



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS



Tema: Evaluación de la contaminación por acrilamida, generada durante el proceso de fritura convencional y al vacío en chips de 7 variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.).

Trabajo de Titulación, modalidad Experiencia Práctica de Investigación y/o Intervención, previa la obtención del Título de Ingeniera en Alimentos, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

El presente estudio fue financiado por el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Estación Experimental Santa Catalina, Departamento de Nutrición y Calidad. Coordinado por el Dr. Iván Rodrigo Samaniego, Ing. Elena Villacrés y Dr. Ignacio Angós.

Autora: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa.

Tutor: Dr. Ignacio Ángel Angós Iturgaiz PhD.

Ambato – Ecuador

Enero 2020

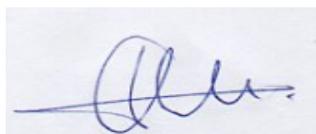
APROBACIÓN DEL TUTOR

Dr. Ignacio Ángel Angós Iturgaiz

CERTIFICA:

Que el presente trabajo de titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de éste Trabajo de Titulación bajo la Modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que corresponde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad.

Ambato, 15 de febrero del 2017.



Dr. Ignacio Ángel Angós Iturgaiz
C.I. 1756978225
TUTOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, manifiesto que los resultados obtenidos en el proyecto de investigación, previo la obtención del título de Ingeniero en Alimentos son absolutamente originales, auténticos y personales, a excepción de las citas.

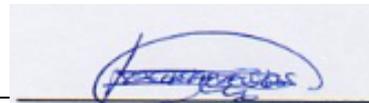


Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa
CI: 1804520086
AUTORA

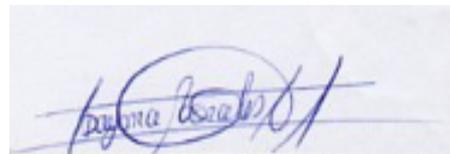
APROBACION DE LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL

Los suscritos calificadores, aprueban el presente trabajo de titulación modalidad Experiencia Práctica de Investigación y/o Intervención, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Abato.

Para constancia firman:



Presidente de Tribunal



Dra. Dayana Cristina Morales Acosta

C.I: 180413550



Ing. María Isabel Salazar Cobó

C.I: 1716197254

Ambato, 16 de Octubre del 2017

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato e Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, para que hagan de este proyecto de investigación o parte de él, un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación según las normas de Institución.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi proyecto, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este proyecto dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autora.



Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa
CI: 1804520086

AUTORA

DEDICATORIA

*“No temas, porque yo estoy contigo, no te inquietes, porque yo soy tu Dios; yo te fortalezo y te ayudo, yo te sostengo con mi mano victoriosa”
(Isaías 41:10)*

Dedico este logro a Dios por ser quien ha guiado mis pasos a esta victoria, quien siempre me ha levantado tras varias caídas demostrándome así su infinito amor y por haberme dado dos seres maravillosos como padres.

A mis padres, Juan y Johaira por ser quienes con amor me han ayudado a dar cada paso y jamás escatimaron esfuerzos para darme siempre lo mejor e impulsarme a seguir adelante. Este logro no es solo mío sino también de ustedes, los amo.

A mis Hermanos Juanito, Katy, Angie y Neithan por ser el motor que me ha impulsado a esforzarme más y no detenerme, no para ser su ejemplo a seguir, sino para demostrarles que todo se puede y que ustedes pueden hacerlo aún mejor, los amo.

A mis sobrinos Diego y Aitana, por ser mi alegría en todo momento, con cada una de sus travesuras y sonrisas, los amo.

A mis abuelitos Abdón, Vicente y Rosa que aunque ya no estén conmigo, fueron quienes me alentaron siempre a ser mejor cada día para tener un mejor presente llevando a Dios por delante en cada meta.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Técnica de Ambato a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos por haberme dado la oportunidad de aprender y compartir grandes experiencias en esta noble institución.

Al Instituto Nacional de Investigaciones agropecuarias, Departamento de Nutrición y Calidad por haberme dado la oportunidad de realizar este trabajo y brindarme todas las facilidades para hacerlo posible.

A mis padres Juan y Johaira por haberme dado la oportunidad de ser alguien en la vida, y sobre todo por haberlo hecho siempre con amor. Son mi orgullo más grande, a quienes más admiro y les debo todo lo que soy.

A mi tío Carlos, por ser como mi hermano mayor que ha estado en todo momento dándome su apoyo y cariño, ñaño te quiero mucho.

A la Ing. Elena Villacrés por haberme permitido ser parte de este trabajo y por su ayuda incondicional en todo momento.

Al Dr. Iván Samaniego y al Dr. Ignacio Angós por la confianza depositada en mi persona, por ser mi guía y apoyo en cada paso de este trabajo, por todo el tiempo dedicado al mismo y sobre todo por su amistad incondicional. Aprendí mucho de sus conocimientos, sin ustedes no lo habría logrado, gracias.

A los Ing. Bladimir Ortiz y Eder Ocaña gracias por su apoyo en este trabajo, y sobre todo gracias por su amistad que hizo más fácil y grato el tiempo que duro esta experiencia.

A mis amig@s de INIAP Mabe, Carmita, Rocio, Sory, Moni y Mire gracias por la amistad, apoyo y cariño que me brindaron en todo momento.

A toda mi familia, me faltarían páginas para nombrar a cada uno de ustedes quienes se han preocupado por mí, y de una u otra manera han hecho posible este logro, los quiero a todos.

A mis amig@s que son la familia que Dios nos permite escoger, Marjo, Gabys, Mely, Ani, Vero, Charls y Danny por su amistad incondicional y todos los momentos compartidos.

A Micky mi amor, por ser siempre mi fuerza, darme ánimo en todo momento e incentivarme siempre a levantarme y seguir adelante. Tu amor ha sido el motor que me ha ayudado a seguir cada día con más ganas de enfrentar la vida.....

Gracias por ser todo y mucho más amor. TE AMO...

Gabriela

INDICE DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD.....	iii
APROBACION DE LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL.....	iv
DERECHOS DE AUTOR.....	v
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTOS.....	vii
INDICE DE CONTENIDOS.....	ix
ÍNDICE DE TABLAS.....	xii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiv
RESUMEN.....	xvii
ABSTRACT.....	xviii
CAPITULO I.....	1
1 El PROBLEMA.....	1
1.1 Tema de Investigación.....	1
1.2 Justificación.....	1
1.3 Objetivos.....	2
1.3.1 Objetivo general.....	2
1.3.2 Objetivos Específicos.....	2
CAPITULO II.....	3
2 MARCO TEÓRICO.....	3
2.1 Antecedentes Investigativos.....	3
2.1.1 Papa.....	3
2.1.2 Fritura.....	12
2.1.3 Acrilamida.....	13
2.2 Hipótesis.....	16
2.2.1 Hipótesis nula.....	16
2.2.2 Hipótesis alternativa.....	16
2.3 Señalamiento de variables de la hipótesis.....	16
2.3.1 Variables independientes.....	16
2.3.2 Variables dependientes.....	16
CAPITULO III.....	17

3	MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1	Localización del experimento.....	17
3.2	Materiales, Equipos y Reactivos	17
3.2.1	Materia prima	17
3.2.2	Materiales de laboratorio.....	18
3.2.3	Equipos de laboratorio	18
3.2.4	Reactivos	19
3.2.5	Estándares	20
3.3	Metodología.....	20
3.3.1	Caracterización química de la materia prima.....	20
3.3.2	Proceso de fritