunto de Expertos en Aditivos en Alimentos de la Organización Mundial de la Salud y la Organización de Alimentos y Agricultura (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives), estableció que la acrilamida es un compuesto para el cual todavía no pueden ser establecidos niveles seguros de consumo.

Neurotoxicidad: En estudios enfocados a la evaluación de la neurotoxicidad de la acrilamida en animales y humanos expuestos a dosis repetidas de acrilamida, se ha observado la presencia de daño en los nervios periféricos. La exposición a la acrilamida en periodos cortos a la acrilamida en el trabajo de 71 trabajadores de pequeñas fábricas productoras en China indujo los siguientes síntomas: debilidad en piernas, pérdida de reflejos y sensaciones y adormecimiento de extremidades. Una exposición más prolongada resultó en síntomas más severos como disfunción cerebral seguida de una neuropatía (Costa, 1996; He *et al.*, 1989; LoPachin, 2004).

Toxicidad reproductiva. En el ámbito reproductivo, está reportado que la acrilamida es genotóxica, debido a que induce mutaciones en las células somáticas y germinales de los mamíferos. En estudios llevados a cabo en linfocitos humanos expuestos a la acrilamida, se observó que puede ejercer un amplio espectro de efectos adversos sobre el ADN de células normales, entre las que destacan modificaciones en sus bases y apoptosis. Al parecer, la acrilamida impide la reparación del ADN, aunque también su metabolito, la glicidamida puede ejercer estos efectos genotóxicos, debido a que los linfocitos contienen citocromo P450 el cual se encarga de la biotransformación de la acrilamida a glicidamida (Blasiak *et al.*, 2004). En estudios llevados a cabo en ratas y ratones se confirmó que la acrilamida es un tóxico que afecta al desarrollo y la fertilidad (Zenick *et al.*, 1986; Chapin *et al.*, 1995; Adler *et al.*, 2002). Recientemente, en el primer estudio realizado en humanos, Pedersen *et al.*, (2012) demostraron que el consumo de alimentos con alto contenido de acrilamida durante el embarazo se asocia con un peso inferior y una menor circunferencia de la cabeza en recién nacidos. Los resultados mostraron que la diferencia entre las madres expuestas a

altos niveles de acrilamida y las expuestas a niveles bajos puede ser de hasta 132 gramos en el peso del recién nacido y 0.33 centímetros en el tamaño de su cabeza.

Carcinogénesis. Se ha comprobado que la acrilamida es cancerígena en ratas de laboratorio, causando tumores en la tiroides, los testículos, las glándulas suprarrenales y mamas tras la exposición a dosis relativamente bajas (2 mg/kg administrada en agua potable). También puede producir tumores en el cerebro, la médula espinal y otros tejidos (OMS, 2002; Ruden, 2004). Estudios epidemiológicos con trabajadores expuestos a la acrilamida no han demostrado riesgos excesivos de cáncer estadísticamente significativos, con la única excepción del cáncer de páncreas para el cual se halló una duplicación del riesgo en los trabajadores más expuestos (OMS, 2002). Un estudio posterior realizado en Suecia no consiguió relacionar la exposición a la acrilamida con distintos casos de cáncer de riñón, intestino o vejiga detectados en una población determinada (Mucci *et al.*, 2003).

2.3 Formación de acrilamida en los alimentos

Existe suficiente información sobre la formación de la acrilamida en los alimentos. Al parecer se produce de manera natural en algunos alimentos sometidos a cocción o procesamiento a altas temperaturas, siendo los niveles generados directamente proporcionales a la duración del calentamiento. Los mayores niveles ($\mu\text{g}/\text{kg}$) se han encontrado en alimentos ricos en almidón o con niveles altos de azúcares reductores, asparagina o la combinación de los anteriores. Estos alimentos incluyen a las papas fritas, las papas a la francesa, las frituras de maíz, pan, pan tostado, galletas, cereales para desayuno, almendras, plátano, cebolla, espárragos y café, todos ampliamente consumidos por la población mundial (Friedman y Levine, 2008).

Poco después del primer reporte de la presencia de acrilamida en alimentos amiláceos, se propuso a la degradación térmica del aminoácido asparagina en presencia de un azúcar reductor dentro de la reacción de Maillard como la ruta principal para la formación de la acrilamida en los alimentos (Mottram *et al.*, 2002; Stadler *et al.*, 2002). Se ha confirmado que la cadena principal de tres carbonos, así como el nitrógeno del grupo amida de la acrilamida se origina de su localización correspondiente en la asparagina. Además, se

confirmó que la conversión de asparagina en acrilamida se ve favorecida por la presencia de un azúcar reductor (Stadler *et al.*, 2002; Zyzak *et al.*, 2003). Otros precursores reportados como contribuyentes directos en la formación de acrilamida son: 3-aminopropanamida, una base de Schiff descarboxilada (Yashuara *et al.*, 2003), un producto de Amadori descarboxilado (Yaylayan *et al.*, 2003), ácido acrílico (Becalsky *et al.*, 2003; Stadler, 2003; Stadler *et al.*, 2003) y acroleína (Yashuara *et al.*, 2003).

Así mismo, se ha demostrado la formación de acrilamida a partir del calentamiento de cantidades equimolares de asparagina y glucosa a 180°C por 30 minutos (Stadler *et al.*, 2002). La formación es termodependiente hasta 170°C, mientras que a temperaturas más elevadas se inicia un proceso de autodegradación poco explicado. Otros aminoácidos que producen bajas cantidades de acrilamida son la alanina, la arginina, el ácido aspártico, cisteína, glutamina, metionina, treonina y valina (Elder, 2005).

Por otra parte, la oxidación de los lípidos se reportó en un principio como una ruta minoritaria, siendo el ácido acrílico el precursor directo formado a partir de la acroleína a través de la degradación oxidativa de los lípidos (Gertz y Klostermann, 2002). Sin embargo, diversos estudios identificaron otros compuestos carbonílicos producto de la oxidación de los lípidos como sustancias capaces de degradar la asparagina a acrilamida por mecanismos de reacción similares a los mostrados por los carbohidratos (Capuano *et al.*, 2010; Hidalgo *et al.*, 2010; Zamora *et al.*, 2011; Zamora e Hidalgo, 2008).

2.3.1 Reacción de Maillard

La reacción de Maillard, fue estudiada por primera vez por Louis-Camille Maillard en 1912. Conformar una serie de reacciones complejas debidas a la reacción de grupos aminos libres, como aminas, aminoácidos, péptidos y proteínas con compuestos carbonílicos, particularmente azúcares reductores, aunque se siguen identificando productos y rutas debido a la complejidad de las reacciones implicadas. La reacción de Maillard es importante para determinar el aroma, el sabor y la apariencia final de los alimentos. De manera similar, puede ser la causa de: deterioro de los alimentos durante su procesado y almacenamiento, formación de compuestos antinutricionales y tóxicos, destrucción de

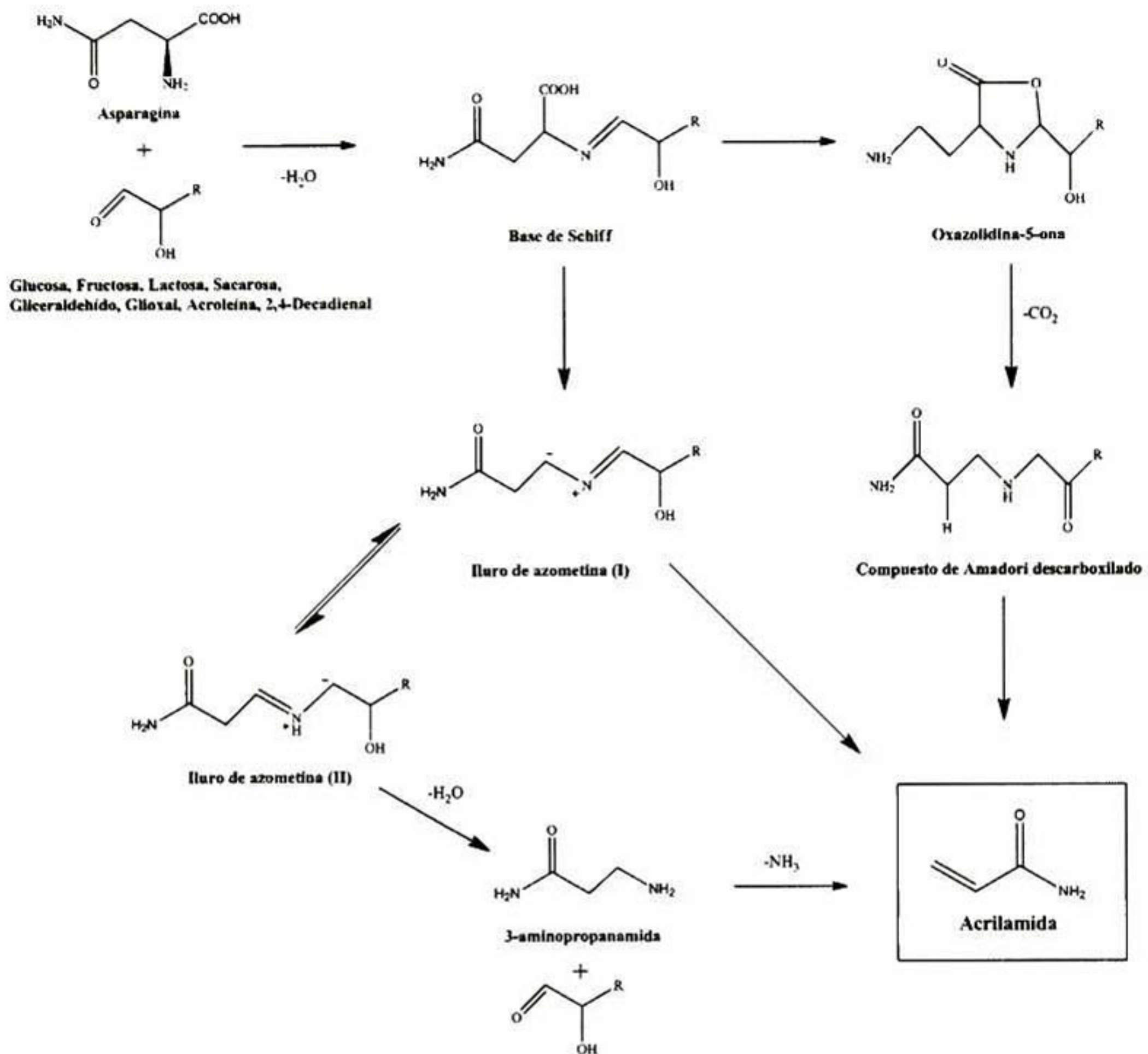
aminoácidos esenciales y reducción de la digestibilidad de las proteínas de los alimentos (Belitz *et al.*, 2004).

2.3.2 Mecanismo de formación de acrilamida por reacción de Maillard.

En la **Figura 2** se presentan esquemáticamente algunas de las rutas de formación de acrilamida a partir de asparagina y un compuesto con un grupo carbonilo (Zyzak *et al.*, 2003; Wedzicha *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2009). El mecanismo involucra la formación de una base de Schiff que resulta de la reacción de la asparagina y el compuesto con el grupo carbonilo, preferentemente α -hidroxicarbonilos, como los azúcares reductores (Mottram *et al.*, 2006). El siguiente paso es la descarboxilación de la base de Schiff para obtener iluro de azometina I y II, cuya hidrólisis resulta en 3-aminopropanamida; en este paso la pérdida de amoníaco produce la acrilamida. La degradación térmica de la 3-aminopropanamida a acrilamida bajo condiciones acuosas o de baja humedad a temperaturas entre 100 y 180°C confirma que es un precursor muy efectivo para la formación de acrilamida (Granvogl *et al.*, 2004). Alternativamente, el iluro de azometina puede formar acrilamida mediante la eliminación de una imina. Por otra parte, en condiciones acuosas la base de Schiff puede experimentar una ciclación intramolecular, dando como resultado la oxazolidina-5-ona, la que al descarboxilarse genera el compuesto de Amadori descarboxilado, el cual mediante una β -eliminación da como resultado final una molécula de acrilamida. Sin embargo, la formación de la acrilamida a partir del compuesto de Amadori no es energéticamente favorable comparado con la ruta del iluro de azometina (Yaylayan *et al.*, 2003). El compuesto de Amadori es un precursor importante de otros productos de la reacción de Maillard, responsables de la generación de colores y aromas.

Las rutas de formación descritas anteriormente se han utilizado para explicar la formación de acrilamida en sistemas modelo. Sin embargo, los alimentos son sistemas más complejos y contienen una gran variedad de aminoácidos y azúcares, los cuales participarán en la reacción de Maillard. Por lo tanto, existe una gran cantidad de compuestos con grupos carbonilo que están disponibles para formar bases de Schiff con la asparagina, así como con otros aminoácidos. Como consecuencia, la formación de acrilamida en los alimentos puede originarse de un número diferente de intermediarios (Mottram *et al.*, 2006). Debido a lo

anterior, la formación de acrilamida así como los factores que la afectan están ampliamente influenciados por la matriz alimentaria.



* Modificado de Zhang *et al.*, (2009).

Figura 2. Rutas principales de formación de la acrilamida.

2.4 Modelos de estudio en matrices alimentarias

2.4.1 Papa

Debido a su alto contenido de carbohidratos, la papa (*Solanum tuberosum*) contiene una gran cantidad de precursores de la acrilamida, incluyendo asparagina, glucosa y fructosa, lo cual explica las altas concentraciones de acrilamida en alimentos preparados a partir de este

tubérculo (Amrein *et al.*, 2003). Las papas a la francesa, un alimento ampliamente consumido, son la principal fuente de acrilamida. La concentración de los precursores de acrilamida en la papa depende de varios factores, como lo son el tipo de cultivar, las condiciones del suelo, el periodo de cosecha y las condiciones de almacenamiento poscosecha (Low *et al.*, 2006). Sin embargo, la concentración final de acrilamida dependerá de las variables del proceso, como la temperatura y tiempo de freído, además de diversas propiedades de la papa como el pH y la porosidad (Friedman y Levine, 2008).

2.4.2 Productos de panadería

Como consecuencia de su alto contenido de almidón, además de la presencia del aminoácido asparagina, varios tipos de pan y galletas son una importante fuente de acrilamida. Los altos niveles identificados se deben principalmente a tres factores: el tiempo prolongado de panificación, las elevadas temperaturas utilizadas y la concentración de los precursores. Brathen y Knutsen, (2005) estudiaron la formación de acrilamida en tortilla y pan elaborados con centeno y panificados a diferentes tiempos y temperaturas. La formación de acrilamida alcanzó un valor máximo a una temperatura de 200°C y fue dependiente de la matriz del alimento y del tiempo de panificación, mientras que los niveles de acrilamida en la corteza se incrementaron con el tiempo y la temperatura de panificación. Claus *et al.*, (2008) reportaron que la adición de cisteína a la masa, junto con el incremento en el tiempo de fermentación y la reducción del tiempo de panificación favorecía la disminución de acrilamida en pan de trigo y bollos. Así mismo, diversos estudios demostraron que el pH de la masa, el contenido de azúcares reductores y la proporción de oscurecimiento del producto final están relacionados significativamente con la formación de acrilamida en galletas (Gökmen *et al.*, 2007; Gökmen *et al.*, 2008).

2.4.3 Cereales

Los alimentos a base de cereales son otra fuente importante para la formación de acrilamida durante el procesamiento térmico. El trigo y el centeno son dos cereales ampliamente consumidos en el mundo. Springer *et al.*, (2003) mostraron que los niveles de asparagina varían a través del grano de centeno, por lo que los niveles más bajos se

encontraban en el endospermo y los más altos en la cáscara. Debido a lo anterior, las galletas preparadas a partir de harinas procesadas con el grano completo presentaban una mayor concentración de acrilamida, en relación con aquellas preparadas con harinas procesadas con el grano sin cáscara. Elmore *et al.*, (2005) estudiaron la relación entre la formación de acrilamida y sus precursores en trigo y centeno. Entre 5 y 20 minutos, las mayores pérdidas de asparagina, agua y azúcares reductores fueron acompañadas por grandes incrementos en los niveles de acrilamida, lo que sugiere que para cereales comerciales, la selección de los mismos basada en su bajo contenido de glucosa, fructosa o asparagina puede ser una medida útil para disminuir el contenido de la acrilamida.

Por otra parte, la acumulación de asparagina puede ser inducida en muchas especies de cereales como respuesta a la disponibilidad de nutrientes. Los niveles de asparagina en trigo cultivado bajo condiciones deficientes de azufre en el suelo fueron treinta veces mayores a los niveles desarrollados por trigo cultivado con suficiente concentración de fertilizantes sulfurados. En contraste, la fertilización con un suministro abundante de nitrógeno en el suelo indujo contenidos elevados de proteína a los cultivos, lo que provocó deficiencias en K, P, S y Mg, y ocasionó un incremento en los niveles de asparagina (Muttucumaru *et al.*, 2006; Friedman y Levine, 2008; Elmore *et al.*, 2010).

2.4.4 Café

— Durante su procesamiento, el café es generalmente tostado en un rango de temperaturas de 220 - 250°C. Debido a que el procesamiento de los granos de café se lleva a cabo a una temperatura mucho más alta que la de otros alimentos procesados, la formación de acrilamida durante el tostado es mucho más compleja a la de otros alimentos (Zhang *et al.*, 2009). En el café, la acrilamida es formada al inicio del tostado, alcanzando una concentración superior a 7 mg/kg, para posteriormente, disminuir su contenido al final del proceso. El incremento de la intensidad del tostado provoca una disminución en la concentración de la acrilamida. Pese a que un tostado profundo es una opción potencial para disminuir la acrilamida, puede generar compuestos indeseables e impactar negativamente las características sensoriales del producto final (Stadler y Scholz, 2004; Summa *et al.*, 2007). Lantz *et al.*, (2006) reportó que los factores principales que afectan

el nivel de acrilamida en el café tostado son la variedad, el tiempo e intensidad del proceso de tostado y las condiciones y tiempo de almacenamiento.

2.5 Estrategias utilizadas para reducir el contenido de acrilamida en los alimentos

La formación de acrilamida es afectada por múltiples factores. Comparada con sistemas modelo, la producción de acrilamida en los alimentos se origina a partir de diferentes procesos térmicos, tales como el freído, horneado y tostado. Lo anterior hace su formación más compleja, debido a que es necesario controlar simultáneamente el contenido de acrilamida al tiempo que se mantiene la calidad del alimento. Algunas propuestas para disminuir su contenido, basadas en el conocimiento previo de los factores que afectan a la reacción de Maillard, incluyen el uso de materia prima con bajo contenido de asparagina y azúcares, la reducción de los tiempos y temperaturas de procesado, el contenido de agua, la disminución del pH y la fermentación (Zhang *et al.*, 2009). El uso de aditivos es una opción efectiva para disminuir la formación de la acrilamida e involucran el uso de asparaginasa, además de la adición de cationes, antioxidantes, proteínas y aminoácidos. No obstante, el uso de estos aditivos debe cumplir las siguientes condiciones: la cantidad adicionada debe ser controlada de acuerdo a la normatividad vigente, la no toxicidad de los aditivos seleccionados debe ser demostrada por pruebas reportadas en publicaciones previas y los aditivos usados no deben afectar las características inherentes y sensoriales de los alimentos procesados (Zhang y Zhang, 2007; Friedman y Levine, 2008; Zhang *et al.*, 2009).

2.5.1 Control de precursores (asparagina y azúcares reductores)

El contenido de precursores como la asparagina, la glucosa y la fructosa tiene un rol importante en la generación de acrilamida, por lo tanto, su control puede ser una opción eficiente para disminuir la formación de ésta. En la papa y los cereales, el contenido de precursores depende de las condiciones de cultivo (condiciones de almacenamiento de las semillas, fertilización, aplicación de pesticidas/herbicidas, tiempo de cosecha) y del tipo de cultivar (Taeymans *et al.*, 2004). Olsson *et al.*, (2004) y Claus *et al.*, (2006) reportaron que el año de cosecha tiene un impacto crucial en el contenido de asparagina de la papa y

cultivares de trigo y centeno. Por otra parte, las condiciones climáticas desfavorables pueden causar el germinado de los granos, y como consecuencia, el incremento, casi al doble, en la actividad de las proteasas, lo que resulta en niveles de asparagina significativamente mayores en harinas preparadas a base de granos germinados, lo que provoca que el contenido de acrilamida en panes elaborados con tales harinas se incremente (Claus *et al.*, 2008). Vivanti *et al.*, (2006) determinaron la concentración de asparagina, fructosa y glucosa en 9 cultivares de papa vendidas en Italia y 22 cultivares vendidos en Estados Unidos, y encontraron una variación significativa de estos parámetros en los cultivares estudiados. Amrein *et al.*, (2003) reportaron que la formación de acrilamida en 74 cultivares de papa estaba relacionada con sus contenidos de fructosa y glucosa. Estudios relacionados mostraron que el contenido de acrilamida depende de los niveles de glucosa y fructosa en la papa (Chuda *et al.*, 2003). Tomando en consideración las condiciones de almacenamiento, los niveles de acrilamida en las papas fritas preparadas a partir de tubérculos almacenados a baja temperatura ($<10^{\circ}\text{C}$) es mucho más alta que la mostrada a una mayor temperatura ($>10^{\circ}\text{C}$) (Jackson *et al.*, 2005).

2.5.2 Optimización de los métodos de procesamiento

El control de los parámetros de procesamiento tales como el pre-tratamiento aplicado a la materia prima, el tipo de aceite, el tratamiento térmico aplicado, entre otros, puede disminuir el contenido de acrilamida.

Diversos estudios indican que no existe una relación lineal entre el contenido de acrilamida y la temperatura de procesamiento, sin embargo, la concentración de acrilamida sí se incrementa con el tiempo de procesamiento (Mottram *et al.*, 2002). May *et al.*, (2006) evaluaron diferentes opciones para reducir la formación de la acrilamida en productos elaborados a base de papa. Ellos encontraron que: a) la velocidad de formación de la acrilamida es función de la temperatura en el rango de 140 a 180°C , y se incrementa linealmente con un punto de inflexión a $\approx 165^{\circ}\text{C}$; b) el escaldado de las tiras de papa cruda en agua a 95°C durante varios tiempos (1-8 min) resultó en una reducción exponencial en el contenido de azúcares reductores-azúcares totales; c) las papas almacenadas por 60 días a 4°C mostraron un nivel mayor de azúcares que las almacenadas a 20°C ; d) la temperatura

de freído tiene una gran influencia en la formación de acrilamida a bajas temperaturas (< 160°C); d) el tiempo e freído tiene una influencia mayor a temperaturas elevadas (> 170°C); e) un freído superficial induce una mayor formación de acrilamida. Mestdagh *et al.*, (2005) reportaron que el aceite vegetal utilizado para el freído de papas a la francesa no influye en la formación de acrilamida, no obstante, el aceite de palma induce una mayor formación de acrilamida que otros aceites para freír debido a que favorece una mayor transferencia de calor (Gertz y Klostermann, 2002). Aunque los lípidos oxidados pueden servir como precursores de la acrilamida, no se observaron diferencias significativas en la formación de acrilamida de papas a la francesa que pudieran ser relacionadas con la oxidación o hidrólisis de los aceites para freír utilizados (Ehling *et al.*, 2005; Mestdagh *et al.*, 2007). La oxidación de los lípidos durante el freído de las papas no resulta en un incremento de la concentración de acrilamida (Lindsay y Jang, 2005).

La selección apropiada de las temperaturas de procesamiento y el uso de tiempos cortos disminuye la formación de la acrilamida. Palazoglu y Gökmen, (2008) reportaron que el nivel de acrilamida en papas a la francesa puede ser disminuido a la mitad si en la última etapa del freído se utiliza una baja temperatura para el aceite. Trabajos similares en pan realizados por Claus *et al.*, (2007) mostraron que panes horneados a 200°C por 70 min y 240°C por 50 min fueron casi idénticos en sabor, color y aroma, sin embargo la formación de acrilamida fue mucho mayor en los panes procesados a una mayor temperatura y menor tiempo (124.1 µg/kg vs 92.4 µg/kg). Resultados similares fueron reportados por Vass *et al.*, (2004), Taeymans *et al.*, (2004) y Haase *et al.*, (2003). No obstante, debido a que la formación de color y sabor están estrechamente ligados a la reacción de Maillard, un cambio en los perfiles de temperatura y tiempo durante el procesamiento puede provocar un oscurecimiento insuficiente, que conduciría a la obtención de alimentos con características diferentes que requerirán la adición de colorantes o saborizantes (Zhang y Zhang, 2007b).

Yuan *et al.*, (2007) estudiaron el efecto de las microondas y demostraron que los niveles de acrilamida se incrementan dramáticamente en papas fritas tratadas con microondas en comparación a las freídas tradicionalmente. Zhang *et al.*, (2008) investigaron y compararon

la formación de acrilamida en modelos asparagina-azúcar calentados por microondas, y concluyeron que el calentamiento a partir de microondas provee un medio favorable para la formación de grandes cantidades de acrilamida. En contraste, el freído en microondas puede ser una alternativa para la producción de bajas cantidades de acrilamida si el tiempo de freído es muy corto (Sahin *et al.*, 2007).

El freído a vacío es otra opción para la reducción de la acrilamida. Granda *et al.*, (2004), reportaron que el freído al vacío de diferentes cultivares de papa disminuye la formación de acrilamida en un 94% comparado al freído tradicional. Adicionalmente, Claus *et al.*, (2007) estudiaron las diferencias entre hornos de convección y tradicionales utilizando pan de trigo procesado a 220 y 269°C por 60 minutos, y observaron un impacto significativo en el tipo de horno sobre el contenido de acrilamida. A 220°C los niveles de acrilamida se incrementaron en un 60% (109.6 µg/kg en el pan preparado en horno tradicional y 173.9 µg/kg en pan preparado en horno de convección), mientras que a 260°C el incremento fue de 35%.

Además de la temperatura y el equipo utilizado para la producción de alimentos, algunos pre-tratamientos como la fermentación y el escaldado también influyen en la formación de acrilamida. Claus *et al.*, (2007); Fredriksson *et al.*, (2004) y Linday y Jang, (2005) demostraron que el tiempo de fermentación de la masa para preparar pan tiene un fuerte impacto en los niveles de acrilamida. En estos estudios, una levadura fermentadora consumió grandes cantidades de asparagina. Una disminución del 60% (Claus *et al.*, 2007) y del 90% (Fredriksson *et al.*, 2004) de asparagina fue reportada y como consecuencia también disminuyó la acrilamida formada en los panes preparados. Fredriksson *et al.*, (2004) concluyeron que prolongar el tiempo de fermentación de la masa por al menos una hora es suficiente para reducir la acrilamida en la producción de pan.

Los pre-tratamientos como el escaldado y la inmersión resultan en una reducción significativa de la formación acrilamida en las papas. Diversos estudios mostraron que la inmersión de las papas en una solución de ácido acético por 60 minutos a 20°C antes del freído resulta en una reducción de 90% del contenido de acrilamida debido a la pérdida de aminoácidos y azúcares que participan en su formación, además de la reducción en el pH

(Kita *et al.*, 2004). Pedreschi *et al.*, (2007) observaron que: a) la inmersión de tiras de papa en una solución de agua destilada y ácido cítrico disminuye la formación de acrilamida después del freído; b) el escaldado a 50°C por 80 minutos o 70°C por 45 minutos resultó en niveles de acrilamida mínimos; c) el escaldado removió mas glucosa y asparagina de la papa que la inmersión en agua; d) la formación de acrilamida disminuyó con la reducción de la temperatura de freído de 190 a 150°C para todos los pretratamientos evaluados y; e) se encontró una relación lineal entre el color y los niveles de acrilamida en papas a la francesa.

2.5.3 Adición de modificadores del pH

Varios estudios han demostrado que la modificación del pH es una manera efectiva para reducir los niveles de acrilamida en los alimentos y sistemas modelo (Jung *et al.*, 2003; Rydberg *et al.*, 2003; Cook y Taylor, 2005; Pedreschi *et al.*, 2006). La concentración de acrilamida puede reducirse disminuyendo el pH del alimento. Tal efecto se atribuye a la protonación del grupo α -amino de la asparagina, el cual subsecuentemente no puede unirse en una reacción de adición nucleofílica con un grupo carbonilo (Jung *et al.*, 2003) y a la hidrólisis catalizada por ácido de la asparagina a ácido aspártico y de la acrilamida a ácido acrílico. Rydberg *et al.*, (2003) mostraron que la reducción por acidificación del pH interno de 5.72 a 2.96 en papa resultó en una disminución del 70% de acrilamida, además, presentaron que la dependencia del pH en el contenido de acrilamida alcanzó un máximo a un pH cercano a 8. Se ha reportado que la adición de ácidos láctico, cítrico, tartárico, clorhídrico, fosfórico, fumárico, sórbico, benzoico, propiónico y acético inducen una reducción significativa de acrilamida en papas fritas y a la francesa, botanas de maíz, pan y galletas (Jung *et al.*, 2003; Kita *et al.*, 2004; Cook y Taylor, 2005; Levine y Smith, 2005; Park *et al.*, 2005; Graf *et al.*, 2006; Low *et al.*, 2006).

2.5.4 Adición de asparaginasa

La adición de una enzima como la asparaginasa representa otra estrategia para la reducción de la formación acrilamida. Como sucede en un medio ácido, esta enzima hidroliza la asparagina a ácido aspártico, inhibiendo la generación de acrilamida en la

reacción de Maillard (Claus *et al.*, 2008). Cuando la enzima se agregó a galletas de trigo, los niveles de acrilamida se redujeron casi un 70% sin que se observaran cambios en el color o el sabor de los productos (Vass *et al.*, 2004). Teras *et al.*, (2004) reportaron una reducción arriba del 90% de asparagina en alimentos a base de maíz, sin embargo, no mostraron detalles con respecto a los niveles de acrilamida obtenidos. Así mismo, Weisshaar, (2004) mostró que el tratamiento de harina de papa, trigo y centeno con asparaginasa resultó en una hidrólisis del 96% de la asparagina a ácido aspártico en la masa formada, así como una disminución de los niveles de acrilamida en alimentos horneados. Recientemente, Kumar *et al.*,(2013) reportaron una reducción del 97 y 71 %, en la corteza y migaja de panes adicionados con 300 U de asparaginasa. No se observaron cambios en las propiedades reológicas de la harina y en las características sensoriales del pan de trigo elaborado.

2.5.5 Adición de carbonato hidrógenos

Se encuentra reportado que el bicarbonato de amonio (NH_4HCO_3) aumenta significativamente la generación de acrilamida en panes de jengibre y galletas (Amrein *et al.*, 2004; Taeymans *et al.*, 2004; Vass *et al.*, 2004; Weisshaar, 2004; Graf *et al.*, 2006). En todos los productos anteriores, la generación de acrilamida fue reducida aproximadamente en un 70 % cuando se utilizó NaHCO_3 en vez de NH_4HCO_3 . El KHCO_3 tiene un efecto inhibitorio similar pero menos pronunciado al mostrado por el NaHCO_3 (Zhang y Zhang, 2007). Amrein *et al.*, (2006) explicaron que el ion amonio liberado forma especies más reactivas con la asparagina, las cuales favorecen la generación de la acrilamida.

2.5.6 Adición de agentes antioxidantes

Varios estudios han demostrado efectos positivos y negativos en la formación de acrilamida por la adición de antioxidantes. Tareke, (2003) encontró que la adición de antioxidantes como BHT, sesamol y vitamina E a la carne antes de su calentamiento aumentaron la formación de acrilamida, probablemente por la protección a la acrilamida de reacciones iniciadas por radicales libres. Mientras tanto, se encontró una disminución en la formación de acrilamida cuando se agregó un extracto de romero al aceite utilizado para

freír rebanadas de papa (Taeymans *et al.*, 2004). También se ha reportado una baja concentración de acrilamida después de la adición de una mezcla de flavonoides (Flavomare[®]) (Fernández *et al.*, 2003). Biedermann *et al.*, (2002) mostraron una débil reducción en la formación de acrilamida cuando agregaron ácido ascórbico a un sistema modelo de papa. Resultados similares fueron presentados por Levine y Smith, (2005) cuando utilizaron ascorbato como aditivo en un sistema modelo de galletas. El aceite de oliva virgen, el cual tiene una alta concentración de compuestos difenólicos es capaz de inhibir la formación de acrilamida en papas fritas en condiciones moderadas de freído (Napolitano *et al.*, 2008). Por otra parte, antioxidantes aislados de hojas de bambú, los cuales contienen flavonoides, ácidos fenólicos y lactonas fueron aprobados para disminuir la formación de acrilamida en productos derivados de papa, alitas de pollo y palitos de pan fritos (Zhang *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2007c; Zhang *et al.*, 2007d). Rydberg *et al.*, (2003) reportaron que antioxidantes presentes en arándano y orégano no tuvieron un efecto protector en la formación de acrilamida en las papas horneadas. El contraste entre los reportes mencionados anteriormente se debe a la capacidad de los diversos antioxidantes (con estructuras químicas o grupos funcionales diferentes) para reaccionar con los precursores, intermediarios o con la acrilamida misma, dando lugar a efectos reductores o promotores en la formación de ésta.

2.5.7 Adición de iones metálicos

La adición de iones monovalentes y divalentes representa otra estrategia para reducir la formación de acrilamida. Estudios de Lindsay y Jang, (2005b) mostraron que el tratamiento de rebanadas de papa con un complejo CaCl_2 – fitato, así como con FeCl_3 puede minimizar la formación de acrilamida durante el freído. Estos autores sugieren que las asociaciones iónicas con la asparagina suprimen las primeras etapas de la reacción de Maillard. En estudios complementarios se encontró que la adición de 1% de NaCl redujo significativamente la formación de acrilamida en sistemas modelo de asparagina/glucosa (Kolek *et al.*, 2006). Además, la inmersión de papas en una solución de CaCl_2 inhibe un 95% de la formación de acrilamida durante el freído. Así mismo, la adición de CaCl_2 y NaCl previnieron la formación de acrilamida durante el calentamiento de una solución

asparagina/fructosa completa y parcialmente, respectivamente (Gökmen y Senyuva, 2007; Gökmen y Senyuva, 2007b). Mestdagh *et al.*, (2008) indicaron que diversos ácidos orgánicos, el NaCl y el ion calcio disminuyen la absorción de aceite, lo cual puede reducir la transferencia de calor y la formación de acrilamida.

Otro estudio sugiere que la eliminación de la acrilamida, posiblemente a través de su polimerización, se incrementa con la presencia de la sal de mesa (Gökmen y Senyuva, 2007b). Friedman y Levine, (2008) encontraron que la fuerza iónica inducida por iones Na^+ afectan la velocidad de reacciones de adición de grupos amino de aminoácidos al doble enlace de compuestos vinílicos conjugados tales como la acrilamida. Por otra parte, la adición de cationes como Ca^{2+} o Mg^{2+} a la masa antes del horneado de pan mostró un efecto notable en el contenido de acrilamida de los productos. Elder *et al.*, (2004) reportaron una disminución de casi el 20% cuando estos iones fueron aplicados y una disminución arriba del 50% cuando se utilizaron en condiciones ligeramente acidas (pH 5.5). Efectos similares fueron reportados para pan y galletas, donde el ion Ca^{2+} causó una reducción del 30% (CIAA, 2006; Elder, 2005). Los productos resultantes mostraron un oscurecimiento adecuado, lo que sugiere que la formación de color durante la reacción de Maillard no fue afectada.

El descenso en la concentración de acrilamida por parte de iones divalentes como el Ca^{2+} se debe a que inhiben la formación de la base de Schiff, un intermediario clave en la formación de acrilamida (Açar *et al.*, 2012). Elder, (2005) sugirió el uso de cationes como calcio, magnesio, aluminio, fierro, cobre y zinc como una opción económica para reducir la formación de acrilamida en los alimentos. Algunas sales recomendadas por este autor incluyen cloruros, citratos, lactatos, óxidos, hidróxidos, gluconatos y sulfatos de calcio, magnesio, aluminio, fierro y zinc, entre otros.

2.5.8 Adición de proteínas o aminoácidos

El impacto de varios aminoácidos en la formación y eliminación de la acrilamida ha sido evaluado en varios estudios. Rydberg *et al.*, (2003) evaluaron la influencia de los parámetros de procesamiento y la incorporación de aditivos en el contenido de acrilamida

de papas horneadas a 180°C por 25 minutos. La adición de aminoácidos diferentes a la asparagina redujo notablemente los niveles de acrilamida. La adición de 140 mmol/kg de glutamina indujo una disminución del 70% de la acrilamida formada comparado con los controles. Los valores correspondientes para otros aminoácidos fueron: alanina, 50%; ácido aminobutírico, 86%; lisina, 88%; glicina, 91%. Por el contrario, la adición de asparagina incrementó la formación de acrilamida en un 290%. Kim *et al.*, (2005) encontraron que la adición de lisina, glicina y cisteína reducían significativamente los niveles de acrilamida en un sistema acuoso. Igualmente, la adición de lisina y glicina es una forma efectiva de inhibir la formación de acrilamida en botanas de harina de trigo. Además, los mismos autores reportaron que la adición de 0.5% de glicina a pellets redujo la concentración de acrilamida en un 70% en botanas a base de papa y la inmersión de rebanadas de papa en soluciones de glicina o lisina por 1.5 minutos redujeron los niveles de acrilamida en papas fritas a 185°C.

Un estudio realizado por Claeys *et al.*, (2005) mostró que la adición de cisteína o lisina a un sistema modelo asparagina/glucosa calentado entre 140 y 200°C reducía significativamente la producción de acrilamida, mientras que la glutamina promovía su formación. De la misma forma, Braten *et al.*, (2005) aplicaron glicina a la masa antes de su fermentación y elaboraron pan y arepas de la forma tradicional, logrando una reducción del 80% y del 90% del contenido de acrilamida en las arepas y el pan respectivamente. En otro estudio, la superficie de la masa fue rociada con una solución de glicina antes del horneado. Después de una aplicación, no se observó un efecto en la formación de acrilamida, mientras que el rociado repetido por 8 veces resultó en una reducción del 16% (Fink *et al.*, 2006). Claus *et al.*, (2007) observaron una disminución cercana al 50% de acrilamida cuando se adicionó cisteína a la masa para preparar pan antes de su fermentación mientras que la aplicación de cisteína a la superficie del pan antes y después del panificado no mostro ningún efecto, probablemente debido a la limitada movilidad de la cisteína en la superficie seca del pan.

Los mecanismos por los cuales algunos aminoácidos reducen la concentración de acrilamida encontrada en los alimentos no son del todo conocidos. Sin embargo, algunos

posibles mecanismos pueden ser relacionados a la competencia con la asparagina para reaccionar con los azúcares reductores presentes, la inhibición de la reacción de Maillard y a la reacción con la acrilamida formada (Elder, 2005). La cisteína con un grupo sulfuro libre, puede inhibir la reacción de Maillard. Debido a que la acrilamida es formada a partir de esta reacción, la adición de cisteína debe reducir la velocidad de la reacción de Maillard y la formación de acrilamida. De igual manera, la lisina y glicina reaccionan rápidamente con la glucosa y otros azúcares reductores. Si los azúcares son consumidos por estos aminoácidos, entonces habrá menos glucosa para reaccionar con la asparagina para formar la acrilamida. El grupo amino de los aminoácidos puede reaccionar con el doble enlace de la acrilamida a través de una reacción de adición. De igual forma pueden hacerlo los grupos sulfuro de los aminoácidos como la cisteína y metionina (Friedman, 1994, Friedman y Levine, 2008, Zamora *et al.*, 2010).

Los mecanismos de reacción similares a las propiedades de inhibición de algunos aminoácidos pueden ser responsables de los efectos en la disminución de del contenido de acrilamida observados en proteínas y péptidos. Se ha reportado que la adición de carne picada de pescado, cuya composición es rica en proteínas, y proteínas de legumbres como el garbanzo a papas antes de ser freídas reducen significativamente los niveles de acrilamida (Rydberg *et al.*, 2003; Vatterm y Shetty, 2005). Varias pruebas realizadas en modelos con galletas (Levine y Smith, 2005) mostraron una reducción del 50% en la acrilamida formada cuando se incluyó caseína en la formulación y una ligera disminución cuando se utilizó gluten de trigo. Cook y Taylor, (2005) observaron que la adición de proteína de soya hidrolizada a hojuelas de papa reducía la formación de acrilamida.

Debido a que las proteínas contienen en su estructura grupos nucleofílicos SH- y NH₂- de las cadenas laterales de los aminoácidos, pueden formar aductos estables con la acrilamida similares a los formados con aminoácidos como la cisteína (Claus *et al.*, 2008).

La proteína de amaranto se propone como otra opción para reducir la formación de acrilamida a través de la introducción de aminoácidos adicionales capaces de competir con la asparagina por intermediarios claves en la reacción. Diferentes reportes sobre el perfil de aminoácidos de la proteína de amaranto (Bressani y García, 1990; Barba de la Rosa *et al.*,

1992; Tamer *et al.*, 2005) señalan la ausencia de asparagina, además de un alto contenido de lisina. Lo anterior hace a la proteína de amaranto adecuada para su uso en la reducción de este compuesto tóxico.

2.6 Alimentos a base de maíz nixtamalizado

2.6.1 El maíz

El maíz (*Zea mays*) es un cereal nativo de América cultivado desde hace 5000 años, cuyo centro original de domesticación fue Mesoamérica desde donde se difundió hacia todo el continente. El verdadero antecesor del maíz es desconocido, pero comparte cosas en común con la especie teosintle (*Zea mexicana*). El maíz es cultivado en todo el mundo, siendo los principales productores Estados Unidos, China y Brasil (Morris y Bryce, 2000). Según datos de la FAO, (2006) es el principal cultivo agrícola a nivel mundial, con 724,515 millones de toneladas, superando a lo producido por los cultivos de trigo y arroz (629,873 millones y 608,368 millones de toneladas, respectivamente). México aportó 22 millones de toneladas en ese año agrícola, cantidad por debajo de la producida por Estados Unidos, China y Brasil.

En la República Mexicana se cultiva casi en todos los estados, sobresaliendo por área cultivada Jalisco, Estado de México, Veracruz, Puebla, Tamaulipas, Chiapas, Michoacán, Zacatecas, Oaxaca y Guerrero, los cuales aportan en conjunto entre el 75 y 80% de la producción total del país. El promedio nacional durante 2011 fue de 22 millones de toneladas, cosechadas en una superficie de 7.4 millones de hectáreas (SAGARPA, 2011). En los últimos 50 años se han modificado significativamente las prácticas de cultivo utilizadas en el maíz, destacando la mecanización, el uso de variedades mejoradas y de agro-químicos, además del uso de alta tecnología para incrementar los rendimientos por área.

Existen varias subespecies de maíz con diferentes usos en la agricultura entre los que sobresalen la variedad *saccharata* (maíz dulce), *everta* (maíz reventador o palomero), *indurata* (maíz cristalino), *amilácea* (maíz amiláceo), *tunicata* (maíz tunicado), *cerea* (maíz ceroso) (Paliwal *et al.*, 2001).

El maíz es el cereal que más importancia ha tenido en varios sectores de la economía a escala mundial durante el siglo XX y en los inicios del XXI. En los países industrializados, el maíz se utiliza principalmente como forraje, materia prima para la producción de alimentos procesados y, recientemente, para la producción de etanol. Por el contrario, en algunos países de América Latina y cada vez más en países africanos, un gran porcentaje del maíz que se produce o importa se destina al consumo humano. En este sentido, el maíz ha sido y sigue siendo un factor de sobrevivencia para los campesinos e indígenas que habitan en la mayoría de los países del continente americano.

El grano maduro del maíz se puede separar fácilmente en 4 partes: pericarpio, endospermo, germen y pedicelo (conocido también como *tip cap*), cuya composición química varía de acuerdo a las condiciones climatológicas, la variedad y la zona geográfica de cultivo (Watson y Ramstad, 1999).

2.6.2 La nixtamalización

Del náhuatl *nixtli*, cenizas, y *tamalli*, masa, el proceso de la nixtamalización se ha transmitido de generación en generación en Mesoamérica, y todavía se utiliza como en tiempos prehispánicos. El proceso consiste en un procesamiento alcalino del grano de maíz en agua en ebullición durante 30 a 40 minutos, con una proporción de agua a maíz de aproximadamente 2:1. Antes de procesarse, se añade 1-2% en peso de cal como una fracción del peso del maíz. Después de este paso de cocimiento, el maíz cocido se deja en el agua por un periodo de 12 a 18 horas. Una vez que el maíz hidratado es separado del exceso de agua recibe el nombre de nixtamal, mientras que el líquido de cocimiento rico en sólidos es llamado nejayote, y está conformado por el agua residual que debe ser desechada. El nixtamal se lava para retirar el pericarpio solubilizado y la cal en exceso. Posteriormente, se muele (en ocasiones con un molino de piedras) con la adición de pequeños volúmenes de agua. Después de la molienda, la masa resultante se puede moldear para formar las tortillas, las cuales posteriormente se cuecen (Figuroa *et al.*, 2003).

La nixtamalización tiene varias ventajas: facilita la remoción del pericarpio, controla la actividad microbiana, mejora la absorción de agua, incrementa la gelatinización de los

gránulos de almidón y mejora el valor nutricional al aumentar la biodisponibilidad de la niacina. El remojo en agua de cal distribuye la humedad y la cal en todo el grano lo cual proporciona el sabor característico de los productos a base de maíz nixtamalizado (Paredes-López y Saharópulus- Paredes, 1983; Serna-Saldivar *et al.*, 1988).

La tortilla de maíz es el alimento más importante de México y de algunos países centroamericanos. Además su consumo se encuentra en aumento en los Estados Unidos. Las tortillas de maíz son consideradas la principal fuente de proteínas y de calorías para los grupos sociales de bajo nivel económico. La masa y la tortilla son los ingredientes básicos en la producción de una variedad de platillos tradicionales como botanas, frituras de tortilla de maíz (totopos), tacos, tostadas, enchiladas, tamales, burritos y nachos. En México, bajo diversas formas de consumo, la tortilla es parte de la dieta de todos los niveles sociales, con un consumo anual per cápita de hasta 120 kg. En áreas rurales, las tortillas de maíz aportan aproximadamente el 70 % del total de ingesta de calorías (Bressani, 1990; Figueroa *et al.*, 2003).

2.6.3 Botanas elaboradas a partir de la tortilla de maíz

El uso del maíz para preparar botanas se ha incrementado rápidamente en los Estados Unidos. Una situación similar está ocurriendo en otros países desarrollados debido a la disponibilidad, viabilidad, diversidad de productos nixtamalizados y al costo accesible del maíz. Botanas elaboradas a partir del maíz son vendidas como productos al detalle y son ofrecidas en restaurantes, charcuterías, parques de diversiones, tiendas de abarrotes etc. Estos productos son relativamente más baratos y fáciles de procesar que las papas fritas (Lusas y Rooney, 2001).

La mayoría de las botanas elaboradas a partir de maíz son consumidas en su forma frita, sin embargo, las botanas horneadas u horneadas/freídas son vendidas en el segmento de botanas saludables. Los productos más populares, chips de tortilla y chips de maíz, ambos conocidos como frituras en México, son elaboradas a partir del grano nixtamalizado. Para las frituras a base de masa de maíz, la masa es cortada en varias formas y frita u horneadas directamente. En contraste, las frituras a base de tortilla son hechas a partir de tortilla

previamente elaborada con el objetivo de reducir su contenido de humedad, lo que provoca que absorban una menor cantidad de aceite y tengan una textura más firme al finalizar el freído (Kawas y Moreira, 2001). El freído de las frituras se lleva a cabo a una temperatura de 180-200°C con un tiempo de residencia de 50-80 segundos, mientras que el horneado se realiza a una temperatura de 250-480°C con un tiempo de residencia de 35-50 segundos. Las condiciones de elaboración antes mencionadas favorecen la formación de grandes cantidades de acrilamida (Elder, 2005).

Por lo anteriormente señalado, el objetivo general de esta investigación fue estudiar y cuantificar la formación de acrilamida en botanas a base de tortilla de maíz, con la finalidad de establecer metodologías que permitan su reducción a partir de modificaciones en los procesos de elaboración.

3. Justificación

La alimentación de los mexicanos en las grandes ciudades y en las zonas rurales está basada en el consumo de maíz. De este grano se obtienen diversos subproductos como tortillas, tostadas, botanas, pozol, entre otros, los cuales al procesarse son sometidos a altas temperaturas que junto a su composición rica en carbohidratos favorecen la formación de compuestos que proporcionan características sensoriales deseables, entre los que se destacan el color y el aroma. Sin embargo, también se generan compuestos tóxicos como la acrilamida, cuyos efectos adversos en la salud han sido ampliamente reportados.

A pesar del elevado consumo de alimentos a base maíz nixtamalizado en nuestro país, no se ha realizado ningún estudio que cuantifique el contenido de acrilamida en dichos productos y lo relacione con los procesos de elaboración utilizados para su fabricación. Así mismo, si se considera que, a la par de los productos de maíz, la población consume también diversos alimentos ricos en almidón, azúcares reductores y asparagina como pan, galletas, papas fritas y café en los cuales se ha reportado la presencia de acrilamida en cantidades elevadas, se considera que existe la posibilidad de que parte de la población consuma cantidades superiores a los límites recomendados por la Organización Mundial de Salud (OMS) para la ingesta de acrilamida.

Debido al riesgo que el consumo de acrilamida implica en la salud del consumidor, es necesario el desarrollo de alternativas de producción que permitan la reducción de dicho compuesto, especialmente en aquellos alimentos consumidos por un amplio sector de la población.

4. Objetivos

4.1 Objetivo general

Cuantificar la formación de acrilamida en botanas a base de tortilla y estudiar metodologías que permitan su reducción a partir de modificaciones en los procesos de elaboración.

4.2 Objetivos particulares

- Determinar la influencia de un extracto oleoso de chile piquín en la formación de acrilamida en frituras de tortilla y papa; para comparar la capacidad del extracto oleoso en la reducción de los niveles de acrilamida en diferentes matrices alimentarias.
- Evaluar la formación de acrilamida en botanas a base de tortilla elaboradas de tortilla frita u horneada y galletas adicionadas con amaranto; para comparar la capacidad del amaranto en la reducción de los niveles de acrilamida en diferentes matrices alimentarias.
- Evaluar el efecto de la nixtamalización en la formación de acrilamida en frituras elaboradas a base de tortilla.
- Evaluar la influencia de la adición de cationes (CaCl_2 y MgCl_2) a la masa en la formación de acrilamida en frituras elaboradas a base de tortilla.
- Evaluar el efecto de la actividad de agua en la tortilla y su relación con la formación de acrilamida después del freído.

5. Materiales y Métodos

5.1 Materiales

Acrilamida [2,3,3-²H₃] deuterada se obtuvo de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) y acrilamida marcada [1,2,3-¹³C₃] se adquirió de Cambridge Isotope Laboratories, Inc. (Andover, MA). Todos los demás reactivos se adquirieron en Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) o Merk (Darmstadt, Germany) y fueron grado analítico.

Las semillas de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*) se cultivaron en la Estación Experimental del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP), Chapingo, México.

El chile piquín (*C. annum* L. var. *Aviculare*), papa (*Solanum tuberosum* L. var. Mona Lisa), aceite de soya, harina de trigo, sal, bicarbonato de sodio y el azúcar se compraron en supermercados de la localidad.

5.2 Elaboración de la harina de maíz nixtamalizado

La harina de maíz nixtamalizado se preparó con maíz comercial Pioneer 30P16, y cal comercial (Ca(OH)₂) (El Topo, Monterrey, N.L. México). La harina se preparó cociendo 8 kg de maíz en una solución de 16 litros de agua y 40, 80, 120 y 160 g de hidróxido de calcio, que corresponden al 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 % de hidróxido de calcio con respecto al peso de maíz utilizado, respectivamente. El maíz se hirvió en una cacerola de aluminio por 25 min y se reposó 16 h a temperatura ambiente. El nejayote se removió y el maíz cocido se lavó con 16 litros de agua. Posteriormente, para obtener la masa, el nixtamal se molió en un molino de piedras (FUMASA, M100, Querétaro, México). La masa obtenida se deshidrató usando un secador tipo flash (CINVESTAV-AV, M2000, Querétaro, México). Las condiciones del secador se ajustaron para tener una temperatura de entrada de 250°C y una temperatura del aire de salida de 90°C. Antes de su almacenamiento, la harina de maíz nixtamalizado se molió nuevamente utilizando un molino de martillos (PULVEX 200, México DF, México) equipado con una malla de 0.5 mm.

5.3 Efecto de un extracto oleoso de chile piquín en la formación de acrilamida en frituras de papa y tortilla

5.3.1 Preparación del extracto oleoso de chile piquín

Las semillas de chile piquín se molieron en un molino para café (Taurus, modelo Aromatic). El chile piquín molido se mezcló con el aceite de soya en una proporción 1:2 (p/p) en un recipiente color ámbar y se mantuvo por 48 h para obtener el extracto oleoso. Posteriormente, el extracto se decantó, filtró y se almacenó con nitrógeno y se protegió de la luz a -20°C hasta su uso.

5.3.2 Efecto de un extracto oleoso de chile piquín en la formación de acrilamida en sistemas modelo asparagina/glucosa

Las reacciones se llevaron a cabo de manera análoga al método reportado por Granvogl y Schieberle, (2006), con las modificaciones descritas por Zamora e Hidalgo, (2008). En resumen, mezclas de asparagina y glucosa (37.5 μmol) se homogenizaron con gel de sílice 60 de 0.063-0.200 mm (300 mg), en presencia del extracto oleoso de chile piquín (0-500 μL), tetrahidrofurano (1mL), agua (150 μL) y buffer de fosfato sodio pH 6 (30 μL). Para que los diferentes sistemas fueran comparables, cuando se agregó menos de 500 μL de extracto, este volumen se completó con aceite de soya.

Las mezclas se calentaron en tubos Schott Duran (10 x 1.5 cm) y en atmósfera de nitrógeno controlada a 180°C durante 10 minutos. El pH de la reacción se mantuvo durante el calentamiento. Tras enfriar los tubos durante 15 minutos a -20°C, se les añadió 10 μL de solución de estándar interno (1 mg/mL de [1,2,3-¹³C₃]acrilamida marcada en metanol) y 2 mL de buffer de citrato de sodio 0.3 M, pH 2.2. Las suspensiones se agitaron durante 1 minuto, y se filtró el sobrenadante para determinar el contenido de acrilamida.

5.3.3 Efecto de la oxidación del extracto oleoso de chile piquín en la formación de acrilamida en sistemas modelo asparagina/glucosa

El efecto de la oxidación del extracto oleoso de chile piquín se estudió utilizando sistemas modelo similares a los descritos en la sección anterior, sin embargo el extracto

oleoso se oxidó previamente antes de ser adicionado a la mezcla asparagina/glucosa. Se oxidaron dos grupos de muestras: el extracto oleoso de chile piquín y el aceite de soya, esta última se utilizó como control. Para llevar a cabo la oxidación, las muestras (30 g) se colocaron en cajas de petri de 90 x 20 mm a 60°C durante 10 días en un horno (Memmert, ULE 4100 con convección forzada). Se tomaron muestras a tiempos diferentes, se analizó su grado de oxidación y se adicionaron a los sistemas modelo asparagina/glucosa.

5.3.4 Análisis de peroxidación de lípidos

La peroxidación de lípidos en el extracto oleoso y en el aceite de soya se evaluó usando el ensayo de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) de forma análoga a Kosugi *et al.*, (1989) con las modificaciones descritas por Hidalgo *et al.*, (2005). En resumen, las muestras se diluyeron con agua (600 μ L) y se trataron con 1.1 mL de ácido acético (solución al 20 %, pH 3.5), 1.3 mL de ácido tiobarbitúrico (solución al 0.71 %), y 40 μ L de butilhidroxitolueno (BHT, 0.8 % en ácido acético). Las soluciones se calentaron a 100°C durante 60 min, posteriormente se enfriaron y se extrajeron con 3 mL de butanol. La capa orgánica se separó por centrifugación a 2000 g durante 10 min y los valores de TBARS se determinaron por fluorescencia utilizando $\lambda_{ex} = 535$ nm y una $\lambda_{em} = 550$ nm. Se utilizó un espectrofotómetro de fluorescencia Perkin-Elmer LS-5 (PerkinElmer Instruments, Shelton, CT, USA).

5.3.5 Efecto de un extracto oleoso de chile piquín en la formación de acrilamida en frituras de papa

Con el objetivo de comparar el efecto del extracto oleoso en las frituras de tortilla con sistemas alimentarios donde se reportan los mayores niveles de acrilamida, papas frescas se lavaron, pelaron, rebanaron y se cortaron en pequeños discos (1.5 mm de grosor y 2 cm de diámetro). Los discos de papa se remojaron por 1 min en agua destilada inmediatamente después de ser cortados, posteriormente se secaron con toallas de papel para eliminar el almidón adherido a la superficie. Los discos de papa se frieron por 5 y 8 min a 180°C en aceite de soya (control) y en el extracto oleoso obtenido a partir del aceite de soya. El freído durante 5 min fue el mejor tiempo para preparar las frituras de papa. El tiempo de freído de 8 min se ensayó para analizar el efecto de tiempos de freído prolongados en la formación de

acrilamida. Después del freído, las frituras de papa se enfriaron en toallas de papel para remover el aceite superficial para posteriormente determinar el color y el contenido de acrilamida.

5.3.6 Efecto de un extracto oleoso de chile piquín en la formación de acrilamida en frituras de tortilla

Para la elaboración de las frituras de tortilla, la harina de maíz nixtamalizado (1 % cal) se rehidrató con suficiente agua hasta obtener una masa con la consistencia adecuada para elaborar tortillas. La masa se formateó en discos delgados de 7 cm y 1.8 mm de grosor utilizando una prensa para elaborar tortillas. Las tortillas se cocieron en ambos lados por un minuto en un comal caliente (270 ± 10 °C). Las tortillas obtenidas se cortaron en piezas triangulares con un área promedio de 15 cm^2 . Posteriormente, las piezas de tortilla se frieron en el aceite de soya (control) o en el extracto oleoso de chile piquín por 2.30 y 3.15 min a 180 °C. El mejor tiempo de freído para preparar las frituras de tortilla fue de 2.30 min. Se utilizó un tiempo de freído de 3.15 min para analizar el efecto de tiempos de freído prolongados en el contenido de acrilamida. Después del freído, las frituras de tortilla se colocaron en papel absorbente para remover el aceite superficial y se enfriaron a temperatura ambiente, para posteriormente determinar el color y el contenido de acrilamida.

5.4 Efecto de la proteína de amaranto en la formación de acrilamida en alimentos

5.4.1 Preparación de la harina y el aislado proteico de amaranto

Los granos de amaranto se molieron en un molino de martillos (PULVEX 200, México DF, México) equipado con una malla de 0.5 mm. La harina obtenida se almacenó a 4 °C hasta su uso. El contenido de proteína determinado por el método micro-Kjendhal (AACC, 1995) fue de 16.45 ± 0.85 % (base seca).

El aislado de proteína se preparó de acuerdo a las recomendaciones señaladas por Martínez y Añon, (1996). En resumen, harina de amaranto se desgrasó con hexano en una suspensión al 10 % (w/v). El pH se ajustó a 11 mediante la adición de NaOH 2M. La suspensión se agitó durante 30 min y se centrifugó a 7000g por 20 min. El sobrenadante se

llevó a pH 5 con HCl 2 M y se centrifugó nuevamente por 20 min a 9000g a 4 °C. El precipitado obtenido se resuspendió en agua, se neutralizó con NaOH 0.1 M y se liofilizó. El contenido de proteína del aislado determinado por el método micro-Kjendhal (AACC, 1995) fue de 80.77 ± 1.12 % (base seca).

5.4.2 Efecto de la harina y el aislado proteico de amaranto en la formación de acrilamida en sistemas modelo asparagina/glucosa

Las reacciones se llevaron a cabo de manera análoga al método reportado por Granvogl y Schieberle (2006), con las modificaciones descritas por Zamora e Hidalgo (2008). En resumen, mezclas de asparagina y glucosa (37.5 μ mol) se homogenizaron con gel de sílice 60 de 0.063-0.200 mm (300 mg), en presencia harina de amaranto o aislado proteico de amaranto (0-55 mg), agua (150 μ L) y buffer de fosfato sodio pH 6 (30 μ L). Las mezclas se calentaron en tubos Schott Duran (10 x 1.5 cm) y en atmósfera de nitrógeno controlada a 190°C durante 10 minutos. El pH de la reacción se mantuvo durante el calentamiento. Tras enfriar los tubos durante 15 minutos a -20°C, se les añadió 10 μ L de solución de estándar interno (1 mg/mL de [1,2,3-¹³C₃]acrilamida marcada en metanol) y 2 mL de buffer de citrato de sodio 0.3 M, pH 2.2. Las suspensiones se agitaron durante 1 minuto, y se filtró el sobrenadante para determinar, el contenido de acrilamida.

5.4.3 Efecto de la harina y del aislado proteico de amaranto en la formación de acrilamida en galletas

Las galletas se prepararon utilizando la receta descrita por Gökmen *et al.*, (2007), con las modificaciones de Arribas-Lorenzo *et al.*, (2009). En resumen, las galletas se formularon con harina de trigo (72 g), sal (1 g), agua desionizada (17 g), aceite de soya (24 g), bicarbonato de sodio (1.2 g), y azúcar (35 g). Adicionalmente, se incluyeron 8 g de harina de trigo (control), harina de amaranto, o aislado proteico de amaranto. Los ingredientes se mezclaron totalmente y la masa obtenida se estiró con un palo de amasar y se cortó en discos con 2.5 cm de diámetro y 2 mm de grosor. Antes del horneado, se determinó el contenido de proteína, la a_w y el pH.

Para cada prueba, se prepararon 10 galletas y se hornearon a 190°C durante 7 y 9 min en un horno (Memmert, ULE 4100 con convección forzada, Tutlingen, Alemania). El mejor tiempo de horneado para preparar las galletas fue de 7 min. Se ensayó un tiempo de horneado de 9 min para analizar el efecto de tiempos de horneado prolongados en el contenido de acrilamida. Después del horneado se determinaron el color, la fuerza de fractura y el contenido de acrilamida.

5.4.4 Efecto de la harina y del aislado proteico de amaranto en la formación de acrilamida en tortilla horneada y frituras de tortilla

Para la elaboración de las frituras de tortilla, harina de maíz nixtamalizado (1 % cal) con la adición, o no (control), de 5 % (p/p) de harina de amaranto o aislado proteico de amaranto se rehidrató con suficiente agua hasta obtener una masa con la consistencia adecuada para elaborar tortillas. La masa se formateó en discos delgados de 11 cm y 1.0 mm de grosor utilizando una tortilladora de manual. Las tortillas se cocieron en ambos lados por un minuto en un comal caliente (270 ±10 °C). Las tortillas obtenidas se cortaron en piezas circulares con un área promedio de 10 cm². Posteriormente, las piezas de tortilla se frieron en aceite de soya por 30 y 45 s a 190°C. El mejor tiempo de freído para preparar las frituras de tortilla fue de 30 s. Se ensayó un tiempo de freído de 45 s para analizar el efecto de tiempos de freído prolongados en el contenido de acrilamida. Después del freído, las frituras de tortilla se colocaron en papel absorbente para remover el aceite superficial y se enfriaron a temperatura ambiente, para posteriormente determinar el color, la fuerza de fractura, el contenido de aceite y el contenido de acrilamida.

5.5 Efecto de la adición de cationes a la masa en la formación de acrilamida en frituras de tortilla

Para la elaboración de las frituras de tortilla, 100 g de harina de maíz nixtamalizada (1 % cal) se rehidrataron con 118 mL de soluciones de CaCl₂ o MgCl₂ con una concentración de 0.04, 0.08 ó 0.12 M hasta obtener una masa con la consistencia adecuada para elaborar tortillas. La concentración final de la masa fue de 0.53, 1.07, 1.60 % (p/p) para el CaCl₂ y de 0.38, 0.76 y 1.14 % (p/p) para el MgCl₂. La masa se formateó en discos delgados de 11 cm y 1.0 mm de grosor utilizando una tortilladora manual. Las tortillas se cocieron en

ambos lados por un minuto en un comal caliente (270 ± 10 °C). Las tortillas obtenidas se cortaron en piezas circulares con un área promedio de 10 cm^2 . Posteriormente, las piezas de tortilla se frieron en aceite de soya por 30 s a 190°C . Después del freído, las frituras de tortilla se colocaron en papel absorbente para remover el aceite superficial y se enfriaron a temperatura ambiente, para posteriormente determinar el color, la fuerza de fractura, el contenido de aceite y el contenido de acrilamida.

5.6 Efecto del hidróxido de calcio durante la nixtamalización en el contenido de acrilamida en frituras de tortilla

A las harinas obtenidas con una concentración de 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 % de hidróxido de calcio se les determinó el contenido de humedad, la cantidad de proteína total ($\text{N} \times 6.25$), la grasa (extracto etéreo), las cenizas y el pH utilizando los métodos 44-19, 46-13,30-25, 08-03, y 02-52 de la AACC, (1997) respectivamente. La fibra dietaria y el contenido de calcio se evaluaron según los métodos 991.43 y 985.35 de la AOAC, (1997), respectivamente.

Una vez obtenida la masa, ésta se formateó en discos delgados de 11 cm y 1.0 mm de grosor utilizando una tortilladora de rodillos manual. Las tortillas se cocieron un minuto por ambos lados en un comal caliente ($270 \pm 10^\circ\text{C}$). Las tortillas obtenidas se cortaron en piezas circulares con un área promedio de 10 cm^2 . Posteriormente, las piezas de tortilla se frieron en aceite de soya por 30 y 45 s a 180°C . El mejor tiempo de freído para preparar las frituras de tortilla fue de 30 s. Se ensayó un tiempo de freído de 45 s para analizar el efecto de tiempos de freído prolongados en el contenido de acrilamida. Después del freído, las frituras de tortilla se colocaron en papel absorbente para remover el aceite superficial y se enfriaron a temperatura ambiente, para posteriormente determinar el color, la fuerza de fractura, el contenido de aceite y el contenido de acrilamida.

5.7 Efecto de la actividad de agua en la tortilla y su relación con la formación de acrilamida después del freído

5.7.1 Construcción de isotermas de desorción de vapor de agua

Piezas circulares con un área promedio de 10 cm^2 se colocaron dentro de desecadores con P_2O_5 (pentóxido de fósforo) por tres semanas con vacío y a temperatura ambiente. Se

pesaron de 1 a 2 gramos de muestra y se colocaron en soportes dentro de celdas de desorción con soluciones saturadas de sal para generar diferentes actividades de agua en un intervalo de 0.111 a 0.837 (Lang *et al.*, 1981). Las isotermas se realizaron a 25, 30 y 35°C y se obtuvieron al graficar el contenido de humedad en el equilibrio contra la actividad de agua correspondiente.

Para modelar la adsorción de agua se utilizó la ecuación de GAB (Al-Muhtaseb *et al.*, 2002):

$$M = \frac{M_0 C K a_w}{(1 - K a_w)(1 - K a_w + C K a_w)}$$

Donde: M (g H₂O/100 g sólido seco) el contenido de humedad en equilibrio, a_w es la actividad de agua, M_0 (g H₂O/100 g sólido seco) es el contenido de humedad teórico de la monocapa, C y K son constantes.

El criterio para evaluar el ajuste del modelo fue el porcentaje de la desviación media relativa:

$$P(\%) = \frac{100}{N} \sum_{i=1}^N \frac{|Me_i - Mc_i|}{Me_i}$$

Donde: Me_i y Mc_i son el contenido de humedad experimental y el calculado, respectivamente, y N es el número de datos experimentales. Un modelo es considerado aceptable si el valor de P está por debajo del 10% (Lomauro *et al.*, 1985).

5.7.2 Cálculo de las propiedades termodinámicas de desorción

El modelado de las isotermas se realizó con el programa KaleidaGraph™, versión 4.0 de SINERGY SOFTWARE. A partir del mejor ajuste se calcularon las propiedades termodinámicas de desorción integrales.

5.7.2.1 Propiedades integrales

Los cambios de entalpía integral $(\Delta H_{int})_T$ durante el proceso de adsorción se calcularon usando la ecuación de Othmer, (1940):

$$\frac{d \ln P_v}{d \ln P_v^0} = \frac{H_v(T)}{H_v^0(T)}$$

Donde: La sustancia adsorbida es agua; P_v (Pa) es la presión de vapor de agua en el alimento, P_v^0 (Pa) es la presión de vapor del agua pura a la temperatura de sorción, $H_v(T)$ (J/mol) es el calor de sorción, y $H_v^0(T)$ es el calor de condensación del agua pura. Integrando la ecuación anterior a un potencial de superficie constante se tiene que:

$$\ln P_v = \left[\frac{H_v(T)}{H_v^0(T)} \right]_{\phi} \ln P_v^0 + C$$

Donde: C es la constante de adsorción y Φ (J/mol) es el potencial de superficie.

La entalpía molar integral $(\Delta H_{int})_T$ se calculó a un potencial de superficie constante con las siguientes ecuaciones:

$$(\Delta H_{int})_T = \left[\frac{H_v(T)}{H_v^0(T)} - 1 \right]_{\phi} H_v^0(T)$$

$$\phi = \mu_{ap} - \mu_a = RT \frac{W_{ap}}{W_v} \int_0^{a_w} M d \ln a_w$$

En las ecuaciones anteriores Φ (J/mol) es el potencial de superficie, μ_{ap} (J/mol) es el potencial químico del alimento sin agua, μ_a (J/mol) es el potencial químico del alimento interaccionando con el agua adsorbida en la fase de condensación, W_{ap} (kg/mol) es el peso molecular del adsorbente y W_v (kg/mol) es el peso molecular del agua. Calculando $H_v(T)/H_v^0(T)$ es posible calcular la entalpía integral a diferentes temperaturas, estimando el calor de condensación del agua pura $H_v^0(T)$ (J/mol) utilizando la ecuación de Wexler, (1976):

$$H_v^0(T) = 6.15 \times 10^4 - 94.14 T + 17.74 \times 10^{-2} T^2 - 2.03 \times 10^{-4} T^3$$

Utilizando los valores obtenidos para $(\Delta H_{int})_T$ y la siguiente ecuación, podemos estimar los cambios en la entropía molar integral $(\Delta S_{int})_T$.

$$(\Delta S_{int})_T = S_1 - S_L = -\frac{(\Delta H_{int})_T}{T} - R \ln a_w$$

Donde: $S_1 = S/N_1$ (J/mol K) es la entropía integral del agua adsorbida en el adsorbente, S (J/mol K) es la entropía total de las moléculas de agua adsorbidas, N_1 son las moles de agua adsorbidos y S_L (J/mol K) es la entropía molar del agua líquida pura en equilibrio con el vapor (Azuara y Beristain, 2007).

5.7.3 Efecto de la actividad de agua de la tortilla en la formación de acrilamida en frituras de tortilla

A partir de harina de maíz nixtamalizado (1.0 % de hidróxido de calcio) se obtuvo masa, que se formateó en discos delgados de 11 cm y 1.0 mm de grosor utilizando una tortilladora de rodillos manual. Las tortillas se cocieron en ambos lados por un minuto en un comal caliente ($270 \pm 10^\circ\text{C}$). Las tortillas obtenidas se cortaron en piezas circulares con un área promedio de 10 cm^2 . Posteriormente, 15 g de muestras de tortilla se colocaron en soportes dentro de celdas de desorción con soluciones saturadas de sal para generar diferentes actividades de agua en un intervalo de 0.111 a 0.837. Las muestras se almacenaron durante 4 y 10 días a 30°C . Al final del almacenamiento, las piezas de tortilla se frieron en aceite de soya por 30 s a 180°C . Después del freído, las frituras de tortilla se colocaron en papel absorbente para remover el aceite superficial y se enfriaron a temperatura ambiente, para posteriormente determinar el color, la fuerza de fractura y el contenido de acrilamida.

5.8. Determinación de color

El cambio de color de las frituras de tortilla se determinó con un colorímetro MiniScan XE, modelo 45/0, Reston, VA, Estados Unidos). La diferencia de color (ΔE) a

los diferentes periodos de tiempo se calculó a partir de los valores CIE L^* a^* b^* según Hunter, (1973):

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

Donde L^* =luminosidad (100= blanco perfecto, a 0= negro); a^* = verde/rojo [negativo (verde) a positivo (rojo)]; b^* = amarillo/azul [negativo (azul) a positivo (amarillo)]; ΔL^* , Δa^* y Δb^* = diferencias de color absolutas entre la placa de referencia (porcelana blanca) y los valores de la muestra; ΔE = diferencia total entre el color de la referencia y las muestras. Los valores de referencia fueron: $L^*= 92.22$, $a^*= -0.82$, $b^*=0.62$.

5.9 Determinación de la textura

La fuerza de fractura de las frituras de tortilla se evaluó con un analizador de textura TA-XT2 (Texture Technologies Corp., N. Y.). La fuerza de fractura se midió inmediatamente después de preparadas las muestras. El análisis se llevó a cabo usando una sonda de acero inoxidable con un diámetro de 2.03 mm y un accesorio utilizado como plataforma con una base cilíndrica con un diámetro externo e interno de 33.5 y 10 mm, respectivamente. La sonda viajó a una velocidad de 10 mm/s hasta romper la muestra (distancia 6 mm). Se midió la fuerza al rompimiento de la fritura de tortilla.

5.10 Determinación del contenido de acrilamida en sistemas modelo

La acrilamida se analizó como 2-bromopropenamida por CG-EM usando el método de Castle *et al.*, (1991). Para ello, 1 mL del sobrenadante extraído, se trató con 0.3 g de bromuro potásico y 400 μ L de solución saturada de bromo en agua. Después de 1 hora en oscuridad a 0°C, el exceso de bromo se eliminó adicionando tiosulfato de sodio (0.1 M) hasta que la solución perdió el color amarillo. De esta solución se extrajo la capa orgánica con 1 mL de acetato de etilo/hexano (4:1). Esta capa se trató con sulfato de sodio para eliminar restos de agua y se evaporó hasta un volumen de aproximadamente 50 μ L y se analizó por CG-EM.

Los iones que se monitorizaron para la identificación del analito, 2-bromopropenamida, fueron $[C_3H_4NO]^+ = 70$, $[C_3H_4^{79}BrNO]^+ = 149$ y $[C_3H_4^{81}BrNO]^+ = 151$, usando m/z 149 para

la cuantificación. Para el estándar interno, 2-bromo[$^{13}\text{C}_3$]propenamida, fueron $[\text{}^{13}\text{C}_2\text{H}_3\text{}^{81}\text{Br}]^+ = 110$ y $[\text{}^{13}\text{C}_3\text{H}_4\text{}^{81}\text{BrNO}]^+ = 154$, usando m/z 154 para la cuantificación. Los análisis y la cuantificación de acrilamida se realizaron de manera similar a lo descrito en la sección 5.11.

5.11 Determinación de acrilamida en los alimentos

La acrilamida se derivatizó para ser analizada como 2-bromopropenamida, usando cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM). En resumen, las muestras se pulverizaron con un mortero, después se pesaron 0.8 g de muestra en tubos para centrífuga y se añadieron 20 μL de una solución con el estándar interno (0.5 mg/mL de acrilamida deuterada [$2,3,3\text{-}^2\text{H}_3$] en acetonitrilo), posteriormente se agitaron con 8 mL de agua desionizada y 8 mL de hexano durante 5 min. Después de una centrifugación a 2000 g durante 10 min, se removió la fase orgánica y se adicionaron 30 μL de solución Carrez I y 30 μL de solución Carrez II al sobrenadante para precipitar coloides co-extraídos. Posteriormente, el sobrenadante se centrifugó a 2000g durante 5 min y se filtró. El extracto (~4 mL) se trató con 0.45 g de bromuro de potasio, 200 μL de ácido sulfúrico (10% v/v) y 300 μL de solución de bromato de potasio (0.1 M) y se colocó 1 h en la oscuridad a 4°C. Para finalizar la reacción de bromación, se agregaron gotas de tiosulfato de sodio (0.1 M) hasta que el extracto se volvió incoloro. El extracto se trató con 4 mL de acetato de etilo/hexano (4:1), se agitó y centrifugó a 2000g durante 2 y 10 min, respectivamente. La fase orgánica se recuperó, se secó con sulfato de sodio y se evaporó hasta sequedad bajo un flujo de nitrógeno. Cada muestra fue redisuelta en 50 μL de acetato de etilo/hexano (4:1), tratada con 25 μL de trietilamina y analizada por CG-EM.

Los iones monitoreados para la identificación del analito, 2-bromopropenamida fueron $[\text{C}_3\text{H}_4\text{NO}]^+ = 70$, $[\text{C}_3\text{H}_4\text{}^{79}\text{BrNO}]^+ = 149$, y $[\text{C}_3\text{H}_4\text{}^{81}\text{BrNO}]^+ = 151$, para la cuantificación se utilizó el ion correspondiente a m/z 149. Los iones monitoreados para la identificación del estándar interno, 2-bromo[$^2\text{H}_2$]propenamida fueron $[\text{C}_2\text{}^2\text{H}_2\text{}^{81}\text{Br}]^+ = 110$ y $[\text{C}_3\text{}^2\text{H}_2\text{}^{81}\text{BrNO}]^+ = 153$, se utilizó el ion correspondiente a m/z 153 para la cuantificación.

Los análisis se realizaron en un cromatógrafo de gases Perkin Elmer Clarus 500 acoplado a un espectrómetro de masas Perkin Elmer Clarus 560 (PerkinElmer Instruments, Shelton, CT, USA). Se utilizó una columna capilar Elite-5MS de 30 m × 0.32 mm d.i. × 0.25 μm (PerkinElmer Instruments, Shelton, CT, USA). Las condiciones de trabajo fueron las siguientes: Helio como gas acarreador (1 mL/min a flujo constante); inyector, 250 °C; rampa de temperatura del horno: de 50 (1 min) a 240 °C a 5 °C/min y posteriormente a 300 °C a 10 °C/min; Temperatura de la línea de transferencia, 280 °C; Modo de ionización, EI, 70 eV.

La cuantificación de la acrilamida se llevó a cabo preparando una curva de calibración, la cual se realizó a partir de de ocho concentraciones diferentes de acrilamida en agua (0-71.08 μg). El contenido de acrilamida fue directamente proporcional a la razón entre el área del pico de analito y el área del pico de estándar interno ($r = 0.999$, $p < 0.0001$). El coeficiente de variación a las diferentes concentraciones fue menor al 10%.

5.12 Diseño experimental y análisis estadístico

Todos los resultados se expresaron como promedios. Se realizó un análisis de correlación simple y un análisis de varianza de una sola vía. Las diferencias entre los diferentes grupos se determinaron con la prueba de Tukey. Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo con el paquete JMP 9.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC). A menos que se indique lo contrario, el nivel de significancia fue $\alpha = 0.05$.

6. Resultados y Discusión

6.1 Efecto de un extracto oleoso chile piquín en la formación de acrilamida en frituras de papa y tortilla.

Se evaluó el efecto de un extracto oleoso de chile piquín en la formación de acrilamida en sistemas modelo asparagina/glucosa. La adición del extracto incrementó linealmente ($r=0.77$, $p<0.05$) la formación de acrilamida (Figura 3). Este comportamiento fue diferente cuando el extracto oleoso se oxidó antes de la adición al sistema modelo asparagina/glucosa. La **Figura 4** muestra la oxidación en función del tiempo del extracto oleoso y el aceite de soya. Como se esperaba, el aceite de soya se oxidó cuando se calentó a 60°C . Después de dos días, los valores de TBARS se incrementaron lentamente y este periodo de inducción terminó después de 7 días cuando se registró un incremento considerable de estos valores. Al contrario, la capacidad antioxidante de los capsaicinoides presentes en el chile piquín (Luo *et al.*, 2011) retrasó la oxidación del extracto oleoso. Por lo tanto, los valores de TBARS del extracto oleoso se incrementaron lentamente durante el periodo de tiempo estudiado.

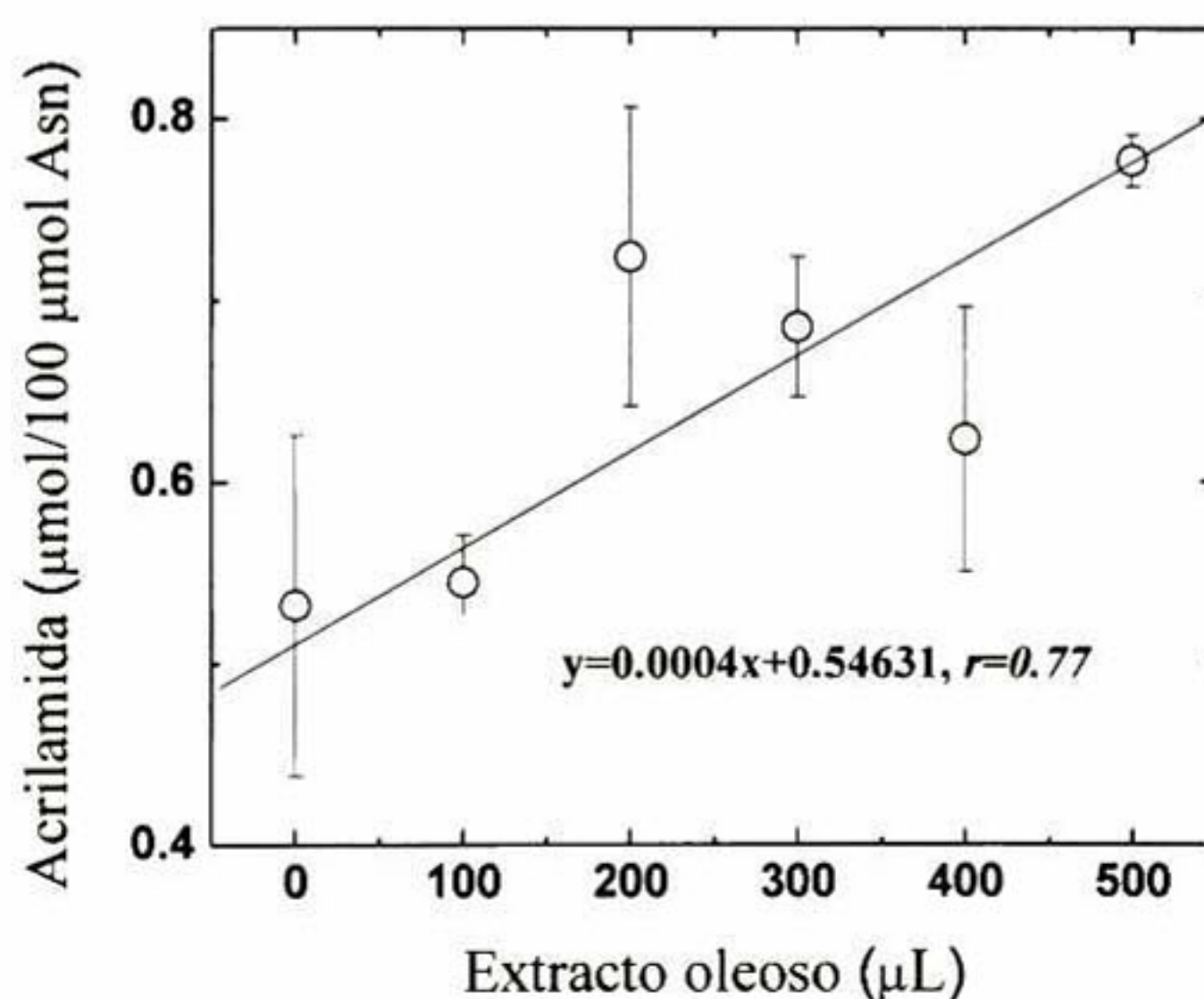
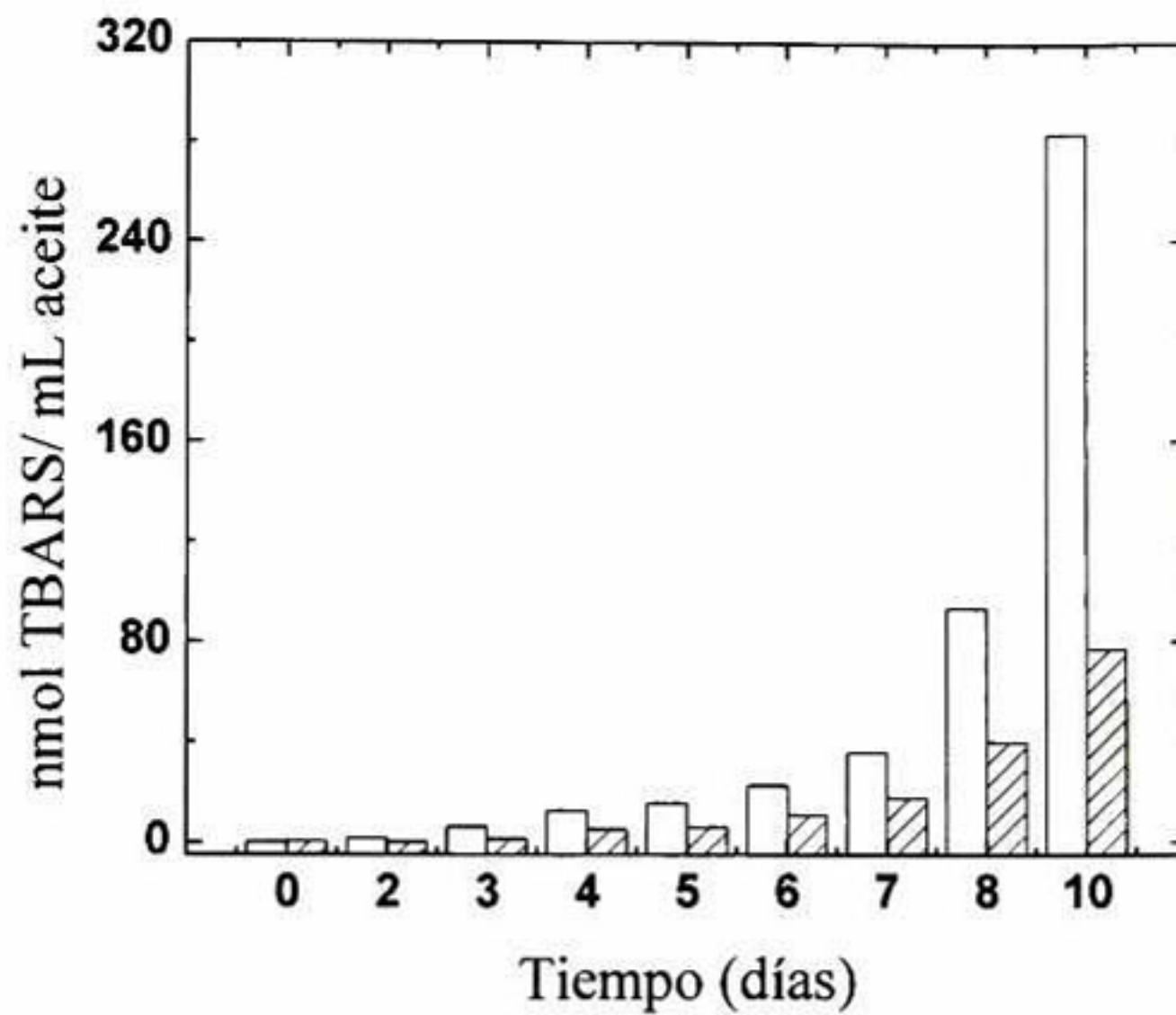
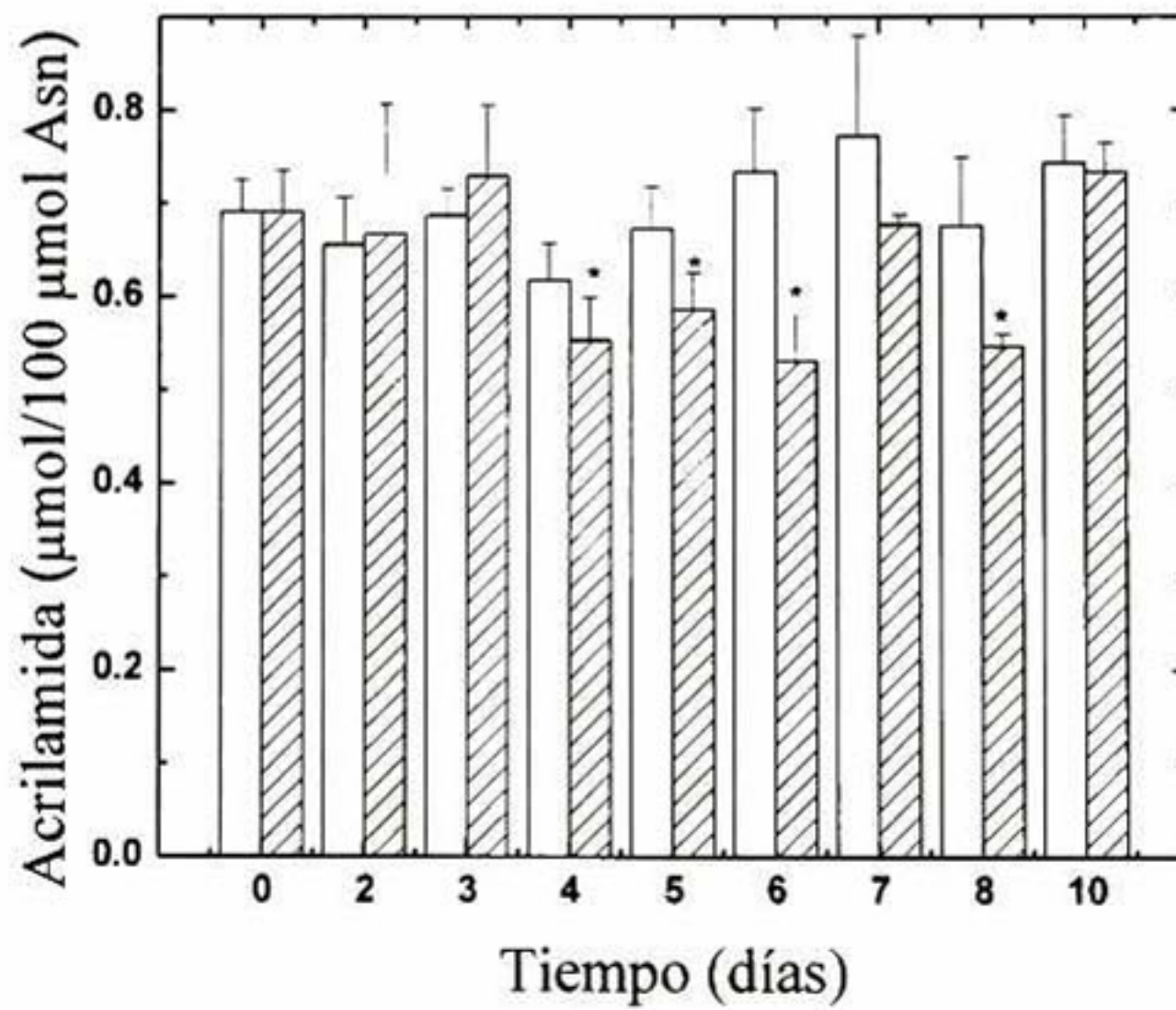


Figura 3. Efecto de la cantidad de extracto oleoso en la formación de acrilamida en sistemas modelo asparagina/glucosa.



† Aceite de soya (barras blancas), extracto oleoso de Chile piquín (barras con rayas).

Figura 4. Oxidación a través del tiempo medida como TBARS del aceite de soya y el extracto oleoso de Chile piquín.



† Aceite de soya (barras blancas), extracto oleoso de Chile piquín (barras con rayas).

* $p < 0.05$ comparado con la muestra control tratada con aceite de soya en el mismo periodo de tiempo.

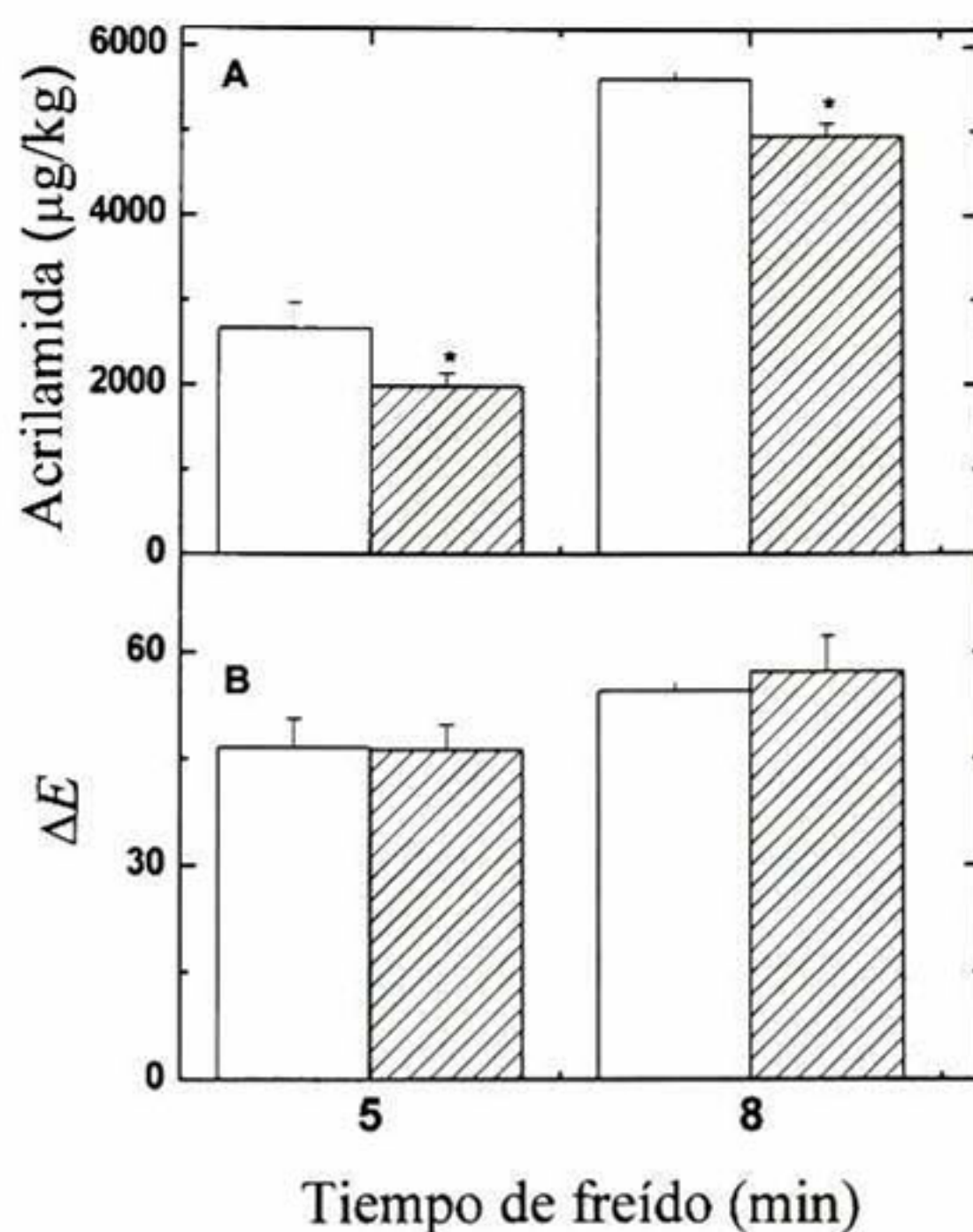
Figura 5. Efecto del tiempo de oxidación del aceite de soya y del extracto oleoso de Chile piquín en el contenido de acrilamida en sistemas modelo asparagina/glucosa.

Cuando las muestras del extracto oleoso y aceite de soya se oxidaron a través del tiempo y se adicionaron a los sistemas modelo asparagina/glucosa, se registraron diferencias significativas en la formación de acrilamida (**Figura 5**). Así, la adición del aceite de soya con diferentes tiempos de oxidación no cambió los niveles de acrilamida producidos. Al contrario, la adición del extracto oleoso de chile piquín disminuyó ($p < 0.05$) el contenido de acrilamida cuando el extracto se oxidó en un intervalo de 4-8 días en comparación con las muestras control tratadas con aceite de soya oxidadas en el mismo periodo de tiempo. Las muestras de oleoresina oxidadas en este periodo de tiempo redujeron los niveles de acrilamida en un rango de 11-28 %. Tiempos de oxidación más bajos o más altos no produjeron ningún cambio en los niveles de acrilamida mostrados en los sistemas modelo ensayados.

El efecto contra la formación de acrilamida mostrado por el extracto oleoso de chile piquín en sistemas modelo como consecuencia de su oxidación, puede ser un factor importante en sistemas alimentarios reales cuando condiciones que favorecen la oxidación (como el freído) son producidas durante el procesamiento. De este modo, cuando hojuelas de papa se frieron en aceite de soya (control) o en el extracto oleoso, se obtuvieron diferencias significativas en el contenido de acrilamida producido en las frituras de papa (**Figura 6A**). Ambos procesos indujeron la formación de acrilamida en las frituras de papa, sin embargo las hojuelas de papa freídas en el aceite control siempre mostraron niveles de acrilamida más altos ($p < 0.05$) que las procesadas en el extracto oleoso de chile piquín. Estos resultados se obtuvieron independientemente del tiempo de freído empleado. Las únicas diferencias significativas fueron la cantidad de acrilamida formada (la cual se incrementó con el tiempo de freído) y la reducción de los niveles de acrilamida producida por el extracto oleoso de chile piquín (la cual disminuyó cuando el tiempo de freído se incrementó). De esta manera, la reducción de acrilamida disminuyó de 26 % (utilizando un tiempo de freído de 5 min, el cual fue el mejor tiempo de freído para las frituras de papa) a 12 % (utilizando un tiempo de freído de 8 min).

El uso del extracto oleoso de chile piquín no causó cambios significativos en las frituras de papa con la excepción del característico sabor pungente del chile piquín. Por consiguiente, las frituras de papa obtenidas desarrollaron una apariencia similar, y los

cambios de color mostrados por las muestras procesadas a 5 y 8 min no fueron significativamente diferentes ($p < 0.05$) (**Figura 6B**).

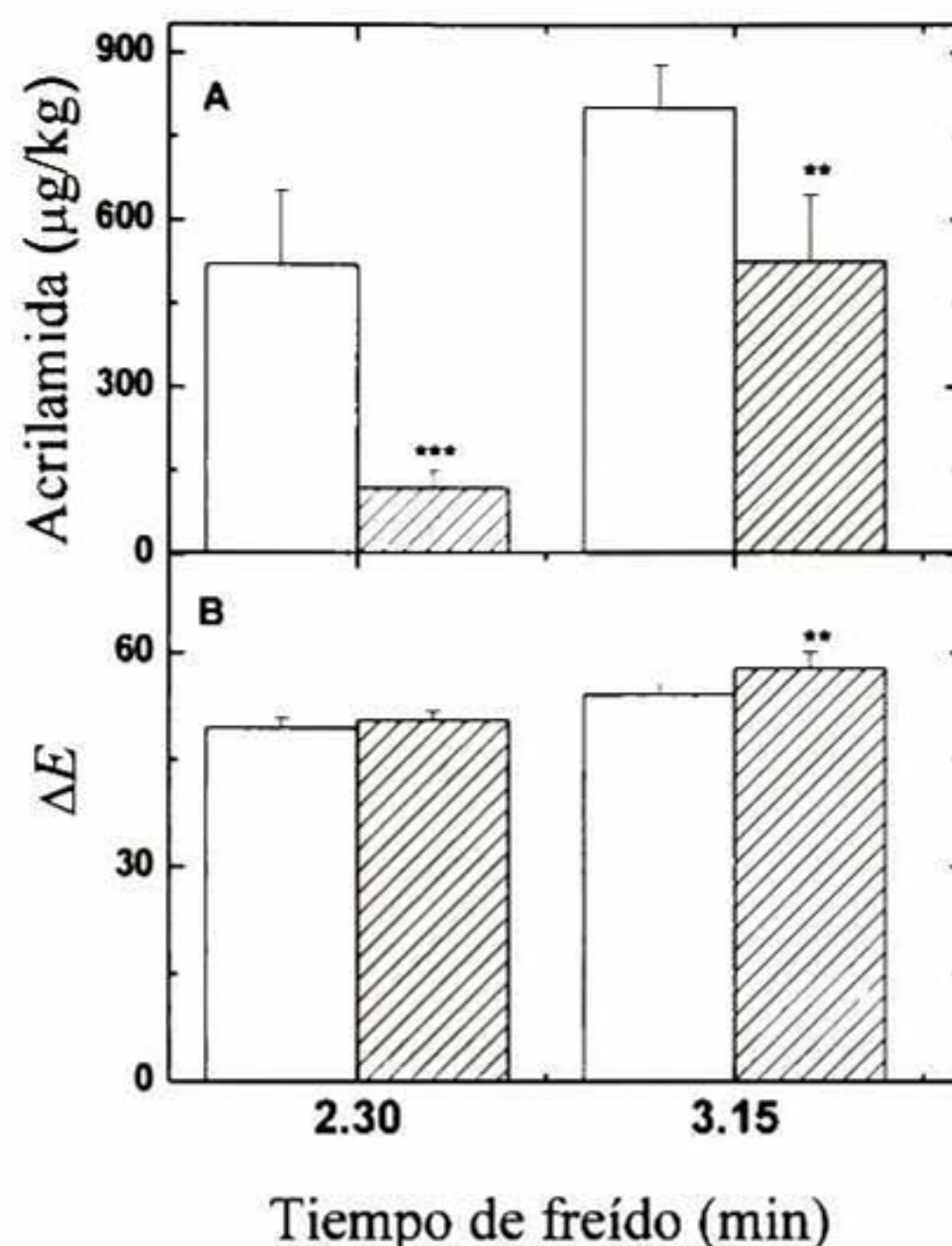


† Aceite de soya (barras blancas), extracto oleoso de chile piquín (barras con rayas).

* $p < 0.05$ comparado con el control. El mejor tiempo de freído para las frituras de papa fue de 5 min.

Figura 6. Efecto del tiempo de freído a 180°C en: A, formación de acrilamida, y B, cambio de color (ΔE), en frituras de papa usando aceite de soya ó el extracto oleoso de chile piquín.

De manera análoga a las frituras de papa, el uso del extracto oleoso de chile piquín en la preparación de las frituras de tortilla disminuyó el contenido de acrilamida, así mismo, esta disminución fue mayor que la obtenida en las frituras de papa (**Figura 7A**). La concentración de acrilamida en las frituras de tortilla en aceite de soya a 180°C por 2.30 min (el cual fue el mejor tiempo de freído para las frituras de tortilla) y 3.15 fue de 520 ± 133 y 802 ± 76 µg/kg, respectivamente. Cuando se utilizó el extracto oleoso, se observó una reducción considerable del contenido de acrilamida (77 %) cuando las frituras de tortilla se frieron durante 2.30 min, este porcentaje disminuyó a 31 % cuando el tiempo de freído fue de 3.15 min.



† Aceite de soya (barras blancas), extracto oleoso de chile piquín (barras con rayas).
 ** $p < 0.01$ comparado con el control. *** $p < 0.001$ comparado con el control.

Figura 7. Efecto del tiempo de freído a 180°C en: A, formación de acrilamida, y B, cambio de color (ΔE), en frituras de tortilla usando aceite de soya ó el extracto oleoso de chile piquín.

El uso del extracto de chile piquín no produjo cambios significativos en la apariencia de las frituras de tortilla freídas por 2.30 min con excepción del característico sabor pungente del chile piquín. Por consiguiente, las frituras de tortilla freídas durante 2.30 min desarrollaron una apariencia similar (**Figura 7B**). Por el contrario, tiempos de freído prolongados produjeron frituras de tortilla más oscuras cuando se procesaron en el extracto oleoso que con el aceite de soya (**Figura 7B**). Aun así, el contenido de acrilamida fue más bajo en las frituras de tortilla freídas en el extracto oleoso.

La propuesta de estrategias para reducir los niveles de acrilamida ha sido constante en la literatura desde el descubrimiento de su formación durante el procesamiento térmico de los alimentos (Tareke *et al.*, 2002). Las propuestas incluyen la modificación de la materia prima, la optimización de los parámetros de procesamiento, evaporación de la acrilamida, y la adición de diferentes compuestos, que incluyen la asparaginasa, modificadores de pH, proteínas o aminoácidos, cationes, antioxidantes, etc. (Adams *et al.*, 2010; Ciesarová *et al.*,

2006; Hidalgo *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2009). Muchos de los estudios anteriores, han intentado producir alimentos con un contenido reducido de acrilamida acompañando de mínimos cambios sensoriales. Sin embargo, una alternativa puede ser la inducción de cambios sensoriales deseables en los alimentos a la vez que se reducen los niveles de acrilamida. Los resultados obtenidos en este estudio señalan al chile piquín como un aditivo interesante cuando se desea la presencia de un sabor pungente en un producto alimenticio.

Los resultados obtenidos en los sistemas modelo asparagina/glucosa mostraron que el extracto oleoso de chile piquín sin oxidar no disminuyó la formación de acrilamida. De hecho, el contenido de acrilamida se incrementó en función de la cantidad de extracto oleoso presente en el sistema modelo, lo cual pudo ser consecuencia de la presencia de compuestos carbonílicos en el extracto. Sin embargo este comportamiento cambió cuando el extracto oleoso se oxidó por 4-8 días a 60°C. La adición del extracto oleoso ligeramente oxidado redujo el contenido de acrilamida en 11-28 %; ésta puede ser una razón por la cual disminuyó el contenido de acrilamida cuando se utilizó el extracto oleoso de chile piquín para preparar las frituras de papa o tortilla. Aunque el mecanismo exacto por el cual el extracto oleoso de chile piquín puede incrementar o disminuir la cantidad de acrilamida producida actualmente no está definido, es probable que se deba a los diferentes compuestos que se encuentran en el extracto oleoso. Por una parte la presencia de algunos compuestos carbonílicos susceptibles a la oxidación puede inducir la formación de acrilamida, mientras que, la presencia de compuestos con propiedades antioxidantes puede proteger contra la formación de nuevos compuestos carbonílicos, disminuyendo de este modo la formación de acrilamida. Debido a lo anterior, son necesarios estudios adicionales para identificar a los compuestos responsables de este comportamiento. Sin embargo, estudios preliminares en los cuales se añadió capsaicina, uno de los compuestos responsables de las propiedades antioxidantes del chile piquín a un sistema modelo de asparagina/glucosa no mostraron reducción en el contenido de acrilamida (**Figura 8**).

La reducción de acrilamida en las frituras de papa no fue alta (12-26%). Sin embargo, la combinación de este tratamiento con otros pre-tratamientos sugeridos como el remojo o el escaldado o el ajuste de las condiciones de calentamiento, como se ha sugerido por Pedreschi *et al.*, (2011), pueden generar una disminución adicional. Por lo tanto, son

necesarios estudios adicionales para explorar el potencial del extracto oleoso de chile piquín en combinación con las estrategias antes mencionadas.

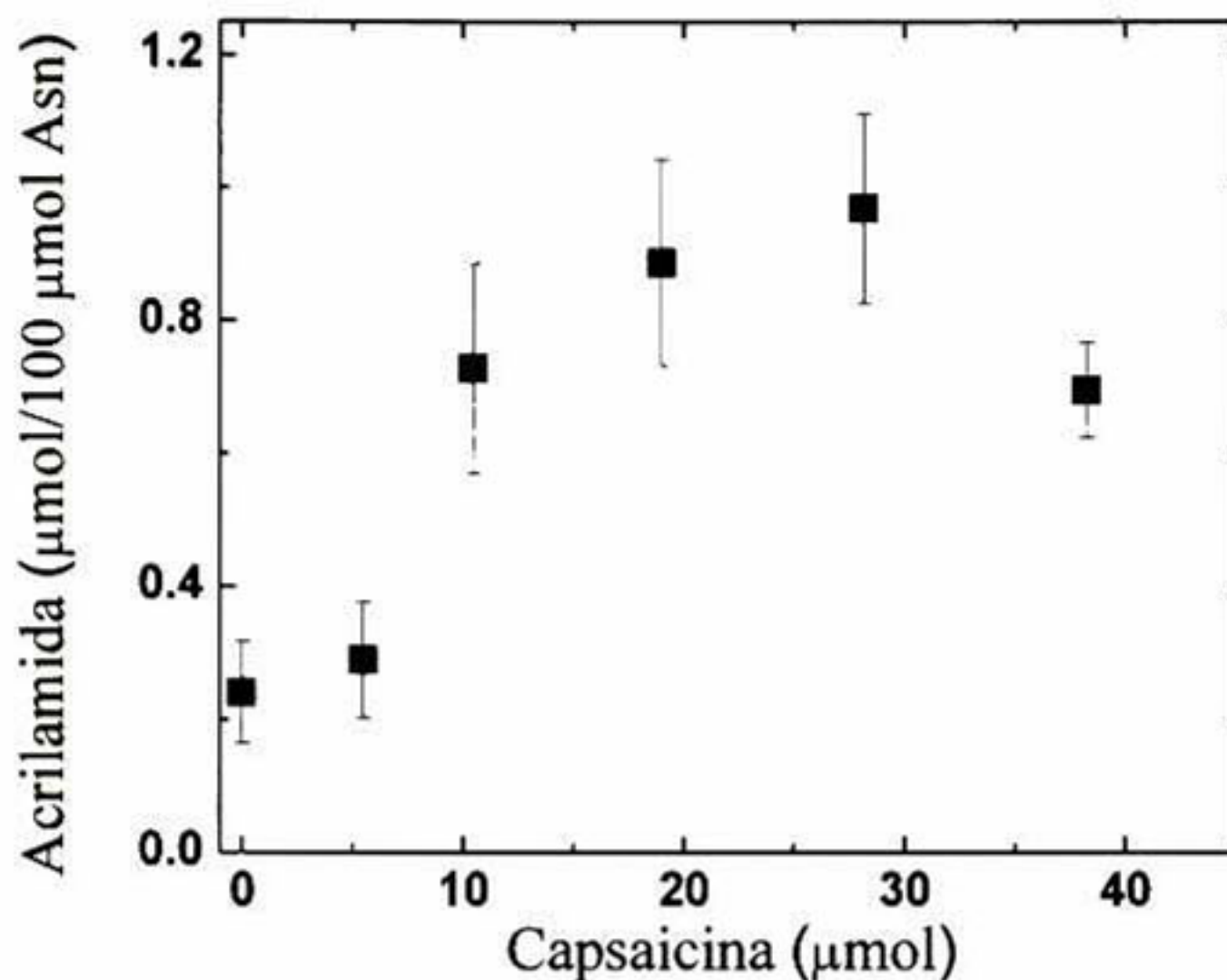


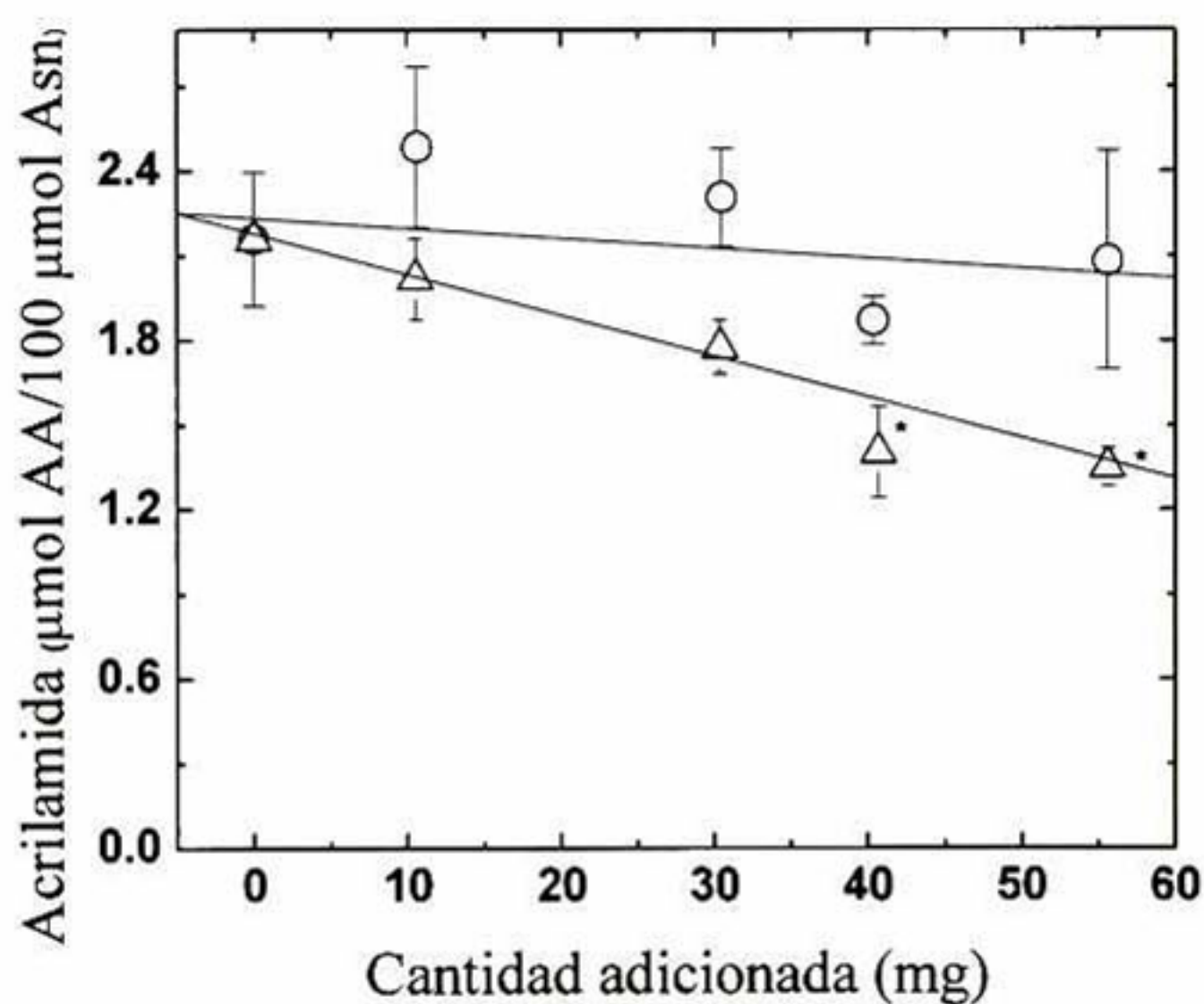
Figura 8. Efecto de la cantidad de capsaicina en la formación de acrilamida en sistemas modelo asparagina/glucosa.

En contraste a las frituras de papa, el extracto oleoso de chile piquín es potencialmente útil para disminuir la formación de acrilamida en frituras de tortilla, en donde el contenido de acrilamida se redujo hasta 77 %, utilizando tiempos óptimos de freído. Las diferencias resultantes entre las frituras de papa y de tortilla puede ser consecuencia de la integridad de las muestras antes del freído. Mientras que las papas solo son lavadas, peladas y cortadas, el maíz empleado para obtener la harina para preparar las frituras de tortilla, se nixtamalizó, molió, secó y rehidrató. Estos procesos pueden, de alguna manera, incrementar la disponibilidad de la asparagina y los azúcares reductores u otros compuestos carbonílicos para interactuar con el extracto oleoso.

Aunque es necesario llevar a cabo una evaluación sensorial detallada de las frituras de papa y tortilla preparadas con el extracto oleoso de chile piquín, el uso del mismo puede ser una manera atractiva de disminuir la formación de acrilamida y proporcionar en algunos alimentos un sabor pungente característico.

6.2 Efecto de la proteína de amaranto en la formación de acrilamida en alimentos

La adición de proteínas de amaranto al sistema modelo asparagina/glucosa disminuyó la formación de acrilamida en función de la cantidad de proteína agregada (**Figura 9**). En el mismo sentido, la adición de harina de amaranto, con una baja concentración de proteína (16.45 %) no influyó significativamente en la cantidad de acrilamida determinada.



* $p < 0.05$ comparado con la muestra control calentada en ausencia del aislado de proteína de amaranto.

Figura 9. Efecto de la cantidad de harina de amaranto (○) y del aislado de proteína de amaranto (△) en la acrilamida producida en sistemas modelo asparagina/glucosa.

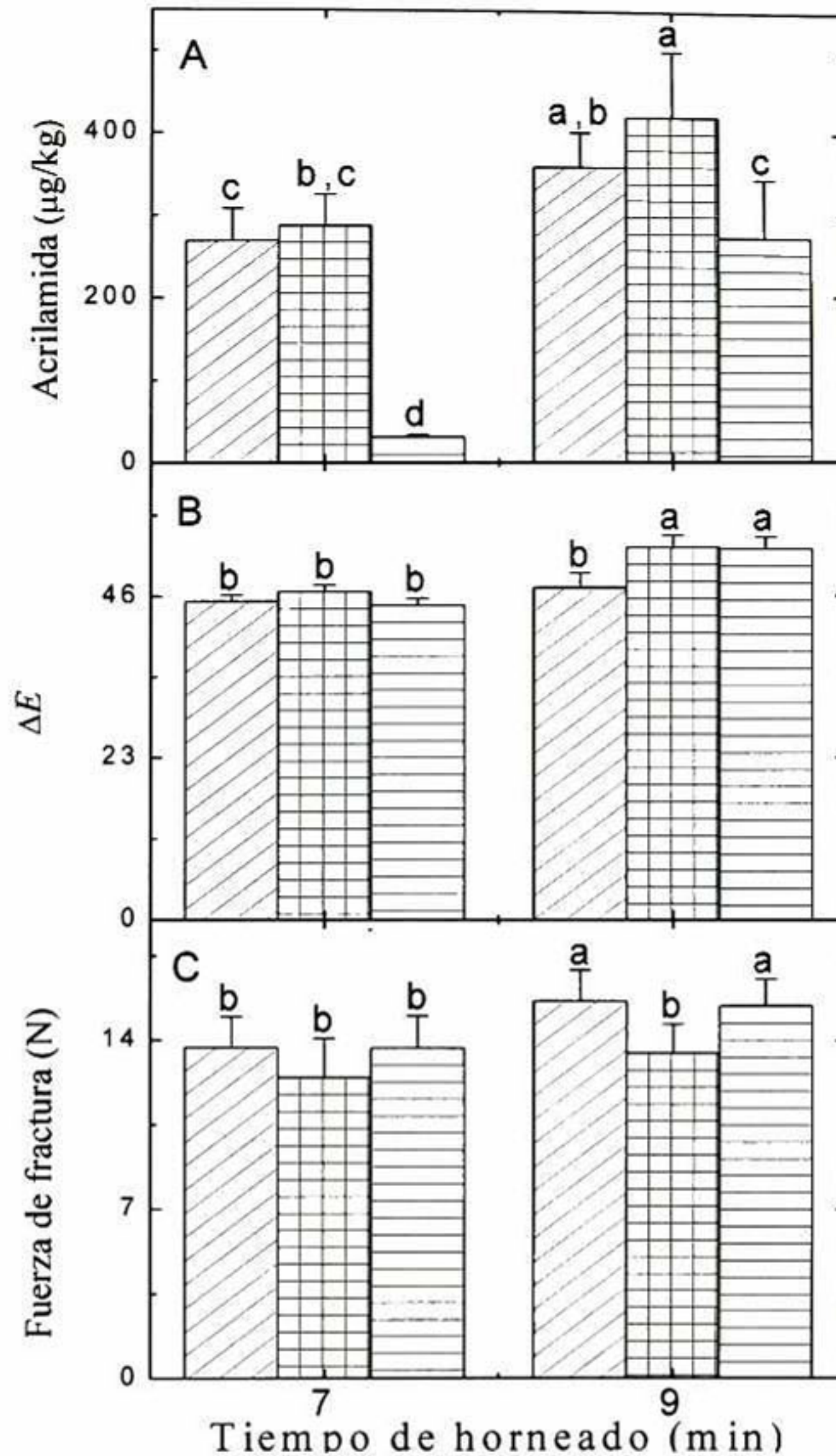
Por el contrario, cuando el aislado proteico de amaranto, con un alto contenido de proteína (80.77 %), se adicionó al sistema modelo, la cantidad de acrilamida formada después del calentamiento disminuyó linealmente ($r=-0.98$, $p<0.05$) en función de la cantidad de aislado proteico adicionado. La adición de 40 o 55 mg de aislado disminuyó significativamente ($p<0.05$) la formación de acrilamida en el sistema modelo por 35-40 %. El efecto reductor en la formación de acrilamida mostrado para el aislado de proteína en los sistemas modelo asparagina/glucosa también se obtuvo en sistemas modelo de galletas. De este modo, la adición de harina o aislado proteico de amaranto no cambiaron la a_w de la

masa (permaneció constante, en el rango de 0.81-0.82). Por el contrario, el pH de la masa (6.8) disminuyó a 6.3 y 6.7 respectivamente, cuando se adicionó la harina y el aislado de proteína de amaranto. Además, el contenido de proteína de la masa para galletas (7.36 ± 0.002) se incrementó en 0.7 y 3.8 %, respectivamente, cuando se adicionó la harina y el aislado de proteína de amaranto. Para los casos donde se agregó la harina de amaranto, el incremento de proteína observado fue consecuencia del alto contenido de proteína en la harina de amaranto en comparación de la harina de trigo (Dyner *et al.*, 2007).

La adición de la harina de amaranto no mostró ningún efecto en el contenido de acrilamida producido en las galletas (**Figura 10A**), por otra parte, la adición del aislado de proteína de amaranto disminuyó significativamente ($p < 0.0001$) la acrilamida formada luego del horneado. Estos resultados se obtuvieron independientemente del tiempo de horneado usado. Las únicas diferencias significativas fueron la cantidad de acrilamida producida (la cual se incrementó con el tiempo de horneado) y el porcentaje de acrilamida reducido (el cual disminuyó cuando el tiempo de horneado se incrementó), por lo que la acrilamida reducida disminuyó de 89 % (utilizando un tiempo de horneado de 7 min, el cual fue el mejor tiempo de horneado de las galletas preparadas) a 26 % (utilizando un tiempo de horneado de 9 min).

La disminución de acrilamida producida cuando el aislado de proteína de amaranto estuvo presente en la composición de las galletas no presentó una consecuencia significativa en la apariencia de las galletas horneadas por 7 min. De esta manera, las galletas mostraron un color similar (**Figura 10B**). Por el contrario, un elevado tiempo de horneado produjo galletas más oscuras cuando estas se formularon con harina o el aislado de proteína de amaranto.

La adición de harina o aislado de proteína de amaranto no produjo cambios significativos en la fuerza de fractura de las galletas horneadas por 7 min (**Figura 10C**). Por el contrario, un tiempo de horneado prolongado produjo cambios significativos. Así, las galletas control y aquellas preparadas con el aislado de proteína de amaranto, fueron significativamente más duras ($p < 0.05$) que las elaboradas con la harina de amaranto.



† Harina de amaranto (barras cuadrículadas), aislado de proteína de amaranto (barras rayadas horizontalmente). Para comparar se incluyeron galletas donde la harina y el aislado de proteína de amaranto estuvieron ausentes (barras rayadas diagonalmente).

* Barras con letras diferentes en el mismo panel son diferentes significativamente ($p < 0.05$).

Figura 10. Efecto de la harina de amaranto y del aislado de proteína de amaranto en: A, contenido de acrilamida; B, color; C, textura, en galletas horneadas a 190°C durante 7 y 9 min.

El efecto reductor en la formación de acrilamida, mostrado para el aislado de proteína en los sistemas modelo asparagina/glucosa y en galletas, también se registró en tortilla frita y horneada. De este modo, la adición de harina o aislado de proteína de amaranto no cambio la a_w de la masa preparada para hacer tortillas (permaneció constante a 0.98). Por el contrario, el pH de la masa (7.9) disminuyó a 7.4 y 7.7 respectivamente, con la adición de

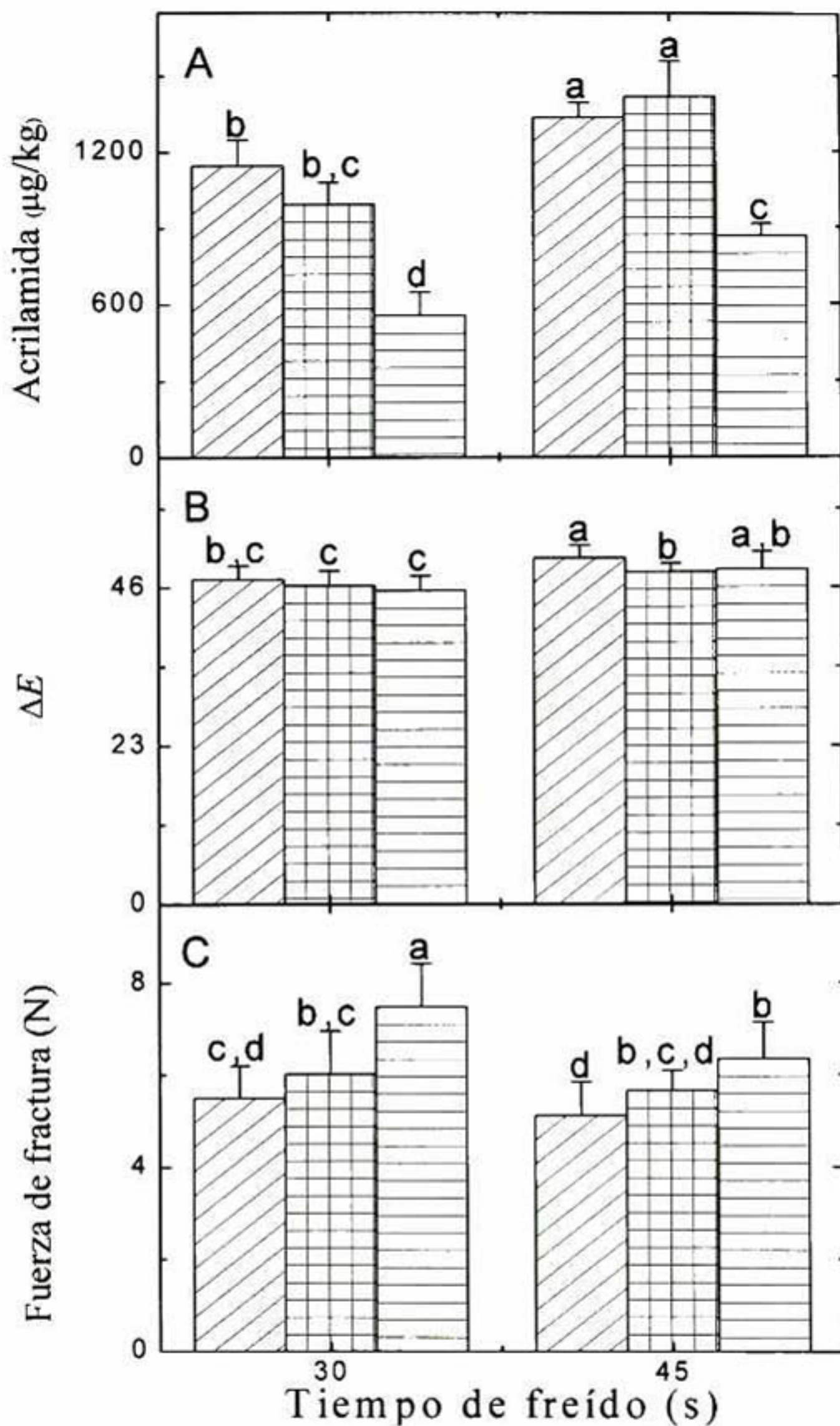
harina y aislado de proteína de amaranto. Además, el contenido de proteína de la masa (8.85 ± 0.35 %, base seca) se incrementó 0.5 y 3.3 % respectivamente, con la adición de harina y aislado de proteína de amaranto.

De manera similar a lo descrito para galletas, el uso del aislado de proteína de amaranto, más no el de la harina, para preparar las frituras de tortilla también disminuyó la formación de acrilamida (**Figura 11A**). La concentración de acrilamida en las frituras de tortilla freídas a 190°C y durante 30 s (el cual fue mejor tiempo de freído para las frituras de tortilla elaboradas) y 45 s fue 1141 ± 100 y 1333 ± 59 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectivamente. La adición de la harina de amaranto no produjo algún cambio significativo ($p < 0.05$) en la cantidad de acrilamida producida. Por el contrario, el uso del aislado de proteína de amaranto, resultó en una reducción significativa ($p < 0.0001$) en el contenido de acrilamida (se redujo 51 %) cuando las frituras se procesaron en el mejor tiempo de freído (30 s). Dicha reducción disminuyó a 35 % en las frituras procesadas durante 45 s.

La reducción de acrilamida no se relacionó al cambio de apariencia de las frituras de tortilla procesadas durante 30 s. de hecho, la adición de harina o de aislado de proteína de amaranto no produjo ningún cambio en el color de las frituras de tortillas procesadas a 30 s (**Figura 11B**). Por el contrario, elevados tiempos de freído resultaron en frituras de tortilla menos oscuras cuando estas se formularon con la harina de amaranto. En el mismo contexto, la adición del aislado de proteína de amaranto, mas no la harina de amaranto, tuvo un efecto significativo ($p < 0.05$) en la fuerza de fractura de las frituras de tortilla procesadas a 30 y 45 s (**Figura 11C**). Las frituras de tortilla fueron más duras (24 – 36 %) que las frituras de tortilla control.

Adicionalmente al estudio del efecto del freído en la preparación de las frituras de tortilla, se evaluó el efecto del horneado para la preparación de las mismas. Resultados muy similares se obtuvieron en ambos métodos, aunque durante el horneado se produjo un menor contenido de acrilamida que durante el freído. De esta manera, las tortillas freídas por 30 segundos (mejor tiempo de freído) tuvieron 1141 ± 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de acrilamida, la cual se redujo a 587 ± 32 $\mu\text{g}/\text{kg}$ cuando las tortillas se hornearon por 4 min (mejor tiempo de horneado). Sin embargo, la reducción de acrilamida producida por la adición de la harina o

el aislado de proteína de amaranto fue similar independientemente si las hojuelas de tortilla se frieron u hornearon.

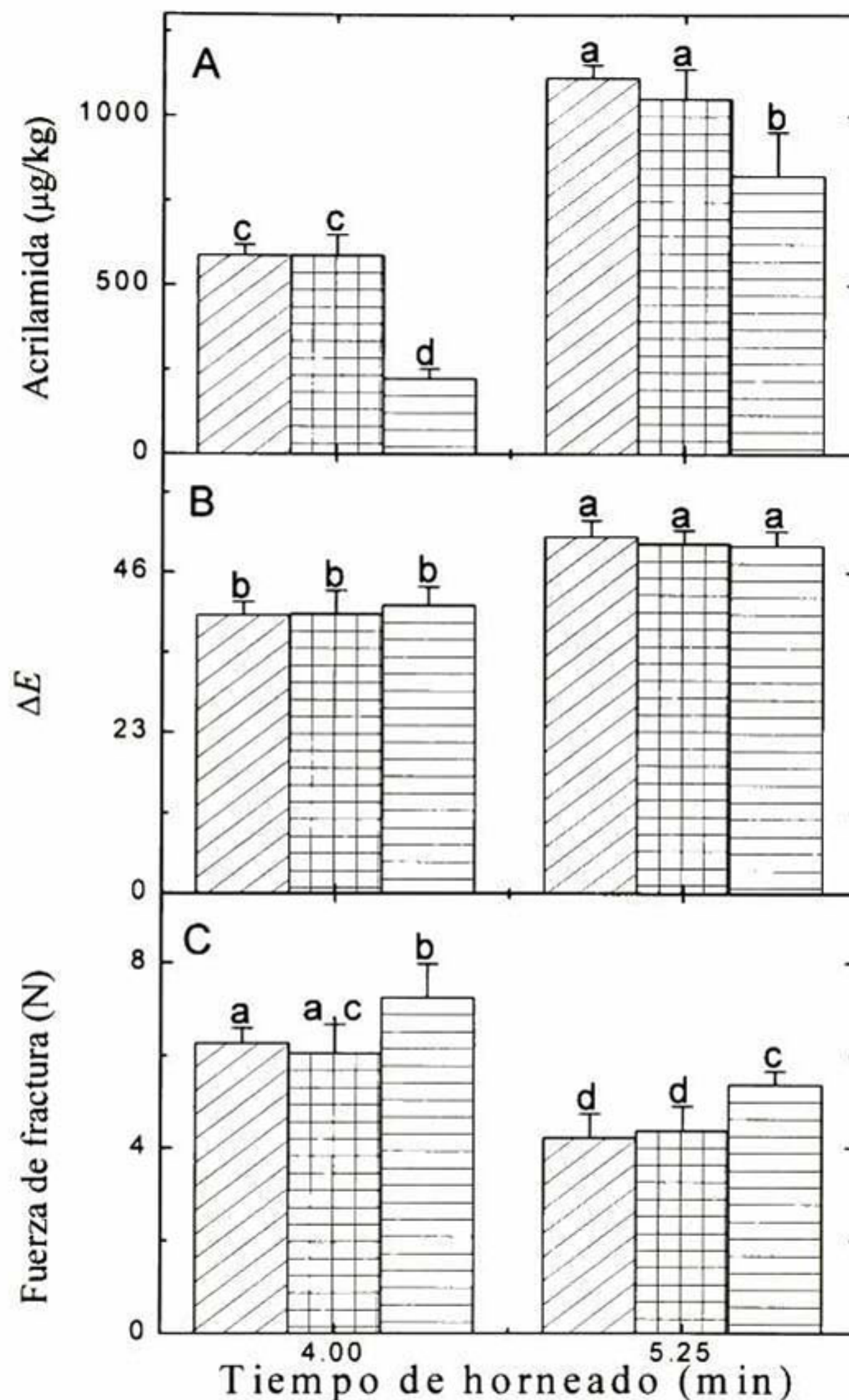


† Harina de amaranto (barras cuadrículadas), aislado de proteína de amaranto (barras rayadas horizontalmente). Para comparar se incluyeron frituras de tortilla donde la harina y el aislado de proteína de amaranto estuvieron ausentes (barras rayadas diagonalmente).

* Barras con letras diferentes en el mismo panel son diferentes significativamente ($p < 0.05$).

Figura 11. Efecto de la harina de amaranto y del aislado de proteína de amaranto en: A, contenido de acrilamida; B, color; C, textura, en tortilla freída a 190°C durante 30 y 45 s.

La **Figura 12A** muestra el contenido de acrilamida producido en la tortilla horneada. La adición de la harina de amaranto no produjo ninguna reducción en el contenido de acrilamida.



† Harina de amaranto (barras cuadriculadas), aislado de proteína de amaranto (barras rayadas horizontalmente). Para comparar se incluyeron tortillas horneadas donde la harina y el aislado de proteína de amaranto estuvieron ausentes (barras rayadas diagonalmente).

* Barras con letras diferentes en el mismo panel son diferentes significativamente ($p < 0.05$).

Figura 12. Efecto de la harina de amaranto y del aislado de proteína de amaranto en: A, contenido de acrilamida; B, color; C, textura, en tortillas horneadas a 205°C durante 4 y 5.25 min.

Por el contrario, la adición del aislado de proteína de amaranto disminuyó el contenido de acrilamida por 62 % cuando la tortilla se horneó por 4 min (mejor tiempo de horneado) y esta reducción disminuyó a 26 % cuando las tortillas se hornearon durante 5.25 min.

Las tortillas horneadas fueron ligeramente menos oscuras que las frituras de tortilla (**Figura 12B**). Sin embargo, independientemente del tiempo de horneado usado, la adición de la harina o el aislado de proteína de amaranto no produjo diferencias significativas en el color de las tortillas horneadas. El horneado por 4 min produjo tortillas con una textura similar a aquellas obtenidas durante en freído por 30 s. Sin embargo, tiempos de horneado prolongados (5.25 min) produjeron tortillas horneadas más suaves que las horneadas por 4 min. La adición de harina de amaranto no influyó significativamente ($p < 0.05$) en la textura de las tortillas horneadas elaboradas. No obstante, la adición del aislado de proteína de amaranto resultó en tortillas horneadas más duras (16- 27%) que el control (**Figura 12C**)

El amaranto es un pseudocereal de la familia *Amaranthaceae* el cual tiene varias ventajas con respecto a muchos cereales, las cuales incluyen un rápido crecimiento, adaptación a condiciones climatológicas adversas y un excelente balance de aminoácidos en la composición de sus semillas (Gorinstein *et al.*, 2002). Además, el amaranto puede ser consumido por personas celiacas o alérgicas a los cereales (Fritz *et al.*, 2011). En el mismo contexto, los resultados obtenidos en este estudio mostraron que el aislado de proteína de amaranto tiene un alto potencial en la reducción de los niveles de acrilamida en alimentos térmicamente procesados. En particular, los resultados fueron especialmente buenos en galletas, donde se observó una reducción del 89 %. Esta reducción fue mayor a la obtenida cuando se utilizaron asparaginasa, caseína, sacarosa, ácido tartárico o bicarbonato de amonio como ingredientes para la elaboración de galletas. (Anese *et al.*, 2011; Graf *et al.*, 2006; Levine y Smith, 2005; Vass *et al.*, 2004). Además, esta reducción se logró sin observar algún cambio en el color o la dureza de las galletas.

De manera similar, se obtuvo una reducción de acrilamida en un rango de 51-62%, cuando el aislado de proteína de amaranto se utilizó para preparar frituras de tortilla. A pesar de la escasez de estrategias para reducir la formación de acrilamida en productos a base de maíz nixtamalizado como la tortilla, los resultados obtenidos en este estudio

sugieren una manera simple y efectiva para limitar la formación de acrilamida en este tipo de productos. Además, los porcentajes de reducción fueron similares en las tortillas fritas u horneadas. Sin embargo debe señalarse que el contenido de acrilamida fue el doble cuando las tortillas se frieron que cuando éstas se hornearon.

De manera diferente a lo observado en las galletas e independientemente del procesamiento térmico utilizado, la adición de proteínas de amaranto a las hojuelas de tortilla incrementó su dureza (16-36 %) en comparación con el control frito u horneado. Sin embargo los valores de fuerza de fractura obtenidos fueron similares a aquellos reportados para frituras de tortilla comerciales (5.33-6.17 N) (Lujan-Acosta y Moreira, 1997) y menores (8.73-9.63 N) a los descritos por Tseng *et al.*, (1996).

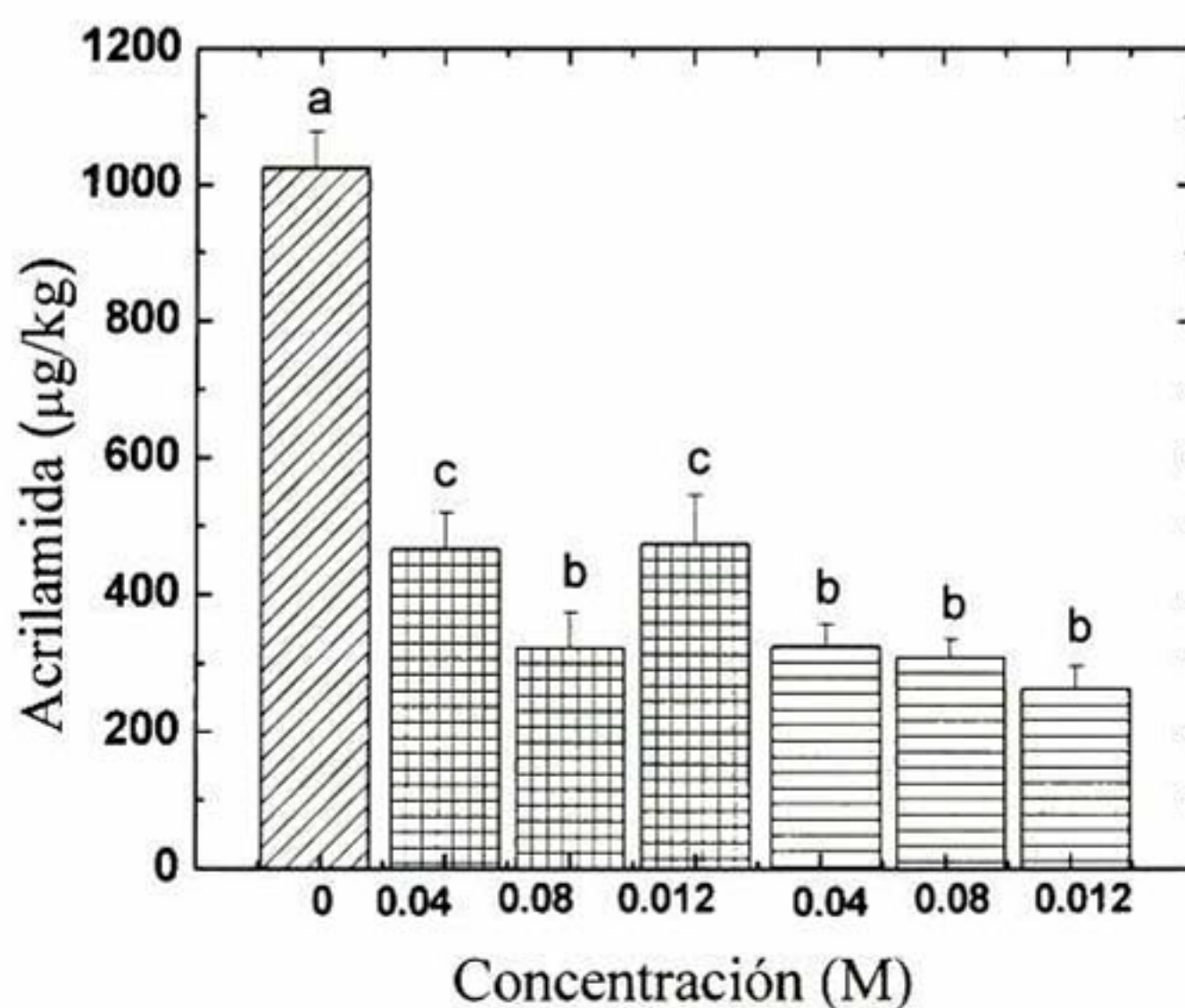
Los resultados anteriores son consecuencia de la composición de los aminoácidos presentes en la proteína de amaranto. La reducción de acrilamida producida por las proteínas es el resultado de la competencia entre la asparagina y los aminoácidos residuales por los compuestos carbonílicos además de la reacción de los grupo amino y sulfuro con la acrilamida ya formada (Hidalgo *et al.*, 2010; Zamora *et al.*, 2010). En este contexto, la proteína de amaranto es adecuada especialmente para la reducción de acrilamida debido a su riqueza en lisina (4.8-6.4 g/100 g de proteína). Además, su concentración de aminoácidos sulfurados (3.7-5.5 g/100 de proteína) es más alta que la de las legumbres más importantes (~1.4 g/100 g de proteína) (Guzmán-Maldonado y Paredes-López, 1998). Por esta razón, la sustitución parcial de la harina de trigo por el aislado de proteína de amaranto arrojó una alta disminución de acrilamida tanto en sistemas modelo como en alimentos. Por el contrario, el uso de la harina de amaranto (en la cual el contenido de proteína fue muchas más bajo que en el aislado de proteína) no mostró ningún efecto en el contenido de acrilamida.

Aunque es necesario llevar a cabo una evaluación sensorial detallada de las galletas y botanas de tortilla preparadas con el aislado proteico de amaranto, el uso del mismo puede ser una manera atractiva de mitigar la formación de acrilamida y mejorar las características nutrimentales de los alimentos en los cuales el aislado de proteína de amaranto puede ser utilizado para su formulación.

6.3 Disminución de la formación de acrilamida en frituras de tortilla debido a la adición de iones de calcio y magnesio.

La adición de iones metálicos a la masa para preparar las frituras de tortilla disminuyó el pH en una cantidad que dependió de la concentración de sal de calcio o magnesio agregada. Ha sido reportado que la disminución del pH provoca una reducción en la formación de acrilamida (Jung *et al.*, 2003). El pH de la masa control fue 7.80. De este modo, la masa preparada con 0.4, 0.8 y 0.12 M de CaCl_2 y MgCl_2 alcanzaron un pH de 7.40, 7.23, 7.18 y 7.25, 7.19, 7.14, respectivamente.

La **Figura 13** muestra los niveles de acrilamida de las frituras de tortilla cuando el proceso de freído se llevó a cabo durante 30 s a 190°C . La concentración de acrilamida en las frituras de tortilla freídas a 190°C y durante 30 s (control) fue $1024 \pm 53 \mu\text{g}/\text{kg}$. Esta concentración fue 4 veces mayor al estimado por la FDA en su reporte sobre la concentración de acrilamida en alimentos (FDA, 2004).



† Cloruro de calcio (barras cuadrículadas), cloruro de magnesio (barras con rayas horizontales). Para comparar se incluyeron frituras de tortilla preparadas sin ninguna sal (barras con rayas diagonales).

* Las barras con letras distintas son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

Figura 13. Efecto del cloruro de calcio y del cloruro de magnesio en el contenido de acrilamida en frituras de tortilla freídas a 190°C por 30 s.

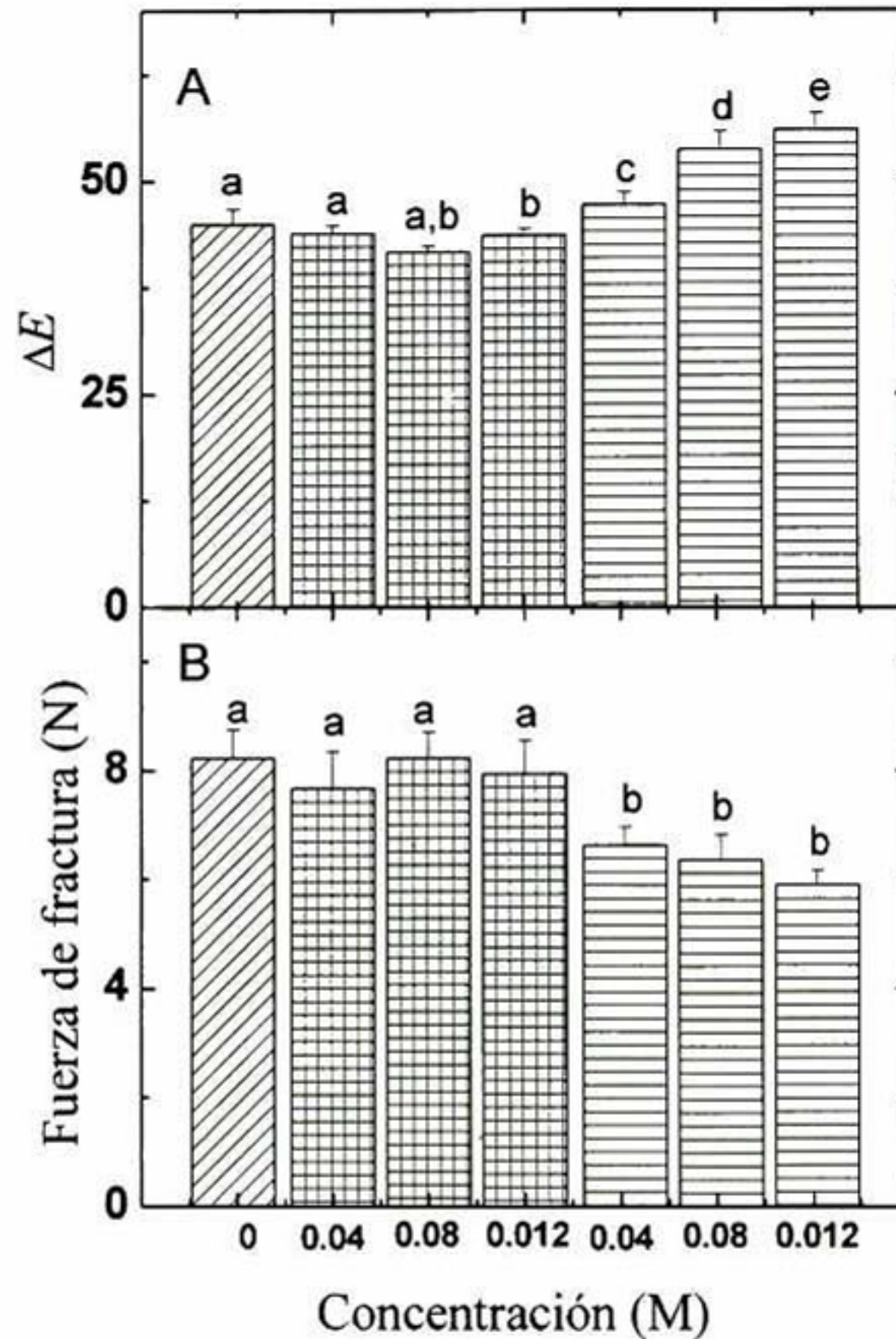
La presencia de CaCl_2 o MgCl_2 en la masa para preparar frituras de tortilla resultó en una disminución significativa ($p < 0.05$) de los niveles de acrilamida. La adición a la masa de soluciones con concentraciones de 0.4, 0.8 y 0.12 M de CaCl_2 redujo en un 53, 68 y 53 % respectivamente, los niveles de acrilamida.

Resultados muy similares se obtuvieron en cuando se usaron las mismas concentraciones de MgCl_2 . Sin embargo, la adición del MgCl_2 resultó en una mayor disminución en el contenido de acrilamida que la adición de CaCl_2 en el rango de concentraciones estudiado. La adición a la masa de soluciones con concentraciones de 0.4, 0.8 y 0.12 M de MgCl_2 redujo en un 69, 70 y 74 % respectivamente, los niveles de acrilamida. Sin embargo, la reducción de acrilamida producida por la adición de MgCl_2 fue similar independientemente de la concentración utilizada. Resultados similares han sido reportados para frituras de papa (Gökmen y Senyuva, 2007), productos elaborados a partir de trigo (Levine y Ryan, 2009; Sadd *et al.*, 2008), cereales diversos (Kukurova *et al.*, 2009) y galletas (Añar *et al.*, 2010), donde el uso de iones metálicos ha sido capaz de reducir los niveles de acrilamida. Recientemente se sugirió que la adición de iones metálicos divalentes inhibe la base de Schiff, debido a que los iones proporcionan una elevada estabilidad térmica a las interacciones de la matriz alimentaria con la asparagina, haciéndola menos disponible para reaccionar con los compuestos carbonílicos capaces de degradar este aminoácido en acrilamida (Gökmen y Senyuva, 2007a).

Por otra parte, aunque la presencia del MgCl_2 previene significativamente la formación de acrilamida en las frituras de tortilla durante el freído, se detectó un sabor amargo residual en las frituras tratadas con el MgCl_2 , este inconveniente no se percibió en las frituras elaboradas con CaCl_2 .

La **Figura 14** muestra los efectos de las diferentes concentraciones de CaCl_2 y MgCl_2 en el color y en la textura de las frituras elaboradas. La adición de CaCl_2 no produjo diferencias significativas en el color (**Figura 14A**) y en la fuerza de fractura (**Figura 14B**) de las frituras de tortilla. En contraste, cuando el MgCl_2 se utilizó, todas las formulaciones fueron diferentes significativamente ($p < 0.05$) de la muestra control. La adición de MgCl_2 a la masa disminuyó la fuerza de fractura de las frituras de tortilla en función de la cantidad

de sal agregada. Matiacevich *et al.*, (2010) sugirieron a partir de estudios realizados en sistemas modelo, que el oscurecimiento no enzimático puede ser acelerado por la presencia de $MgCl_2$ como consecuencia de un incremento en la hidrólisis de los azúcares presentes y de una reducción en la movilidad de agua provocado por la sal, contrarrestando el efecto inhibitorio que tiene el agua en la reacción de Maillard.



† Cloruro de calcio (barras cuadrículadas), cloruro de magnesio (barras con rayas horizontales). Para comparar se incluyeron frituras de tortilla preparadas sin ninguna sal (barras con rayas diagonales).
 * Las barras con letras diferentes en el mismo panel son diferentes significativamente ($p < 0.05$).

Figura 14. Efecto del cloruro de calcio y del cloruro de magnesio en el color (A) y en la fuerza de fractura (B) en frituras de tortilla freídas a $190^{\circ}C$ por 30 s.

De esta manera, concentraciones elevadas de $MgCl_2$ favorecen la hidrólisis del almidón presente en la masa, incrementando la concentración de azúcares capaces de participar en la reacción de Maillard durante el freído, lo que resultó en valores de fuerza de fractura más

bajos que el control como consecuencia de la formación de de grietas en las estructura de las frituras de tortilla.

El uso de sales de iones divalentes como el CaCl_2 demostró ser una estrategia sencilla, económica y efectiva para reducir la formación de acrilamida en las frituras de tortilla, aunque es necesario llevar a cabo una evaluación sensorial detallada de las frituras de tortilla preparadas con las sales de iones divalentes. Los efectos adversos señalados para el MgCl_2 en las propiedades sensoriales de las frituras obtenidas en este estudio pueden ser considerados como una limitante significativa para su aplicación en la elaboración de alimentos a base de maíz nixtamalizado

6.4 Efecto del hidróxido de calcio durante la nixtamalización sobre el contenido de acrilamida en frituras de tortilla

El Cuadro 1 muestra el análisis composicional de las harinas obtenidas. El contenido de grasa fue de 41.42-44.97 g/kg y no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos. Estos valores son similares a los reportados por Palacios-Fonseca *et al.*, (2009) para harinas de maíz nixtamalizado comerciales y tradicionales (38.9-41.3 g/kg).

Cuadro 1. Composición química de las harinas de maíz obtenidas con diferentes concentraciones de hidróxido de calcio durante la nixtamalización.

Parámetro ^{a,b}	Ca(OH) ₂			
	0.5%	1.0%	1.5%	2.0%
Ceniza (g/kg)	15.98±0.12 a	17.82±0.11 b	20.09±0.15 c	21.35±0.01 d
Grasa (g/kg)	41.42±1.17 a	44.97±2.34 a	43.67±2.46 a	43.78±1.43 a
Proteína (g/kg)	84.44±1.20 a	83.15±1.44 a	80.86±3.62 a	83.14±0.77 a
Fibra dietaria total (g/kg)	175.83±2.64 a	128.02±4.13 b	116.02±1.97 c	122.02±1.94 bc
Fibra dietaria insoluble (g/kg)	135.59±1.55 a	97.11±1.03 b	71.62±3.85 c	71.92±6.12 c
Fibra dietaria soluble (g/kg)	40.23±4.19 b	30.91±3.10 c	45.03±2.38 ab	50.11±4.21 a
Calcio (g/kg)	0.87±0.01 a	1.55±0.02 b	2.67±0.04 c	3.18±0.03 d
pH	6.39±0.01a	7.18±0.06 b	8.50±0.05 c	8.71±0.01 d

^a Medias con letra diferente en la misma fila son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

^b Base seca.

Así mismo, el contenido de proteína en las harinas fue de 80.86-84.44g/kg y no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos. Los valores obtenidos son

similares a los mostrados por Palacios-Fonseca *et al.*, (2009), que reportaron 83.4-94.6 g/kg, y menores a los mostrados por Campechano-Carrera *et al.*, (2012) (85.0-89.0) en harinas elaboradas por un proceso de nixtamalización ecológica.

Por otra parte, se registró un aumento proporcional en el contenido de ceniza y de calcio, con respecto a la concentración de hidróxido de calcio utilizada para la nixtamalización ($r=0.99$, $p<0.05$) (**Cuadro 2**). El contenido de cenizas está asociado con el contenido de minerales, en especial el calcio. Los contenidos de ceniza para las harinas procesadas con 0.5 y 1.0 % de hidróxido de calcio variaron de 15.98 a 17.82 g/kg; en tanto que las procesadas con 1.5 y 2.0 % presentaron valores de 20.09 y 21.35 g/kg. Estos valores fueron más altos a los reportados por Bressani *et al.*, (2001). En el mismo sentido, los contenidos de calcio para las harinas procesadas con 0.5 y 1.0 % de hidróxido de calcio variaron de 0.87 a 1.55 g/kg; en tanto que para las procesadas con 1.5 y 2.0 % se obtuvieron valores de 2.67 y 3.18 g/kg. Es conocido que la adición de hidróxido de calcio durante el proceso tradicional de nixtamalización incrementa considerablemente el contenido de calcio en comparación al encontrado en el grano de maíz sin nixtamalizar (Bressani *et al.*, 1958; Serna-Saldivar *et al.*, 1991; Serna-Saldivar *et al.*, 1992). El contenido de calcio en las harinas depende de varios factores tales como la cantidad de álcali agregado, la temperatura de cocción, el tiempo de reposo del nixtamal y la intensidad del lavado para eliminar el exceso de cal del maíz cocido (Gómez-Aldapa *et al.*, 1996; Palacios-Fonseca *et al.*, 2009). En este estudio, las diferencias encontradas se debieron principalmente a la cantidad de hidróxido de calcio adicionada en cada tratamiento.

El contenido de fibra dietaria total y fibra dietaria insoluble se correlacionó de manera negativa con la concentración de hidróxido de calcio utilizada en la preparación de las harinas (**Cuadro 2**). Las harinas procesadas con 0.5 y 1.0 % de hidróxido de calcio mostraron valores superiores de fibra dietaria total (175.83 a 128.02 g/kg) en relación con las procesadas con 1.5 % (116.02 g/kg) y 2.0 % (122.02 g/kg). Los estudios realizados por Martínez-Flores *et al.*, (2002) y Campechano-Carrera *et al.*, (2012) sugieren que el contenido de fibra dietaria en las harinas puede incrementarse si se logra una mayor retención del pericarpio en el grano nixtamalizado. Según Gutiérrez-Cortes *et al.*, (2009), la combinación de calor y álcali durante la nixtamalización tradicional actúa de forma

agresiva en las capas externas del pericarpio y promueve la remoción parcial de fibra insoluble o de hemicelulosa y lignina de la matriz de fibra en el pericarpio. Los valores altos de fibra dietaria mostrados en la harina procesada con 0.5 % de hidróxido de calcio, denotan una mayor retención del pericarpio, el cual se reflejó en la elevada concentración de fibra dietaria insoluble presente (135.59 g/kg).

Cuadro 2. Coeficientes de correlación entre el hidróxido de calcio usado en la nixtamalización, la composición química de las harinas y el contenido de acrilamida de las frituras elaboradas (n=3) *,**

	% Ca(OH) ₂	H-G	H-P	H-FDT	H-FDI	H-FDS	H-Ce	H-pH	H-Ca	AF30s	AF45s
H-G	ns										
H-P	ns	ns									
H-FDT	-0.81	-0.51	0.47								
H-FDI	-0.92	-0.46	0.48	0.96							
H-FDS	0.64	ns	ns	ns	-0.47						
H-Ce	0.99	ns	ns	-0.84	-0.94	0.64					
H-pH	0.97	ns	-0.44	-0.86	-0.96	0.64	0.99				
H-Ca	0.99	ns	ns	-0.82	-0.94	0.67	1.00	0.99			
AF30s	-0.56	ns	ns	ns	0.50	-0.77	-0.60	-0.67	-0.65		
AF45s	-0.53	ns	ns	ns	0.47	-0.78	-0.58	-0.60	-0.59	0.71	

* Significativo a $p < 0.05$; ns= no significativo

** % Ca(OH)₂=porcentaje de hidróxido de calcio; H-G= contenido de grasa en la harina; H-P= contenido de proteína en la harina; H-FDT= contenido de fibra dietaria total en la harina; H-FDS= contenido de fibra dietaria soluble en la harina; H-FDI= contenido de fibra dietaria insoluble en la harina; H-Ce= contenido de ceniza en la harina; H-pH= pH de la harina; H-Ca= contenido de calcio en la harina; AF30s= contenido de acrilamida en frituras de tortilla procesadas durante 30 segundos; AF45s= contenido de acrilamida en frituras de tortilla procesadas durante 45 segundos.

En la **Figura 15** se muestra el contenido de acrilamida de las frituras de tortilla en función del contenido de calcio de las harinas obtenidas. La acrilamida estuvo presente en todos los tratamientos, sin embargo, independientemente del tiempo de freído, las frituras de tortilla preparadas a partir de harinas nixtamalizadas con 1.0 % de hidróxido de calcio tuvieron los niveles más altos de acrilamida (688.55 y 1024.17 $\mu\text{g}/\text{kg}$ a 30 y 45 s, respectivamente). Así, el porcentaje de reducción del contenido de acrilamida en las frituras varió en función de la cantidad de calcio presente en las harinas y el tiempo de freído: para las muestras freídas durante 30 s se obtuvo una reducción de 22, 53 y 36 % para las harinas preparadas con 0.5, 1.5 y 2.0 % de hidróxido de calcio respectivamente. Mientras que para

las muestras freídas a 45 s el porcentaje de reducción de acrilamida en las frituras obtenidas a partir de harinas nixtamalizadas con 1.5 y 2.0 % de hidróxido de calcio fue de 24 y 21 %. De este modo, las únicas diferencias observadas son la cantidad de acrilamida formada (la cual se incrementó con el tiempo de freído) y el porcentaje de reducción de acrilamida causado por el incremento del contenido de calcio en las harinas (el cual disminuyó al incrementarse el tiempo de freído).

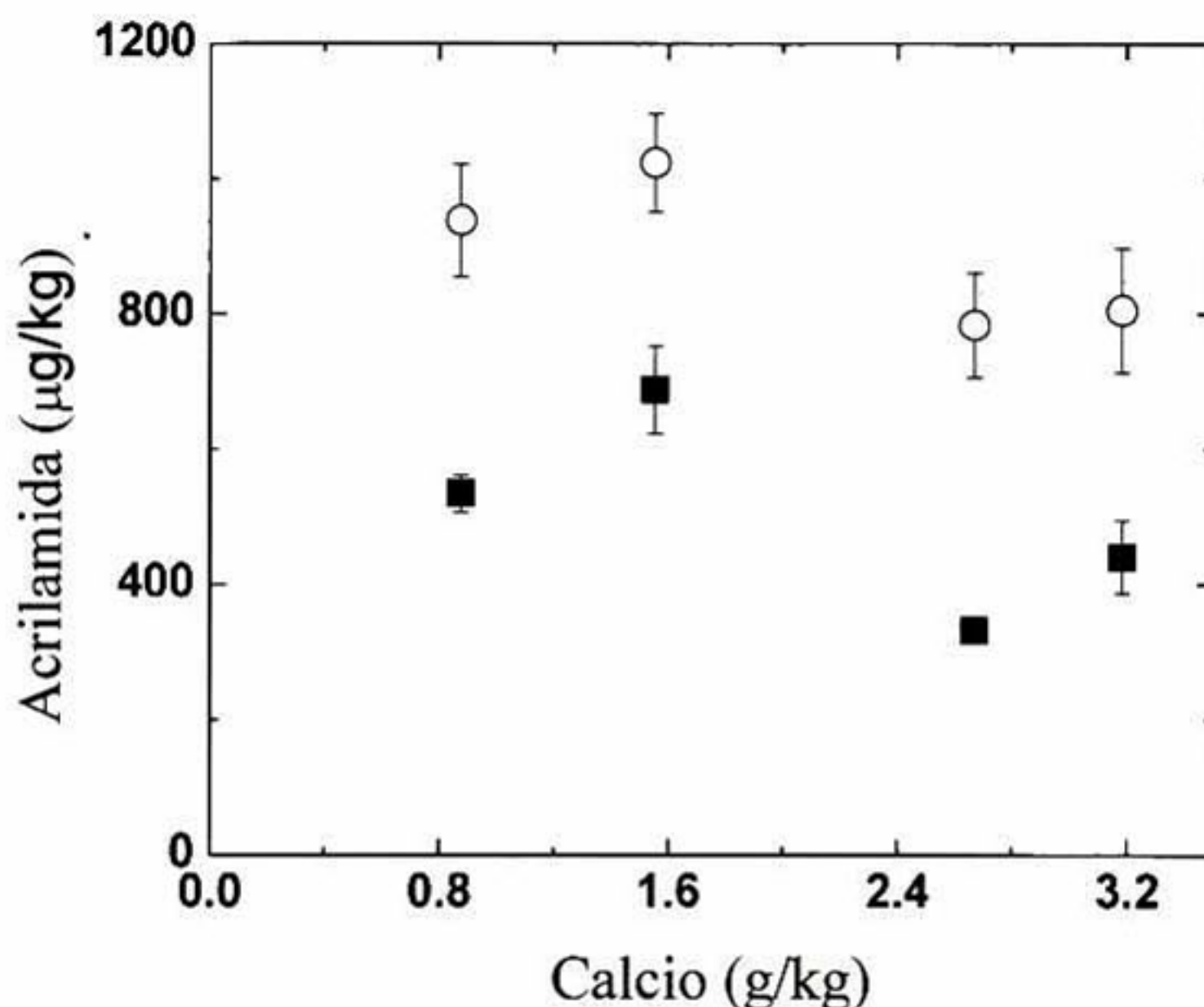


Figura 15. Efecto del contenido de calcio en la harina de maíz nixtamalizado en el contenido de acrilamida de frituras de tortilla procesadas a 30 (■) y 45 (○) segundos.

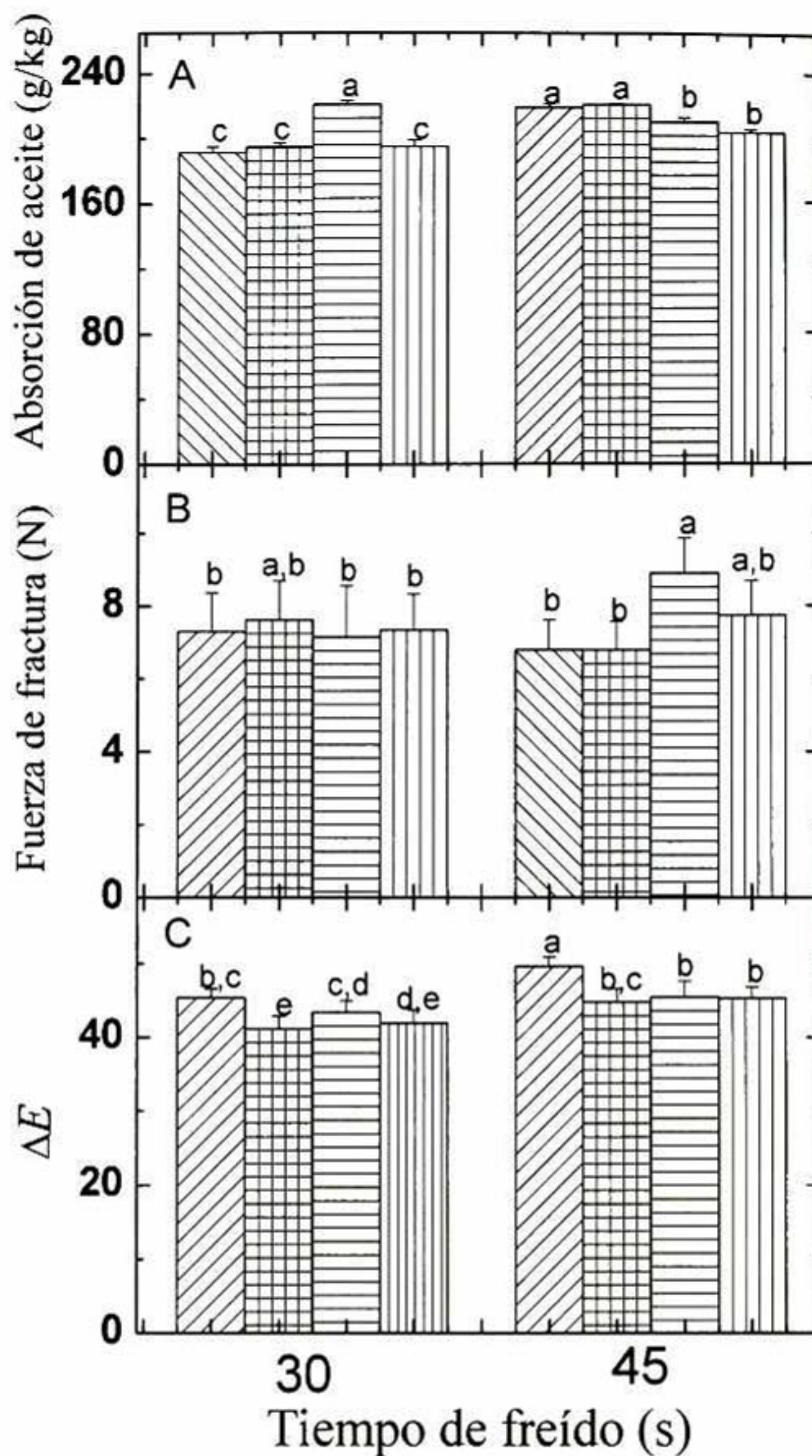
Gökmen y Şenyuva, (2007a) y Açar *et al.*, (2012) utilizaron de manera exitosa cloruro de calcio para reducir significativamente el contenido de acrilamida en papas fritas y galletas. A pesar de la prometedora eficiencia de la adición de iones de calcio como estrategia para reducir el contenido de acrilamida en los alimentos, pruebas llevadas a cabo a nivel laboratorio arrojaron resultados sensoriales poco favorables (presencia de un sabor amargo), lo que ha dificultado que este enfoque se utilice en pruebas a mayor escala (CIAA Toolbox, 2009). Sin embargo, lo antes mencionado no representa un inconveniente para el caso de las frituras de tortilla, debido a que el hidróxido de calcio se utiliza hasta 3 % p/p durante su elaboración y es uno de los ingredientes responsables de su sabor característico.

Las frituras de maíz preparadas con harinas con un pH alcalino mostraron una menor concentración de acrilamida. Se ha reportado en sistemas modelo que la reacción de formación de acrilamida se favorece en un rango de pH de 6-8 (Zamora *et al.*, 2009). En el mismo sentido, el contenido de acrilamida se correlacionó negativamente con el contenido de fibra soluble (**Cuadro 2**). Comúnmente, la fibra soluble está compuesta de pectinas, gomas y fructooligosacáridos. Estos compuestos se recomendaron como ingredientes capaces de inhibir la formación de acrilamida en alimentos y sistemas modelo (Zeng *et al.*, 2010).

La absorción de aceite, la textura y el color son considerados los parámetros más importantes de aceptabilidad y calidad de los productos fritos. La **Figura 16** muestra el efecto de la concentración del hidróxido de calcio utilizado en la nixtamalización y del tiempo de procesamiento en los parámetros antes mencionados de las frituras de tortilla elaboradas. Independientemente del tiempo de procesamiento, las frituras de tortilla con una mayor absorción de aceite (**Figura 16A**) mostraron una menor fuerza de fractura (**Figura 16B**), sin embargo, no se observaron cambios importantes entre los tratamientos.

Los valores de absorción de aceite y fuerza de fractura obtenidos son similares a los descritos previamente por Lujan-Acosta y Moreira (1997) para frituras de tortilla comerciales. Por otra parte, el color se ha correlacionado directamente con la generación de acrilamida en alimentos térmicamente procesados (Majcher y Jelen, 2007; Lukac *et al.*, 2007; Pedreschi *et al.*, 2007; Gökmen y Şenyuva, 2006). En este estudio, independientemente del tiempo de procesamiento no se registró una correlación entre el color y la formación de acrilamida entre los tratamientos.

El mayor cambio de color (**Figura 16C**) correspondió a las frituras de tortilla elaboradas a partir de la harina procesada con 0.5 % de hidróxido calcio. Este resultado puede explicarse con base al alto contenido de fibra insoluble de la harina. Según Palermo *et al.*, (2012), la fibra es capaz de reducir la disponibilidad de agua durante el freído y de esa manera acelerar la reacción de Maillard.



† 0.5 % (barras con rayas diagonales); 1.0 % (barras cuadriculadas); 1.5 % (barras con rayas horizontales); 2.0 % (barras con rayas verticales).

* Las barras con letras diferentes en el mismo panel son diferentes significativamente ($p < 0.05$).

Figura 16. Efecto del Ca(OH)_2 adicionado en la nixtamalización en: (A) absorción de aceite; (B) textura; y (C) color, en frituras de tortilla freídas a 180°C por 30 y 45 segundos.

Aunque es necesario llevar a cabo una evaluación sensorial de las frituras de tortilla elaboradas, los resultados mostraron que los productos obtenidos tuvieron características aceptables en cuanto a color, textura y absorción de aceite. Por lo tanto, a pesar de la

escasez de estrategias para reducir la formación de acrilamida en productos a base de maíz nixtamalizado, la variación de la alcalinidad puede ser una manera simple y efectiva de reducir la formación de acrilamida durante la elaboración de frituras de tortilla y otros alimentos a base de maíz nixtamalizado procesados térmicamente.

6.5 Efecto de la actividad de agua en la tortilla y su relación con la formación de acrilamida después del freído.

La **Figura 17** muestra las isotermas de desorción de la tortilla utilizada para elaborar frituras (TPF) a 25, 30 y 35°C. Se muestra que las 3 isotermas tienen una forma sigmoïdal, descrita por Brunauer *et al.*, (1940) como tipo II. Al incrementar la temperatura manteniendo constante la actividad de agua (a_w), la humedad desorbida por la TPF aumenta, debido a que la desorción es un proceso endotérmico. Los datos experimentales de las isotermas fueron modelados con la Ecuación de GAB (Quirijns *et al.*, 2005), obteniéndose valores de P menores a 5 % que indican un ajuste adecuado (Lomauro y *et al.*, 1985).

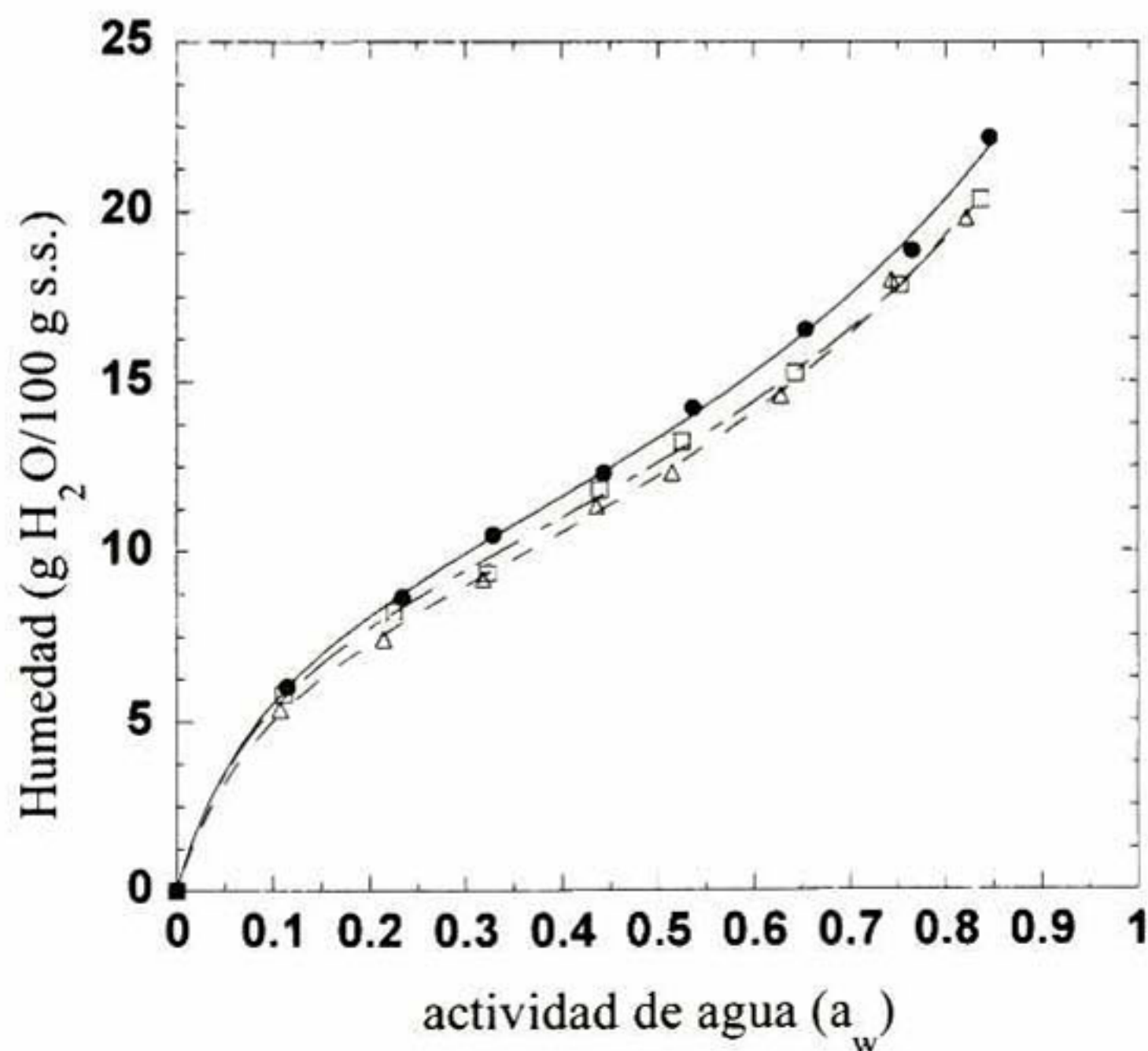


Figura 17. Isotermas de desorción de humedad a 25 (●), 30 (□) y 35 (△) °C de la tortilla utilizada para elaborar frituras.

El **Cuadro 3** resume los valores de los parámetros de la Ecuación de GAB a las 3 temperaturas estudiadas. El contenido de humedad en la monocapa (M_0) predicho con la ecuación de GAB fue de 10.115, 9.461 y 8.955 (g agua/100 g sólido seco) (correspondientes a a_w de 0.316, 0.308 y 0.299) para 25, 30 y 35 °C, respectivamente. Se ha asumido que el valor de M_0 es un método para estimar la cantidad de agua ligada a sitios polares específicos en alimentos deshidratados y en ese valor de M_0 , un producto debería ser estable contra reacciones de deterioro (Rahman y Labuza, 1999; Beristáin *et al.*, 2002; Azuara y Beristáin, 2006). La constante C representa una medida de la fuerza de atracción entre el agua y los sitios de sorción. Los valores obtenidos son mayores a los reportados por Polou *et al.*, (1997) en frituras de tortilla comerciales. En este estudio, los valores de K aumentaron con el incremento de la temperatura. El valor de K proporciona una medida de la interacción de las moléculas de agua en la multicapa con los sitios de sorción. Cuando $K=1$, las propiedades del agua presente en la multicapa son similares a las del agua libre (Pérez-Alonso *et al.*, 2006).

Cuadro 3. Parámetros estimados de la ecuación de GAB para la tortilla utilizada en la elaboración de frituras de maíz.

	25°C	30°C	35°C
M_0 (g H ₂ O/100 g s.s.)	10.11	9.46	8.96
C	14.67	15.72	14.26
K	0.66	0.67	0.70
R	0.99	0.99	0.99
$P\%$	0.96	1.36	1.58

Las variaciones en la entropía diferencial e integral con respecto a la a_w de la TPF están representadas en la **Figura 18**. La intersección de las curvas es encontrada en la mínima entropía integral, y puede observarse que, conforme las tortillas desorben humedad, su entropía integral cae a un mínimo. Es en este punto que la estabilidad máxima puede ser asumida, ya que es donde más ordenadas y más fuertemente unidas se encuentran las moléculas de agua con el alimento y se considera como el contenido de humedad correspondiente a la monocapa (Hill *et al.*, 1951, Domínguez *et al.*, 2006). El valor de la mínima entropía integral a 30°C se encontró a una actividad de agua de 0.53 y un contenido

de humedad de 13.2 g de agua por g de sólido seco. Es importante notar que pese a que la mínima entropía integral ocurre en una determinada a_w , los cambios en la entropía en la vecindad de este punto son tan pequeños que es conveniente establecer una zona de mínima entropía la cual resultó en un intervalo de actividades de agua de 0.45 a 0.62.

El criterio de la mínima entropía integral ha sido comprobado experimentalmente en varios estudios (ver por ejemplo: Beristáin *et al.*, (1994); Beristáin *et al.*, 2002; Bonilla *et al.*, 2010; Domínguez *et al.*, 2007; Carrillo-Navas *et al.*, 2011; Rascón *et al.*, 2011; Viveros-Contreras *et al.*, 2013). Es importante notar que el punto de mínima entropía integral, y teóricamente de máxima estabilidad, es diferente que los valores de M_o calculados con la ecuación de GAB. El valor de M_o algunas veces es sólo un valor teórico que no tiene ningún significado físico práctico, pues la teoría de BET que también está presente en la ecuación de GAB tiene muchas limitaciones que no se ajustan a la realidad (Dollimore *et al.*, 1976).

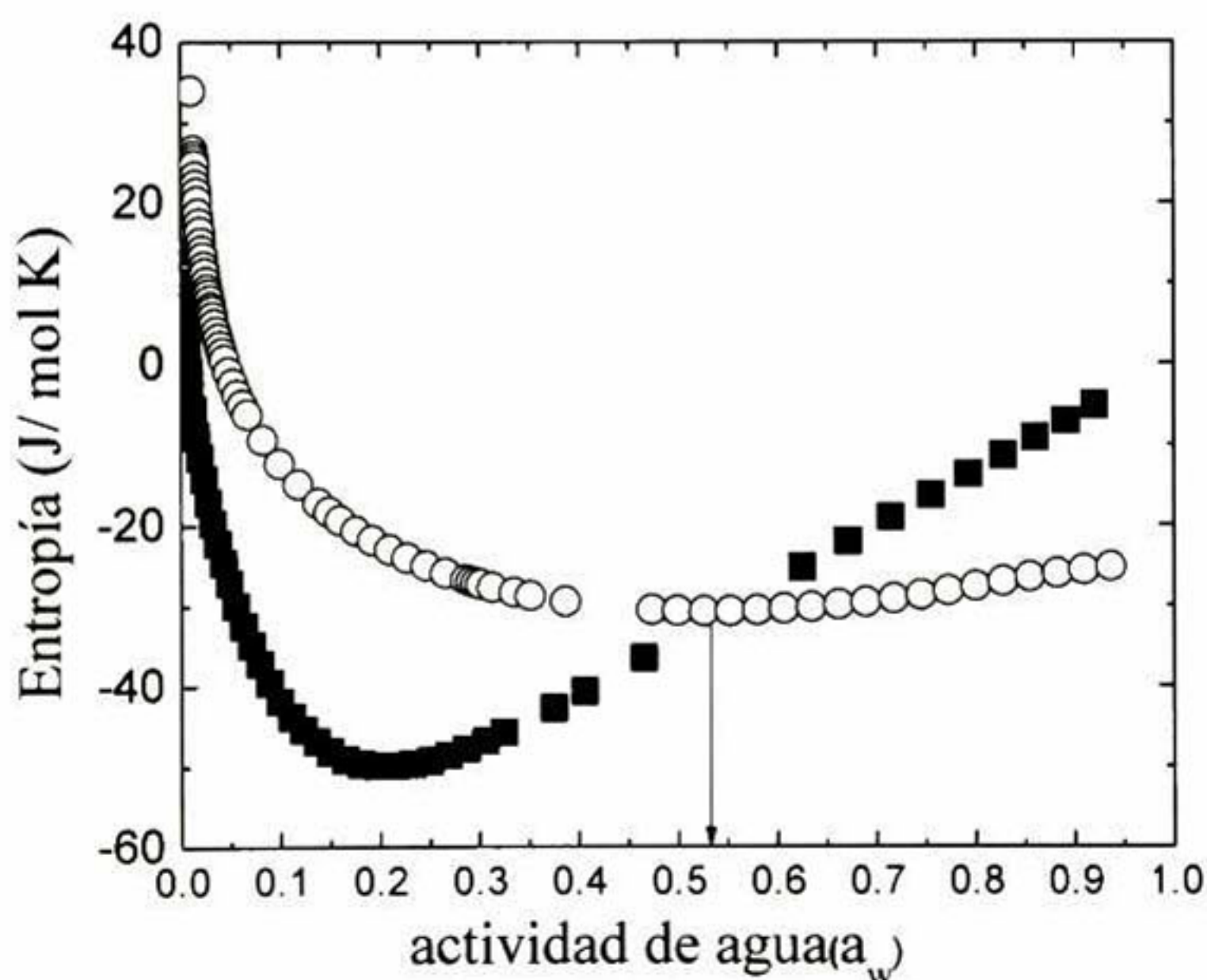


Figura 18. Cambios en la entropía integral (○) y diferencial (■) a 30°C en función de la actividad de agua de tortilla utilizada para elaborar frituras.

En este contexto, la reacción de Maillard (principal vía de formación de acrilamida) es una reacción que requiere la interacción de dos reactivos. Por lo tanto, aquellos factores que afectan la concentración y la movilidad de estos reactivos tendrán un impacto significativo

en la velocidad de reacción (Bell, 2007). De este modo, el efecto plastificante del agua influye significativamente en la velocidad de la reacción de Maillard (Bell *et al.*, 1998; White y Bell, 1999).

En el punto de mínima entropía el agua se encuentra menos reactiva para llevar a cabo reacciones de deterioro en el alimento, por lo tanto en este punto la movilidad de los precursores de la acrilamida se reducirá, afectando la formación de la misma durante el procesamiento térmico. En la **Figura 19** se muestra el contenido de acrilamida de las frituras de tortilla en función de la a_w de la TPF almacenada durante 4 y 10 días antes del freído.

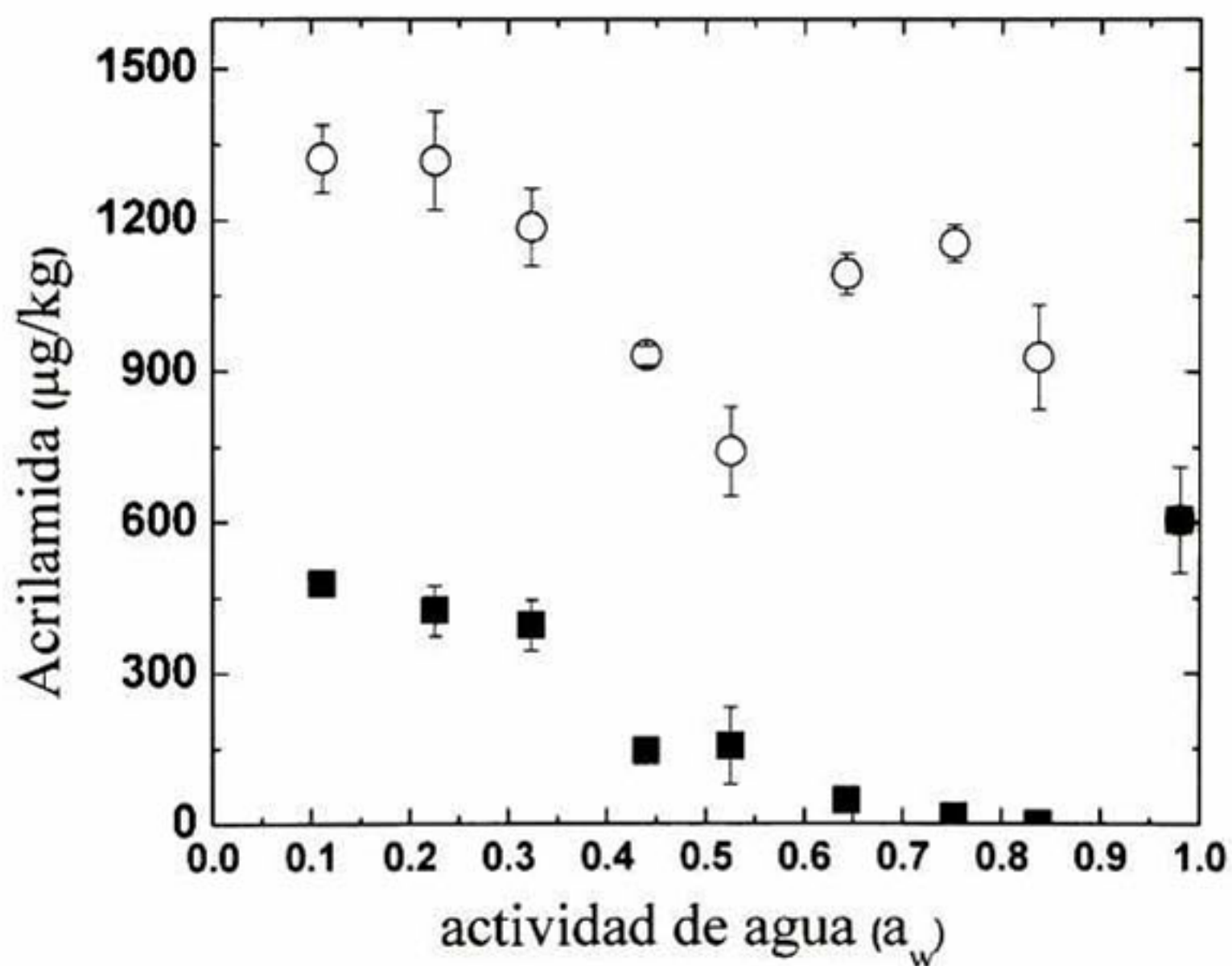


Figura 19. Cambios en el contenido de acrilamida en función de la actividad de agua de frituras elaboradas a partir de tortilla almacenada 4 (○) y 10 (■) días.

El tiempo de almacenamiento de la TPF influyó significativamente en el contenido de acrilamida de las frituras elaboradas. Se observaron niveles más bajos de acrilamida en las frituras elaboradas a partir de tortilla almacenada durante 10 días (FT10) en todo el rango de a_w estudiado. Se obtuvo una reducción mayor al 80% en aquellas frituras elaboradas a partir de tortilla equilibrada en un rango de a_w de 0.44-0.84 con respecto a las elaboradas a partir de tortilla sin almacenar y con un contenido de agua mayor ($a_w=0.98$). Sin embargo, los bajos niveles encontrados de acrilamida en este tratamiento no pueden ser atribuidos al

efecto de la movilidad del agua sino a la disminución del pH ocurrida durante el almacenamiento (**Figura 20**).

Los alimentos a base de maíz son ricos en carbohidratos y se fermentan fácilmente, dicho proceso ha sido ampliamente reportado como un instrumento para disminuir la formación de acrilamida (Fredriksson *et al.*, 2004; Baardseth *et al.*, 2006; Sadd *et al.*, 2008). Además, la fermentación por levaduras y bacterias es capaz de reducir los niveles de asparagina debido a que los aminoácidos son una fuente de nitrógeno para estos microorganismos (Benedicto de Barber *et al.*, 1989; Fredriksson *et al.*, 2004). La elevada actividad de agua con que la tortilla fue almacenada, provocó el desarrollo de estos microorganismos y otras reacciones de deterioro durante el proceso de desorción ocurrido en la tortilla para alcanzar la a_w deseada.

A pesar de lo prometedor que puede resultar el almacenamiento de la tortilla para reducir los niveles de acrilamida en las frituras de tortilla, es necesario un análisis sensorial y microbiológico de los productos para asegurar que son mantenidas las características organolépticas de las frituras de tortilla elaboradas.

Las tortillas pierden humedad rápidamente al enfriarse. Lo anterior se aprovechó para minimizar las reacciones de deterioro y observar únicamente el efecto de la a_w . Para acelerar el equilibrio de las muestras de tortilla, éstas se dejaron al ambiente durante 4 horas y se logró una reducción de la a_w de 0.98 a 0.82. Las tortillas deshidratadas parcialmente se colocaron en las celdas de equilibrio y se determinó su a_w cada 24 horas durante 4 días que fue el tiempo en el que se alcanzó la a_w deseada. Las frituras elaboradas a partir de tortilla almacenada durante 4 días (FT4) mostraron niveles más elevados de acrilamida que las FT10 en todo el rango de a_w estudiado, lo que indica que se evitó la aparición de las reacciones de deterioro con la deshidratación parcial de la tortilla antes del almacenamiento. Así mismo, el pH de las tortillas utilizadas para elaborar las frituras se mantuvo constante (**Figura 20**).

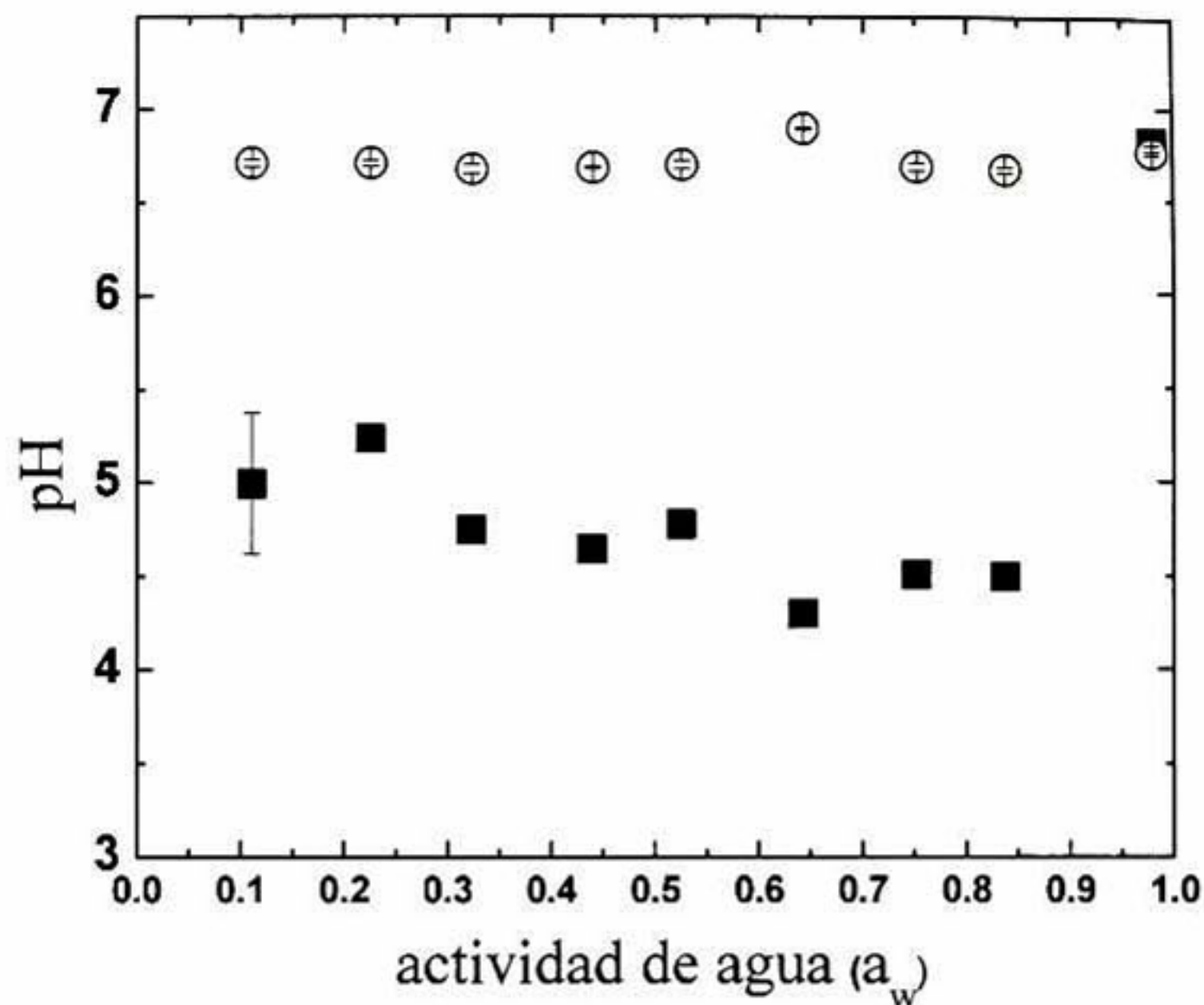


Figura 20. Cambios de pH en función de la actividad de agua de tortilla utilizada para elaborar frituras almacenada 4 (○) y 10 (■) días

A partir de los resultados obtenidos se pueden destacar tres efectos importantes de la a_w en la formación de acrilamida : a) las frituras elaboradas a partir de tortilla sin almacenar y con una elevada a_w (58.73 g de agua por g de sólido seco) mostraron los niveles de acrilamida más bajos ($605.89 \pm 105 \mu\text{g}/\text{kg}$), lo anterior sugiere una dilución de los precursores formadores de acrilamida causada por el alto contenido de humedad, este efecto es similar al reportado para la reacción de Maillard en donde se observa una reducción de la velocidad de reacción causado por la dilución de los reactivos en a_w cercanas a 1. Además, el agua es producida durante la reacción, por lo que tiene un efecto inhibitorio a elevadas actividades de agua (Ames, 1990; Ross, 1995); b) una disminución de la formación de acrilamida en la zona de la mínima entropía integral. Esta zona se caracteriza por fuertes interacciones agua-alimento que provocan una reducción de la difusión y la movilidad del sistema afectando el desarrollo de las reacciones químicas durante el freído como la formación de acrilamida; c) un incremento en la formación de acrilamida dependiente de la reducción de la a_w y del contenido de humedad del sistema.

Este incremento puede estar ligado con la concentración de los precursores y con la evaporación del agua que se lleva a cabo durante el inicio del freído, la temperatura de la tortilla no excederá los 100°C hasta que cierta cantidad de agua sea evaporada. Debido a que la acrilamida no se forma a temperaturas menores a 100 °C, una elevada formación de acrilamida se observa cuando el freído es llevado a cabo a bajas a_w donde ocurre un rápido incremento en la temperatura interna del alimento (Mestdagh *et al.*, 2006).

Los estudios en la literatura sobre la influencia de la actividad de agua y el contenido de humedad en la formación de acrilamida son controversiales. Por una parte Bassama *et al.*, (2011) y Hedegaard *et al.*, (2007) afirmaron que un incremento en la a_w resulta en una disminución del contenido acrilamida. Ciesarová *et al.*, (2006) y Blank *et al.*, (2005), reconocieron la importancia del contenido de humedad en la formación de acrilamida, mientras que Mestdagh *et al.*, (2006) mostraron que el contenido de acrilamida se incrementa a elevadas actividades de agua, sin embargo, observaron una disminución de la misma a elevados contenidos de humedad. DeVleeschouwer *et al.*, (2007) mostraron que la constante de la velocidad de la formación de acrilamida varía solo ligeramente en función de la a_w inicial, mientras que la velocidad de reducción de acrilamida fue mínima a una a_w de 0.82, misma a_w donde la constante de velocidad de la reacción de Maillard fue mayor.

Los alimentos son mezclas heterogéneas y dinámicas de macromoléculas, solutos y solventes por lo que las controversias encontradas en la literatura se deben probablemente a las diferencias en composición y estructura de los sistemas alimentarios utilizados. De acuerdo a Viveros -Contreras *et al.*, (2013) y Viganó *et al.*, (2011), matrices alimentarias con la misma composición química pero diferente microestructura muestran un comportamiento diferente en la sorción de humedad, lo cual es capaz de modificar la a_w donde las reacciones de deterioro se hacen presentes. Lo anterior sugiere que la microestructura o estructura física del alimento es capaz de restringir la movilidad de los precursores responsables de la formación de acrilamida a un nivel de humedad específico durante el procesamiento térmico y esto explica la disminución del contenido de acrilamida en aquellas frituras elaboradas a partir de tortillas equilibradas en actividades de agua correspondientes a la zona de mínima entropía integral. Por consiguiente, la influencia

de la actividad de agua en la formación de acrilamida será diferente para cada sistema alimentario en particular.

La textura y el color son considerados los parámetros más importantes de aceptabilidad y calidad de los productos fritos. La **Figura 21** muestra el efecto de la a_w en los parámetros antes mencionados de las frituras de tortilla elaboradas.

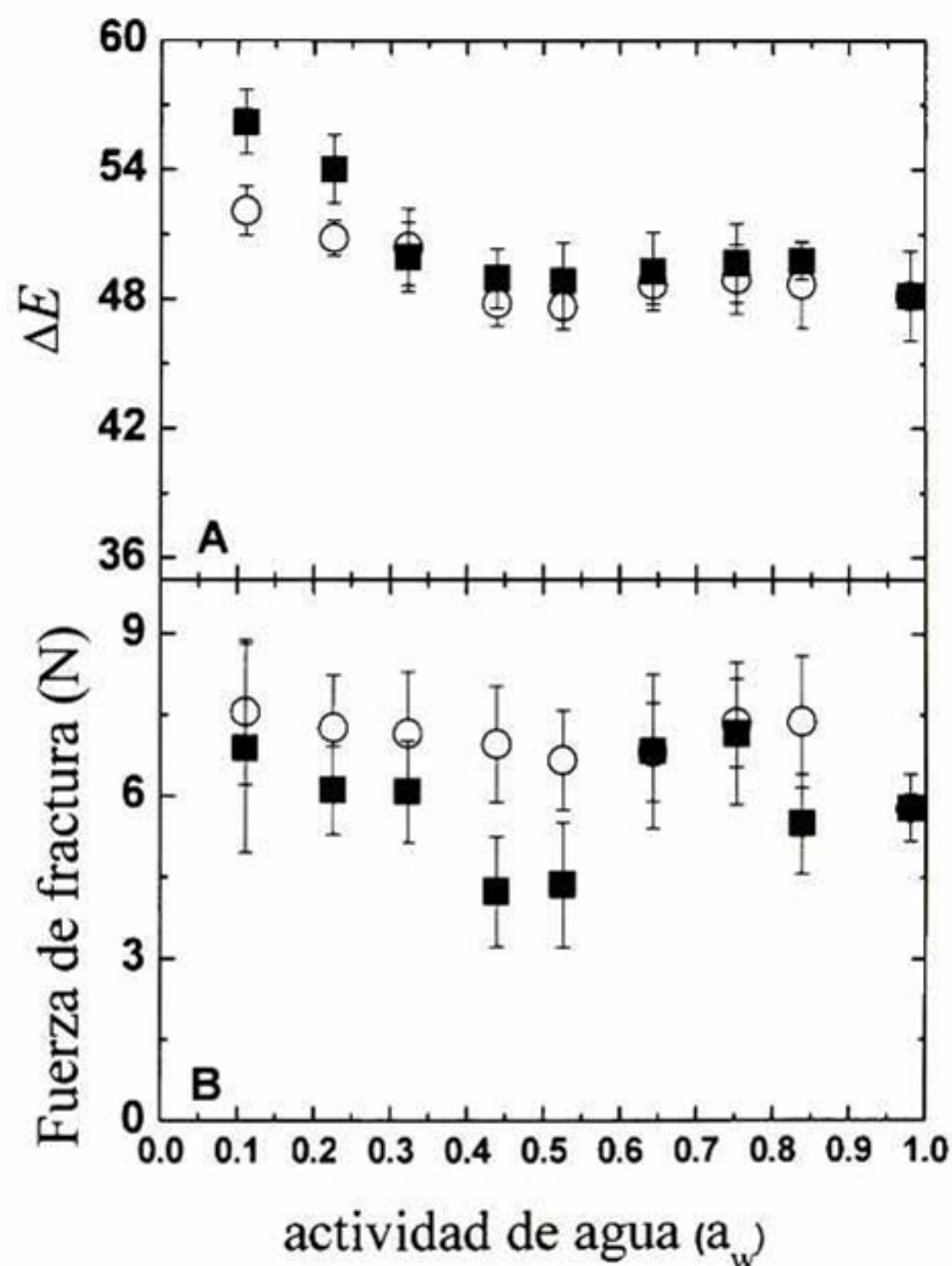


Figura 21. Cambios en el color (A) y en la textura (B) en función de la actividad de agua de frituras elaboradas a partir de tortillas almacenadas 4 (○) y 10 (■) días.

Independientemente del tiempo de almacenamiento, los cambios de color (**Figura 21A**) con respecto a la a_w de las frituras de tortilla fueron similares. En ambos casos, el color se mantuvo constante en un rango de a_w de 0.44-0.84, para incrementarse proporcionalmente con la disminución de la actividad de agua. Debe destacarse que dicho cambio se observó en la zona de mínima entropía integral. Por otra parte, la fuerza de fractura (**Figura 21B**) mostró valores similares a lo largo del rango de a_w estudiado para ambos tiempos de

almacenamiento. Sin embargo, se observaron los menores valores en las actividades de agua correspondientes a la zona de mínima entropía lo que sugiere un efecto antiplastificante del agua en este nivel de hidratación de acuerdo a lo descrito por Seow *et al.*, (1999).

A partir de los resultados anteriores se puede concluir que el control del contenido de humedad, el almacenamiento y el estado físico del agua en la tortilla son factores a considerar para disminuir la formación de acrilamida en este tipo de alimentos.

7. Conclusiones

- El uso del extracto oleoso de chile piquín en una estrategia alentadora para elaborar frituras de tortilla. Esta estrategia, además de benéfica puede ser adoptada en la industria para proporcionar un sabor pungente característico en algunos alimentos, mientras se reduce la formación de acrilamida.
- El uso del aislado de proteína amaranto puede ser una manera atractiva de mitigar la formación de acrilamida y mejorar las características nutrimentales de los alimentos en los cuales puede ser utilizado para su formulación.
- Los resultados obtenidos señalan al cloruro de calcio como un aditivo potencial para reducir la formación de acrilamida en las frituras de tortilla y otros alimentos a base de maíz nixtamalizado procesados térmicamente.
- A pesar de la escasez de estrategias para reducir la formación de acrilamida en alimentos elaborados a partir de maíz nixtamalizado, la variación de la alcalinidad durante la nixtamalización es una manera sencilla y efectiva para reducir la formación de acrilamida durante la elaboración las frituras de tortilla y otros alimentos a base de maíz nixtamalizado procesados térmicamente.
- El control de la actividad de agua de la tortilla antes de ser freída puede ser una herramienta útil para controlar la formación de acrilamida en frituras de maíz.

Los resultados de esta tesis demostraron que las frituras de maíz no están exentas de la formación de acrilamida cuando son elaboradas. Así mismo, los métodos de reducción propuestos resultaron en una disminución sustancial de los niveles de acrilamida en las matrices alimentarias ensayadas, y aunque no son aplicables a todos los alimentos, en un futuro es necesario llevar a cabo la optimización y la evaluación del potencial de las alternativas de reducción de acrilamida propuestas en una escala comercial.

8. Perspectivas

Es casi imposible evitar la presencia de acrilamida en la dieta; desde la invención del procesamiento térmico de los alimentos, los humanos han consumido acrilamida junto con otros compuestos potencialmente peligrosos presentes en los mismos, tales como los hidrocarburos aromáticos policíclicos, y las aminas heterocíclicas. Sin embargo, la mayoría de los alimentos contienen de manera natural tanto promotores potenciales como combatientes del cáncer y otras enfermedades, y alimentos con altos contenidos de acrilamida como el pan integral o los cereales para desayuno ricos en fibra, ofrecen beneficios que superan los riesgos. Por lo anterior, las nuevas estrategias deben encaminarse hacia la prevención mediante las formas conocidas para reducir el riesgo de cáncer, como dejar de fumar, limitar el consumo de alcohol, hacer actividad física y llevar una dieta completa, equilibrada, suficiente y adecuada.

9. Bibliografía

AACC. (1997). Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists, 9th Edn. St Paul, MN: The Association.

AACC. (2000). American Association of Cereal Chemists. Approved methods. 9th ed. St. Paul, Minnesota.

Açar, Ö. Ç., Pollio, M., Di Monaco, R., Fogliano, y Gökmen, V. (2012). Effect of calcium on acrylamide level and sensory properties of cookies. *Food and Bioprocess Technology*. 5: 519-526.

Adams, A., Hamdani, S., Van Lancker, F., Mějri, S., y De Kimpe, N. (2010). Stability of acrylamide in model systems and its reactivity with selected nucleophiles. *Food Research International*. 43: 1517-1522.

Adler, I. D., Schmid, T. E., Baumgartner, A. (2002). Induction of aneuploidy in male mouse germ cells detected by the sperm- fish assay: a review of the present data base. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 504: 173-182.

Ahn, J.S., Castle, L., Clarke, D.B., Lloyd, A.S., Philo, M.R. y Speck, D.R. (2002). Verification of the findings of acrylamide in heated foods. *Food Additives and Contaminants*. 19: 1116-1124.

Al-Muhtaseb, A. H., McMinn, A. M., y Magee, T. R. A. (2002). Moisture sorption isotherm characteristics of food products: a review. *Transactions Institution of Chemical Engineers*. 80 part C: 118 – 128.

Ames, J. M. (1990). Control of the Maillard reaction in food systems. *Trends in Food Science & Technology*. 1: 150-154.

Amrein, T. M., Bachmann, S., Noti, A., Biedermann, M., Barbosa, M. F., Biedermann-Brem, S., Grob, K., Keiser, A., Realini, P., Escher, F. y Amado, R. (2003). Potential of

acrylamide formation, sugars, and free asparagine in potatoes: a comparison of cultivars and farming systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51: 5556–5560.

Amrein, T.M., Andres, L., Manzardo, G.G. y Amado, R., (2006). Investigations on the promoting effect of ammonium hydrogencarbonate on the formation of acrylamide in model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54: 10523–10561.

Amrein, T.M., Schonbachler, B., Escher, F., Amado, R. (2004). Acrylamide in gingerbread: critical factors for formation and possible ways for reduction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52: 4282–4288.

Anese, M., Quarte, B., y Frias, J. (2011). Modelling the effect of asparaginase in reducing acrylamide formation in biscuits. *Food Chemistry*. 126: 435–440.

AOAC. (1984). Official Methods of Analysis of AOAC. 14 ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D. C.

Arribas-Lorenzo, G., Fogliano, V. y Morales, F. J. (2009). Acrylamide formation in a cookie system as influenced by the oil phenol profile and degree of oxidation. *European Food Research and Technology*. 229: 63–72.

Azuara, E. y Beristain, C. I. (2006). Enthalpic and entropic mechanisms related to water sorption on yogurt. *Drying Technology*. 24: 1501-1507.

Azuara, E. y Beristain, C. I. (2007). Estudio termodinámico y cinético de la adsorción de agua en proteína de suero de leche. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 6: 359-365.

Baardseth, P., Blom, H., Skrede, G., Mydland, L. T., Skrede, A., y Slinde, E. (2006). Lactic acid fermentation reduces acrylamide formation and other Maillard reactions in French fries. *Journal of Food Science*. 71: C28-C33.

Barba de la Rosa A., Jacques G., Paredes, L. O. y Virobent, G. (1992). Fractionation procedures, electrophoretic characterization, and amino acid composition of amaranth seed proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 40: 931-936.

Bassama, J., Brat, P., Bohuon, P., Hocine, B., Boulanger, R. y Günata, Z. (2011). Acrylamide kinetic in plantain during heating process: Precursors and effect of water activity. *Food Research International*. 44: 1452-1458.

Becalski A., Lau, B. P. Y., Lewis, D. y Seaman, S. W. (2003). Acrylamide in foods: Occurrence, sources, and modeling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51: 802-808.

Belitz, H. D., Grosch, W., Schieberle, P. (2004). Food Chemistry. 3ra Edicion Revisada, Springer-Verlag, Berlin, Germany.

Bell, L.,N.(2007). Moisture effect on foods chemical stability. In Barbosa-Canovas G.,V., Fontana A.,J, Schmidt S.,J., Labuza, T.,P,. Water Activit y in Foods. Ames, Iowa: Blackwell Publishing and Institute of Food Technologists. p 173-198.

Bell, L.,N., Touma, D., E., White, K., L. y Chen, Y.,H. (1998). Glycine loss and Maillard browning as related to the glass transition in a model food system. *Journal of Food Science*. 63: 625-628.

Benedito De Barber, C., Preto, J. A. y Collar, C. (1989). Reversed phase high-performance liquid chromatography analysis of changes in free amino acids during wheat bread dough fermentation. *Cereal Chemistry*. 66: 283-288.

Beristain, C. I., Azuara, E. y Vernon-Carter, E. J. (2002). Effect of water activity on the stability to oxidation of spray-dried encapsulated orange peel oil using mesquite gum (*Prosopis juliflora*) as wall material. *Journal of Food Science*. 67: 206-211.

Beristain, C. I., Diaz, R., Garcia, H. S. y Azuara, E. (1994). Thermodynamic behavior of green whole and decaffeinated coffee beans during adsorption. *Drying Technology* .12: 1221-1233.

Biedermann, M., Noti, A., Biedermann-Brem, S., Mozzetti, V. y Grob, K. (2002). Experiments on acrylamide formation and possibilities to decrease the potential of acrylamide formation in potatoes. *Mitt. Lebensmittelunters. Hyg.* 93:668–687.

Blank, I.; Robert, F.; Goldmann, T.; Pollien, Ph.; Varga, V.; Devaud, S.; Saucy, F.; Huynh-Ba, T.; Stadler, R. H. Mechanisms of acrylamide formation: Maillard- induced transformation of asparagine. In *Chemistry and Safety of Acrylamide in Food*; Friedman, M., Mottram, D. S., Eds.; Advances in Experimental Medicine and Biology, Vol. 561; Springer: New York, 2005; pp 171-190.

Blasiak, J., Gloe, E., Wozniak, K., Czechowska, A. 2004. Genotoxicity of acrilamide in human lymphocytes. *Chemico-Biological interactions*. 149: 137-149.

Bonilla, E., Azuara, E., Beristain, C. I. y Vernon-Carter, E. J. (2010). Predicting suitable storage conditions for spray-dried microcapsules formed with different biopolymer matrices. *Food Hydrocolloids*. 24: 633-640.

Brathen, E. y Knutsen, S. H. (2005). Effect of temperature and time on the formation of acrylamide in starch-based and cereal model systems, flat breads and bread. *Food Chemistry*. 92: 693-700.

Brathen, E., Kita, A., Knutsen, S.H. y Wicklund, T. (2005). Addition of glycine reduces the content of acrylamide in cereal and potato products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 3259–3264.

Bressani, R. (1990). Chemistry, technology, and nutritive value of maize tortillas. *Food Reviews International*. 6: 225-264.

Bressani, R. y Garcia, V. L. (1990). Protein Fractions in Amaranth Grain and Their Chemical Characterization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 38: 1205-1209.

Bressani, R., L.C. Turcios, L. Reyes y R. Mérida. (2001). Caracterización física y química de harinas industriales nixtamalizadas de maíz de consumo humano en América Central. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 51: 309-313.

Bressani, R., Paz. y Paz, R. y Scrimshaw, N. S. (1958). Corn nutrient losses. Chemical changes in corn during preparation of tortillas. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. 6: 770–774.

Brunauer, S., Deming, L.S., Deming, W.S. y Teller, E. (1940). On a theory of the Van der Waals adsorption of gases. *Journal American Chemical Society*. 62: 1723-1732.

Bucaro S. M. y Bressani, R. (2002). Distribución de la proteína en fracciones físicas de la molienda y tamizado del grano de amaranto. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 52: 67-71.

Campechano-Carrera, E. M., Figueroa-Cárdenas J., Arámbula-Villa, G., Martínez-Flores, H. D., Jiménez-Sandoval, S. J. y Luna-Bárceñas, J.G. (2012). New ecological nixtamalisation process for tortilla production and its impact on the chemical properties of whole corn flour and wastewater effluents. *International Journal of Food Science & Technology*. 47: 564-571.

Capuano, E., Oliviero, T., Açar, Ö. Ç., Gökmen, V. y Fogliano, V. (2010). Lipid oxidation promotes acrylamide formation in fat-rich model systems. *Food Research International*. 43: 1021-1026.

Carrillo-Navas, H., González-Rodea, D. A., Cruz-Olivares, J., Barrera-Pichardo, J. F., Román-Guerrero, A. y Pérez-Alonso, C. (2011). Storage stability and physicochemical properties of passion fruit juice microcapsules by spray-drying. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 10: 421-430.

Castle, L. y Ericksson, S. (2005). Analytical methods used to measure acrylamide concentrations in foods. *Journal of AOAC International*. 88: 274-284.

Chapin, R. E., Fail, P. A., George, J. D., Grizzle, T. B., Heindel, J. J., Harry, G. J., Collins, B. J. y Teague, J. (1995). The reproductive and neural toxicities of acrylamide and three analogues in Swiss mice, evaluated using the continuous breeding protocol. *Fundamental and Applied Toxicology*. 27: 9-24.

CIAA. (2006). The CIAA acrylamide toolbox for the reduction of acrylamide in biscuits, crackers and crispbreads. Brussels: Confederation of the Food and Drink Industries of the EU (CIAA).

Ciesarova, Z., Kiss, E. y Kolek, E. (2006) Study of factors affecting acrylamide levels in model systems. *Czech Journal of Food Sciences*. 24: 133-137.

Ciesarová, Z., Kiss, E., y Boegl, P. (2006). Impact of L-asparaginase on acrylamide content in potato products. *Journal of Food and Nutrition Research*. 45: 141-146.

Claeys, W. L., De Vleeschouwer, K. y Hendrickx, M. E. (2005). Effect of amino acids on acrylamide formation and elimination kinetics. *Biotechnology Progress*. 21: 1525–1530.

Claus, A., Mongili, M., Weisz, G., Schieber, A. y Carle, R. (2007). Impact of formulation and technological factors on the acrylamide content of wheat bread and bread rolls. *Journal of Cereal Science*, in press, doi:10.1016/j.jcs.2007.06.011.

Cook, D.J. y Taylor, A.J. (2005). On-line MS/MS monitoring of acrylamide generation in potato- and cereal-based systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 8926-8933.

Costa, L. G. (1996). Biomarker research in neurotoxicology: the role of mechanistic studies to bridge the gap between the laboratory and epidemiological investigations. *Environmental Health Perspectives*. 104 : 55-67.

Costa, L.G., Deng, H., Greggotti, C., Manzo, L., Faustman, E.M., Bergmark, E. y Calleman, C.J. (1992). Comparative studies on the neuro and reproductive toxicity of acrylamide and its epoxide metabolite glycidamide in the rat. *Neurotoxicology*. 13: 219–224.

De Vleeschouwer, K., Plancken, I. V. D., Van Loey, A., & Hendrickx, M. E. (2007). Kinetics of acrylamide formation/elimination reactions as affected by water activity. *Biotechnology Progress*. 23: 722-728.

Dearfield, K.L., Abernathy, C.O., Ottley, M.S., Brantner, J.H. y Hayes, P.F. (1988). Acrylamide: Its metabolism, developmental and reproductive effects, genotoxicity, and carcinogenicity. *Mutation Research*. 195: 45-77.

Dearfield, K.L., Douglas, G.R., Ehling, U.H., Moore, M.M., Sega, G.A. y Brusick, D.J.(1995). Acrylamide: A review of its genotoxicity and an assessment of heritable genetic risk. *Mutation Research*. 330: 71-99.

Dollimore, D., Spooner, P. y Turner, A. (1976). The BET method of analysis of gas adsorption data and its relevance to the calculation of surface areas. *Surface Technology*. 42: 121-160.

Dominguez, L., Azuara, E., Vernon-Carter, E. J. y Beristain, C. I. (2007). Thermodynamic analysis of the effect of water activity on the stability of macadamia nut. *Journal of Food Engineering*. 81: 566-571.

Dyner, L., Drago, S. R., Piñeiro, A., Sánchez, H., González, R., Villaamil, E., et al. (2007). Composition and potential contribution of iron, calcium and zinc of bread and pasta made with wheat and amaranth flours. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 57: 69–77.

EEC, (1992). Commission Directive 92/39/EEC, amending Directive 90/128/EEC relating to plastics materials and articles intended to come into contact with foodstuffs. Official Journal of the European Communities. L168: 21-29.

Ehling, S., Hengel, M. y Shibamoto, T. (2005). Formation of acrylamide from lipids In *Chemistry and Safety of Acrylamide in Food*; Friedman, M., Mottram, D. S. Springer New York. p 223-234.

Elder, V.A., (2005). Method for enhancing acrylamide decomposition. Patent US20050118322.

Elder, V.A., Fulcher, J.G., Leung, H., Topor, M.G., (2004). Method for reducing acrylamide in thermally processed foods. Patent US20040058045.

Elmore, J. S., Dodson, A. T., Muttucumaru, N., Halford, N. G., Parry, M. A. J. y Mottram, D. S. (2010). Effects of sulphur nutrition during potato cultivation on the formation of acrylamide and aroma compounds during cooking. *Food Chemistry*. 122: 753-760.

Elmore, J. S., Wedzicha, B. L., Mottram, D. S., Koutsidis, G. y Dodson, A. T. (2005). Measurement of acrylamide and its precursors in potato, wheat, and rye model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 1286–1293.

FDA (US Food and Drug Administration). (2004). Exploratory Data on Acrylamide in Food. US Dept. of Health and Human Services, Center for Food Safety and Nutrition. http://www.cfsan.fda.gov/_dms/acrydata.html.

Fernández, S., Kurppa, L. y Hyvönen, L. (2003). Content of acrylamide decreased in potato chips with addition of a proprietary flavonoid spice mix (Flavomare®) in frying. *Innovations in Food Technology*. 17:24–26.

Figuroa, J. D. C., Godinez, M. G., Méndez, N. L., Guzmán, A. L., Flores, L. M. y González, J. (2001). Fortificación y evaluación de tortillas de nixtamal. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 51: 296-302.

Figuroa, J. D. C., Morales, S. E. y Arámbula, V. G. (2003). Nixtamalized Corn and Products obtained from Same. Patente PCT No. WO03/045154 A1

Fink, M., Andersson, R., Rosen, J., Aman, P. (2006). Effect of added asparagine and glycine on acrylamide content in yeast-leavened bread. *Cereal Chemistry*. 83: 218–222.

Food Agriculture Organization. 2006. Production of selected agricultural commodities, Group I (2004). FAO Statistics. Vol. 57. Roma, Italia.

Fredriksson, H., Tallving, J., Rosén, J. y Åman, P. (2004). Fermentation reduces free asparagine in dough and acrylamide content in bread. *Cereal Chemistry*. 81: 650-653

Friedman, M. (2003). Chemistry, biochemistry, and safety of acrylamide. A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51: 4504–4526.

Friedman, M. y Levine, C. E. (2008). Review of methods for the reduction of dietary content and toxicity of acrylamide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56: 6113-6140.

Friedman, M.(1994). Improvement in the Safety of Foods by SH-Containing Amino Acids and Peptides. A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 42: 3-20.

Fritz, M., Vecchi, B., Rinaldi, G. y Anon, M. C. (2011). Amaranth seed protein hydrolysates have in vivo and in vitro antihypertensive activity. *Food Chemistry*. 126: 878–884.

Gamel, T. H., Linssen, J. P., Mesallem, A. S., Damir, A. y Shekib, L. A. (2005). Effect of seed treatments on the chemical composition and properties of two amaranth species: starch and protein. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.85: 319-327.

Gertz, C. y Klostermann S. (2002). Analysis of acrylamide and mechanisms of its formation in deep-fried products. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 104: 762–771.

Gökmen, V. y Senyuva, H. Z. (2007). Acrylamide formation is prevented by divalent cations during the Maillard reaction. *Food Chemistry*. 103: 196–203.

Gökmen, V., Açar, Ö.Ç., Köksel, H., Acar, J. 2007. Effects of dough formula and baking conditions on acrylamide and hydroxymethylfurfural formation in cookies. *Food Chemistry*. 104: 1136-1142

Gökmen, V y Senyuva, H. Z. (2007b). Effects of some cations on the formation of acrylamide and furfurals in glucose-asparagine model system. *European Food Research and Technology*. 225: 815–820.

Gökmen, V., Açar, Ö.Ç., Arribas, L. G. y Morales, F. J. (2008). Investigating the correlation between acrylamide content and browning ratio of model cookies. *Journal of Food Engineering*. 87: 380-385.

Gómez-Aldapa, C., Martínez, B.F., Figueroa, J.D.C., Ordorica, F.C. y González-Hernández, J. (1996). Cambios en algunos componentes químicos y nutricionales durante la preparación de tortillas de maíz. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 46: 315–319.

Gorinstein, S., Pawelzik, E., Delgado-Licon, E., Haruenkit, R., Weisz, M., y Trakhtenberg, S. (2002). Characterisation of pseudocereal and cereal proteins by protein and amino acid analyses. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 82: 886–891.

Graf, M., Amrein, T. M., Graf, S., Szalay, R., Escher, F. y Amado, R. (2006). Reducing the acrylamide content of a semi-finished biscuit on industrial scale. *LWT-Food Science and Technology*. 39: 724–728.

Granda C., Moreira R. G. y Tichy, S. E. (2004). Reduction of Acrylamide Formation in Potato Chips by Low-temperature Vacuum Frying. *Journal of Food Science*. 69: E405-E411.

Granvogl, M., Jezussek, M., Koehler, P. y Schieberle, P. (2004). Quantitation of 3-aminopropionamide in potatoes: A minor but potent precursor in acrylamide formation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52: 4751-4757.

Gutiérrez-Cortez, E., Rojas-Molina, I., Rojas, A., Arjona, J.L., Cornejo-Villegas, M.A., Zepeda-Benítez, Y., Velázquez-Hernández, R., Ibarra-Alvarado, C., Rodríguez-García, M.E. (2010). Microstructural changes in the maize kernel pericarp during cooking stage in nixtamalization process. *Journal of Cereal Science*. 51: 81-88.

Guzman-Maldonado, S. H, y Paredes-Lopez, O. (1998). Functional products of plants indigenous to Latin America: Amaranth, quinoa, common beans, and botanicals. In G. Mazza (Ed.), *Functional foods biochemical processing aspects* (pp. 293–328). Lancaster, PA: Technomic Publishing Co., Inc.

Haase, N. U., Matthaus, B. y Vosmann, K. (2003). Acrylamid in backwarenein sachstandbericht getreide, *Mehl und Brot*. 57: 180–184.

He, F. S., Zhang, S. L., Wang, H. L., Li, G., Zhang, Z. M., Li, F. L., Dong, X. M. y Hu, F. (1989). Neurological and electroneuromyographic assessment of the adverse effects of acrylamide on occupationally exposed workers. *Scandinavian Journal of Work Environment & Health*. 15: 125-129.

Hedegaard, R. V., Frandsen, H., Granby, K., Apostolopoulou, A., y Skibsted, L. H. (2007). Model studies on acrylamide generation from glucose/asparagine in aqueous glycerol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55. 486-492.

Hidalgo, F. J., Nogales, F. y Zamora, R. (2005). Changes produced in the antioxidative activity of phospholipids as a consequence of their oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 659-662.

Hidalgo, F. J., Delgado, R. M., Navarro, J. L., y Zamora, R. 2010. Asparagine decarboxylation by lipid oxidation products in model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58: 10512-10517.

Hidalgo, F. J., Delgado, R. M., y Zamora, R. (2010). Role of mercaptans on acrylamide elimination. *Food Chemistry*. 122: 596-601.

Hidalgo, F. J., Delgado, R. M. y Zamora, R. (2009). Degradation of asparagine to acrylamide by carbonyl-amine reactions initiated by alkadienals. *Food Chemistry*. 116: 779-784.

Hill, T. L., Emmett, P. H. y Joyner, L. G. (1951). Calculation of Thermodynamic Functions of Adsorbed Molecules from Adsorption Isotherm Measurements: Nitrogen on Graphon1, 2. *Journal of the American Chemical Society*. 73: 5102-5107.

Hoenicke, K. y Gatterman, R. (2005). Studies of the stability of acrylamide in food during storage. *Journal of AOAC International*. 88:268-263.

Hunter, R. S. (1973). The measurement of appearance. Fairfax, VA: Hunter Associates Laboratory.

JIFSAN/NCFST Workshop "Acrylamide in Food, scientific issues, uncertainties, and research strategies" 28–30th October 2002. Rosemont, USA. Disponible en www.jifsan.umd.edu/acrylamide/acrylamideworkshop.html.

Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). (2010). Summary report of the seventy-second meeting of JECFA, Rome, Italy. Disponible en http://www.who.int/foodsafety/chem/summary72_rev.pdf.

Jung, M.Y., Choi, D.S. y Ju, J.W. (2003). A novel technique for limitation of acrylamide formation in fried and baked corn chips and in French fries. *Journal of Food Science*. 68:1287–1290.

Kawas, M. L y Moreira, R. G. (2001). Characterization of product quality attributes of tortilla chips during the frying process. *Journal of Food Engineering*. 47: 97-107.

Kim, C. T., Hwang, E.S. y Lee, H. J. (2005). Reducing acrylamide in fried snack products by adding amino acids. *Journal of Food Science*. 70: C354-C358.

Kita, A., Brathen, E., Knutsen, S. H. y Wicklund, T. (2004). Effective ways of decreasing acrylamide content in potato crisps during processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52: 7011–7016.

Kolek, E., Simko, P. y Simon, P. (2006). Effect of NaCl on the decrease of acrylamide content in a heat-treated model food matrix. *Journal of Food and Nutrition Research*. 45: 17–20.

Kukurova, K., Ciesarova, Z., Bednarikova, A. y Markova, L. (2009). Effect of inorganic salts on acrylamide formation in cereal matrices. *Czech Journal of Food Science*, 27(SI): S425-S428.

Kosugi, H., Kojima, T. y Kikugawa, K. (1989). Thiobarbituric acid-reactive substances from peroxidized lipids. *Lipids*. 24: 873e881

Lang, K. W., McCune, T. D. y Steinberg, M. P. (1981). Proximity equilibration cell for rapid determination of sorption isotherms. *Journal of Food Science*. 46: 936 – 938.

Levine, R. A. y Smith, R. E. (2005). Sources of variability of acrylamide levels in a cracker model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 4410–4416.

Levine, R. A., y Ryan, S. M. (2009). Determining the effect of calcium cations on acrylamide formation in cooked wheat products using a model system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57: 6823–6829.

Lindsay, R. C. y Jang, S. (2005). Model systems for evaluating factors affecting acrylamide formation in deep fried foods In *Chemistry and Safety of Acrylamide in Food*; Friedman, M., Mottram, D. S. Springer New York. p 329-342.

Lindsay, R.C. y Jang, S. (2005b). Methods for suppressing acrylamide formation and restoring browned color and flavor. Patent US20050214411.

Lomauro, C. J., Bakshi, A. S., y Labuza, T. P. (1985). Evaluation of food moisture sorption isotherm equations. Part I: fruit, vegetable and meat products. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*.18: 111-117.

LoPachin, R. M. (2004). The changing view of acrylamide neurotoxicity. *Neurotoxicology*. 25:617-630.

Lopachin, R. M. y Lehning E. J. (1994). Acrylamide induced distal axon degeneration. A proposed mechanism of action. *Neurotoxicology*. 15: 247-259.

Low, M. Y., Koutsidis, G., Parker, J. K., Elmore, J. S., Dodson, A. T. y Mottram, D. S. (2006). Effect of citric acid and glycine addition on acrylamide and flavor in a potato model system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54: 5976–5983.

Lujan-Acosta, J., y Moreira, R. G. (1997). Effects of different drying processes on oil absorption and microstructure of tortilla chips. *Cereal Chemistry*. 74: 216–223.

Lukac, H., Amrein, T. M., Perren, R.; Conde-Petit, B., Amadó, R. y Escherr, F. (2007). Influence of roasting conditions on the acrylamide content and the color of roasted almonds. *Journal of Food Science*. 72: C033-038.

Luo, X.-J., Peng, J., y Li, Y.-J. (2011). Recent advances in the study on capsaicinoids and capsinoids. *European Journal of Pharmacology*. 650: 1-7

Lusas, E. y Rooney, L. 2001. *Snack food Processing*. CRC Boca Raton Fl. USA.

Majcher, M. A. y Jelen, H. H. (2007). Acrylamide formation in low-fat potato snacks and its correlation with colour development. *Food Additives and Contaminants*. 24: 337–342.

Martinez, E. N. y Añon, M. C. (1996). Composition and structural characterization of amaranth protein isolates. An electrophoretic and calorimetric study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44: 2523–2530.

Matiacevich, S. B., Santagapita, P. R. y Buera, M. D. P. (2010). The effect of MgCl₂ on the kinetics of the Maillard reaction in both aqueous and dehydrated systems. *Food Chemistry*. 118: 103-108.

May, N. J., Tong, P., Varelis, P. y Paterson, J. L. (2006). Acrylamide formation in deep-fried potato products and removal of acrylamide precursors. *Food Australian*. 58: 488–493.

Mestdagh, F. J. De Meulenaer, B., Van Poucke C., Detavernier, C., Cromphout, C. y Van Peteghem, C. (2005). Influence of Oil Type on the Amounts of Acrylamide Generated in a Model System and in French Fries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 6170–6174.

Mestdagh, F., De Meulenaer, B., Cucu, T. y Van Peteghem, C. (2006). Role of water upon the formation of acrylamide in a potato model system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54: 9092-9098.

Mestdagh, F., De Meulenaer, B. y Van Peteghem, C. (2007). Influence of oil degradation on the amounts of acrylamide generated in a model system and in French fries. *Food Chemistry*. 100: 1153–1159.

Mestdagh, F., De Wilde, T., Delpoort, K., Van Peteghem, C. y De Meulenaer, B. (2008). Impact of chemical pre-treatments on the acrylamide formation and sensorial quality of potato crisps. *Food Chemistry*. 106: 914-922.

Moreno, I. M., Rubio, C. A., Gutierrez, A.J., Cameán, A. M. y Hardisson, A. (2007). La acrilamida, contaminante químico de procesado: revisión. *Revista de Toxicología*. 24: 1-9.

Morris, P. C. y Bryce, J. H. (2000). Cereal biotechnology. CRC Boca Raton Fl. USA.

Mottram, D.S, Low, M. y Elmore, S. (2006). The Maillard reaction and its role in the formation of acrylamide and other potentially hazardous compounds in foods. In Acrylamide and other hazardous compounds in heat-treated foods. Skog, K. y Alexander, J. Boca Raton Fl. USA. 3-22

Mottram, D.S., Wedzicha, B.L. y Dodson, A.T. (2002). Acrylamide is formed in the Maillard reaction. *Nature*. 419: 448–449.

Mucci, L. A., Dickman, P. W., Stein beek G., Adami, H. y Augustsson, K. (2003). Dietary acrylamide and cancer of the large bowel, kidney and bladder: absence of an associaion in a population based study in Sweden. *British Journal of Cancer*. 88: 84-89.

Napolitano A., Morales, F. Sacchi, R. y Fogliano, V. (2008). Relationship between Virgin Olive Oil Phenolic Compounds and Acrylamide Formation in Fried Crisps. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56: 2034–2040.

OEHHA-CAL/EPA. (2005). Estimates of the daily intake of acrylamide resulting from consumption of specific foods. Office of Environmental Health Hazard Assessment/California Environmental Protection Agency, <http://www.oehha.ca.gov/prop65/acrylamideintaketable2.doc>.

OMS, (1996), Guidelines for Drinking-Water Quality, 2nd edn (Geneva: World Health Organisation). 2: 940-949.

OMS. (1985). Acrylamide. Environmental Health Criteria 49 (Geneva: World Health Organization).

OMS. (2002). Heath implications of acrylamide in food. Report of a joint FAO/OMS consultation, Geneva, Switzerland, 25 - 27 June.

Othmer, D.F. (1940). Correlating vapor pressure and latent heat data. A new plot. *Industrial and Engineering Chemistry*. 32: 841-856.

Palermo, M., Fiore, A. y Fogliano, V. (2012). Okara Promoted Acrylamide and Carboxymethyl-lysine Formation in Bakery Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60: 10141–10146.

Palacios-Fonseca, A.J., Vázquez-Ramos, C. y Rodríguez-Garc[ia, M.E. (2009). Physicochemical characterizing of industrial and traditional nixtamalized corn flours. *Journal of Food Engineering*. 93: 45–51.

Palazoglu, T. K. y Gokmen V. (2008). Development and experimental validation of a frying model to estimate acrylamide levels in French fries. *Journal of Food Science*. 73: E109-E114.

Palazoglu, T. K. y Gokmen V. (2008). Reduction of Acrylamide Level in French Fries by Employing a Temperature Program during Frying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56 : 6162–6166.

Paliwal, R. L., Granados, G., Lafitte, H. R., Violic, A. D.,y Marathée, J. P. (2001). *El maíz en los trópicos: Mejoramiento y producción* (No. 28). *Colección FAO: producción y protección vegetal*. 1-91.

Palou, E., Lopez-Malo, A. y Argai, A. (1997). Effect of temperature on the moisture sorption isotherms of some cookies and corn snacks. *Journal of Food Engineering*. 31. 85-93.

Paredes, O. L. y Saharopoulos, M.E. (1983). Maize: a review of tortilla production technology. *Bakers Digest*. 57: 16-25.

Park, Y., Yang, H., Storkson, J. M., Albright, K. J., Liu, W., Lindsay, R. C. y Pariza, M. W. (2005). Controlling acrylamide in French fry and potato chip models and a mathematical model of acrylamide formation In *Chemistry and Safety of Acrylamide in Food*; Friedman, M., Mottram, D. S. Springer: New York. 343-356.

Pedersen, M., von Stedingk, H., Botsivali, M., Agramunt, S., Alexander, J., Brunborg, G et al. (2012). Birth Weight, Head Circumference, and Prenatal Exposure to Acrylamide

from Maternal Diet: The European Prospective Mother-Child Study (NewGeneris). *Environmental Health Perspectives*. 120: 1739-1745.

Pedreschi, F., Kaack, K. y Granby, K. (2006). Acrylamide content and color development in fried potato strips. *Food Research International*. 39:40–46.

Pedreschi, F., Kaack, K., Granby, K. y Troncoso, E. (2007). Acrylamide reduction under different pre-treatments in French fries. *Journal of Food Engineering*. 79: 1287–1294.

Pedreschi, F., Leon, J., Mery, D., Moyano, P., Pedreschi, R., Kaack, K. y Granby, K. (2007). Color development and acrylamide content of pre-dried potato chips. *Journal of Food Engineering*. 79: 786–793.

Pedreschi, F., Mariotti, S., Granby, K., y Risum, J. (2011). Acrylamide reduction in potato chips by using commercial asparaginase in combination with commercial blanching. *LWT-Food Science and Technology*. 44: 1473-1476.

Pedreschi, F., Mariotti, S., Granby, K., y Risum, J. (2011). Acrylamide reduction in potato chips by using commercial asparaginase in combination with commercial blanching. *LWT -Food Science and Technology*. 44: 1473-1476.

Pérez-Alonso, C., Beristain, C. I., Lobato-Calleros, C., Rodriguez-Huezo, M. E. y Vernon-Carter, E. J. (2006). Thermodynamic analysis of the sorption isotherms of pure and blended carbohydrate polymers. *Journal of Food Engineering*. 77: 753-760.

Quirijns, E. J., Van Boxtel, A. J., van Loon, W. K. y Van Straten, G. (2005). Sorption isotherms, GAB parameters and isosteric heat of sorption. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 85: 1805-1814.

Rahman, M. S. y Labuza, T. P. (1999). Water activity and food preservation. In M. S. Rahman (Ed.), *Handbook of food preservation*. New York: Marcel Dekker. p 339-382

Rice, J. M. (2005). The carcinogenicity of acrylamide. *Mutation Research*. 580: 3–20.

Roos, Y. (1995). *Phase Transitions in Foods*. Academic Press Ltd., London, UK.

Rosén, J. y Hellenas, K. E. (2002). Analysis of acrylamide in cooked foods by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Analyst*. 127: 880-882.

Ruden, C. (2004). Acrylamide and cancer risk-expert risk assessments and the public debate. *Food Chemical Toxicology*. 42: 335-349.

Rydberg, P., Eriksson, S., Tareke, E., Karlsson, P., Ehrenberg, L. y Tornqvist, M. (2003). Investigations of factors that influence the acrylamide content of heated foodstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51:7012–7018.

Sadd, P. A., Hamlet, G. H., y Liang, L. (2008). Effectiveness of methods for reducing acrylamide in bakery products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56: 6154–6161.

SAGARPA. (2001). Análisis de los mercados nacionales de productos agrícolas básicos. Disponible en:

http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/estudios_economicos/Seminarios/entorno_agroeconomico/PRODUCTIVIDAD%20Y%20COMPETITIVIDAD%20DE%20GRANOS%20EN%20MEXICO%20%28Abr%202011%29.pdf . Consultado el 16 octubre de 2013.

Sahin S, Sumnu, G. y Oztop, M. H. Effect of osmotic pretreatment and microwave frying on acrylamide formation in potato strips. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 87:2830-2836.

Seow, C. C., Cheah, P. B. y Chang, Y. P. (2006). Antiplasticization by Water in Reduced-Moisture Food Systems. *Journal of Food Science*. 64. 576-581.

Serna, S. S., Gómez, M. H. y Roone, L. W. (1990). Technology, chemistry and nutritional value of alkaline-cooked corn products. In: Pomeranz, Y editor. *Advances in cereal science and technology*. Vol. X. St. Paul, Minn.: American Assn. of Cereal Chemists. p 243–307.

Serna-Saldivar, S. O., Rooney, L. W. y Greene, L. W. (1991). Effect of lime treatment on the availability of calcium in diets of tortillas and beans. Rat growth and balance studies. *Cereal Chemistry*. 68: 565–570.

Serna-Saldivar, S. O., Rooney, L. W. y Greene, L. W. (1992): Effects of lime treatment on the bioavailability of calcium in diets of tortillas and beans: bone and plasma composition in rats. *Cereal Chemistry*. 69: 78-81.

Seron, L. H., Garrigós, E., Prats, M. S., Martín, M. L., Berenguer, V. y Grane, N. (1998). Characterisation of 19 almond cultivars on the basis of their free amino acids composition. *Food Chemistry*. 61: 455-459.

Springer, M., Fischer, T., Lehrack, A. y Freund, W. (2003). Acrylamidbildung in Backwaren. *Getreide, Mehl und Brot*. 57: 274–278.

Stadler, R. H. (2003). Editorial: Understanding the formation of acrylamide and other Maillard-derived vinylogous compounds in foods. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 105: 199-200.

Stadler, R. H., Verzeznassi, L., Varga, N., Grigorov, M., Studer, A., Riediker, S., y Schilter, B. 2003. Formation of Vinylogous Compounds in Model Maillard Reaction Systems. *Chemical Research in Toxicology*. 16: 1242-1250.

Stadler, R.H y Scholz, G. (2004). Acrylamide: an update on current knowledge in analysis, levels in food, mechanisms of formation, and potential strategies of control. *Nutrition Reviews*.62: 449-67.

Stadler, R.H., Blank, I., Varga, N., Robert, F., Hau, J., Guy, P.A., Robert, M.-C. y Riediker, S. (2002). Acrylamide from Maillard reaction products. *Nature*. 419:449.

Summa, CA., Calle, B., Brohee, M., Stadler, R. H. y Anklam, E. (2007). Impact of the roasting degree of coffee on the in vitro radical scavenging capacity and content of acrylamide. *LWT - Food Science and Technology*. 40:1849-1854.

Taeymans, D., Wood, J., Ashby, P., Blank, I., Studer, A., Stadler, R.H., Gonde, P., Van Eijck, P., Lalljie, S., Lingnert, H., Lindblom, M., Matissek, R., Muller, D., Tallmadge, D., OOBrien, J., Thompson, S., Silvian, D. y Whitmore, T. (2004). A review of acrylamide: an industry perspective on research, analysis, formation, and control. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 44: 323–347.

Tardiff, R. G., Gargas, M. L., Kirman, C. R., Carson, M. L., & Sweeney, L. M. (2010). Estimation of safe dietary intake levels of acrylamide for humans. *Food and Chemical Toxicology*: 48: 658-667.

Tareke E, Rydberg P, Karlsson P, Eriksson S, y Törnqvist M. (2000). Acrylamide: A cooking carcinogen?. *Chemistry Research Toxicology*. 13: 517-522.

Tareke, E. (2003). Identification and origin of potential background carcinogens: Endogenous isoprene and oxiranes, dietary acrylamide. PhD Diss. Department of Environmental Chemistry, Stockholm University

Tareke, E., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson, S. y Törnqvist, M. (2002). Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 4998-5006.

Teras, L.M., Zimmermen, S.P., Zyzak, D.V., Tak Lin, P.Y., Stojanovic, M., Sanders, R.A., Villagran, M.D.M.S., Howie, J.K., Schafermeyer, R.G. (2004). Method for the reduction of acrylamide in corn-based foods. Patent US20040265429.

Tilson, H.A. (1981). The neurotoxicity of acrylamide: An overview. *Neurobehavioral Toxicology and Teratology*. 3: 445–461.

Tseng, Y. C., Moreira, R. y Sun, X. (1996). Total frying-use time effects on soy bean oil deterioration and on tortilla chip quality. *International Journal of Food Science and Technology*. 31: 287–294.

Vass, M., Amrein, T. M., Schönbächler, B., Escher, F. y Amado, R. (2004). Ways to reduce the acrylamide formation in cracker products. *Czech Journal of Food Sciences*. 22: 19–21.

Vattem, D.A. y Shetty, K. (2005). Composition of legume proteins and methods of use thereof for reducing acrylamide in cooked foods. Patent US20050048172.

Viganó, J., Azuara, E., Vania, R. N., Telis, A., Beristain, C. I., Jimenez, M y Telis-Romero, J. (2012). Role of enthalpy and entropy in moisture sorption behavior of pineapple pulp powder produced by different drying methods. *Thermochimica Acta*. 528: 63-71.

Viveros-Contreras, R., Téllez-Medina, D.I., Perea-Flores, M.J., Alamilla-Beltrán, L., Cornejo-Mazón, M., Beristain-Guevara, C. I., Azuara-Nieto E., y Gutiérrez-López, G. F. (2013). Encapsulation of ascorbic acid into calcium alginate matrices through coacervation coupled to freeze-drying. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 12: 29-39

Watson, S.A. y Ramstad P.E. (1999). Structure and composition. Corn, Chemistry and Technology. AACC. USA.

Wedzicha B. L., Mottram D. S., Elmore, J. S., Koutsidis, G., Dodson, A. T. (2005). Kinetic models as a route to control acrylamide formation in food In Chemistry and Safety of Acrylamide in Food; Friedman, M., Mottram, D. S. Springer: New York. p 235-253.

Weisshaar, R. (2004). Acrylamide in bakery products - results from model experiments. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*. 100: 92-97.

Wexler, A. (1976). Vapor pressure formulation for water in range 0 to 100°C. A Review. *Journal of Research of the National Bureau of Standards. Physics and Chemistry*. 80: 775-785.

White, K. L. y Bell, L. N. (2006). Glucose loss and Maillard browning in solids as affected by porosity and collapse. *Journal of Food Science*. 64: 1010-1014.

Yasuhara, A., Tanaka, Y., Hengel, M. y Shibamoto, T. (2003). Gas chromatographic investigation of acrylamide formation in browning model systems. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 51: 3999-4003.

Yaylayan, V. A. (2005). Acrylamide formation in food: a mechanistic perspective. *Journal of AOAC international*. 88: 262-267.

Yaylayan, V. A., Wnorowski, A. y Locas, C. P. (2003). Why asparagine needs carbohydrates to generate acrylamide, *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 51: 1753-1757.

Yuan, Y., Chen, F., Zhao, G. H., Liu, J., Zhang, H. X. y Hu, X. S. (2007). A Comparative Study of Acrylamide Formation Induced by Microwave and Conventional Heating Methods. *Journal of Food Science*. 72: C212-C216.

Zamora, R., Delgado, R. M. y Hidalgo, F. J. (2011). Strecker aldehydes and α -keto acids, produced by carbonyl–amine reactions, contribute to the formation of acrylamide. *Food Chemistry*. 128: 465-470.

Zamora, R., Delgado, R. M. y Hidalgo, F. J. (2010). Model reactions of acrylamide with selected amino compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58: 1708-1713.

Zamora, R., y Hidalgo, F. J. (2008). Contribution of lipid oxidation products to acrylamide formation in model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56: 6075-6080.

Zeng, X. H., Cheng, K. W., Du, Y. G., Kong, R., Lo, C., Chu, I. K., Chen, F. y Wang, M. (2010). Activities of hydrocolloids as inhibitors of acrylamide formation in model systems and fried potato strips. *Food Chemistry*. 121: 424–428.

Zenick, H., Hope, E. y Smith, M. K. (1986). Reproductive toxicity associated with acrylamide treatment in male and female mice. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 17: 457-472.

Zhang, T., Ren, Y. y Zhang, Y. (2009). New research developments on acrylamide: analytical chemistry, formation mechanism, and mitigation recipes. *Chemical Reviews*. 109: 4375-4397.

Zhang, Y. y Zhang, Y. (2007). Study on reduction of acrylamide in fried bread sticks by addition of antioxidant of bamboo leaves and extract of green tea. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 16:131-136.

Zhang, Y. y Zhang, Y. (2007b). Formation and Reduction of Acrylamide in Maillard Reaction A Review Based on the Current State of Knowledge. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 5: 521-542.

Zhang, Y., Xu, W., Wu, X., Zhang, X. y Zhang, Y. (2007c). Addition of antioxidant from bamboo leaves as an effective way to reduce the formation of acrylamide in fried chicken wings. *Food Additives and Contaminants*. 24: 242-251.

Zhang, Y., Chen, J., Zhang, X., Wu, X. y Zhang, Y. (2007d). Addition of Antioxidant of Bamboo Leaves (AOB) Effectively Reduces Acrylamide Formation in Potato Crisps and French Fries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55: 523-528.

Zhang, Y., Donga, Y., Renb, Y. y Zhang, Y. (2006). Rapid determination of acrylamide contaminant in conventional fried foods by gas chromatography with electron capture detector. *Journal of Chromatography A*. 1116: 209–216

Zhang, Y., Fang, H. y Zhang, Y. (2008). Study on formation of acrylamide in asparagine–sugar microwave heating systems using UPLC-MS/MS analytical method. *Food Chemistry*. 108: 542–550.

Zhu, Y., Li, G., Duan, Y., Chen, S., Zhang, C. y Li, Y. (2008). Application of the standard addition method for the determination of acrylamide in heat-processed starchy foods by gas chromatography with electron capture detector. *Food Chemistry*. 109: 899–908.

Zyzak, D.V., Sanders, R.A., Stojanovic, M., Tallmadge, D. H., Eberhart, B. L., Ewald, D. K., Gruber, D. C., Morsch, T. R., Strothers, M. A., Rizzi, G. P. y Villagran, M. D. (2003). Acrylamide formation mechanism in heated foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51: 4782–4787.

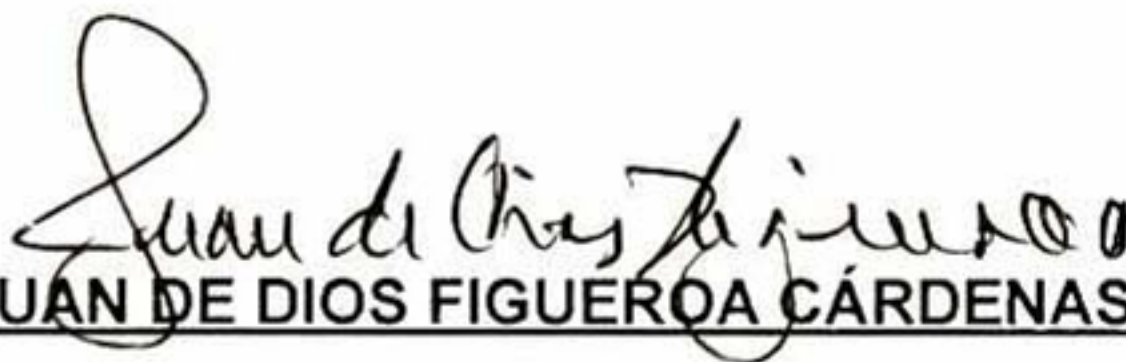
EL JURADO DESIGNADO POR LA UNIDAD QUERÉTARO DEL CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL, APROBÓ LA TESIS DOCTORAL DEL C. RICARDO SALAZAR LÓPEZ TITULADA: "ESTUDIO DE LA INHIBICIÓN DE ACRILAMIDA DURANTE EL FREÍDO DE TORTILLAS DE MAÍZ NIXTAMALIZADO", FIRMAN AL CALCE DE COMÚN ACUERDO LOS INTEGRANTES DE DICHO JURADO, EN LA CIUDAD DE QUERÉTARO, QRO., A LOS NUEVE DIAS DEL MES DE DICIEMBRE DEL 2013.



DR. GERÓNIMO ARÁMBULA VILLA



DR. J. GABRIEL LUNA BÁRCENAS



DR. JUAN DE DIOS FIGUEROA CÁRDENAS



DR. PEDRO ALBERTO VÁZQUEZ LANDAVERDE



DR. JESUS ABRAHAM MÉNDEZ ALBORES



CINVESTAV - IPN
Biblioteca Central



SSIT0012209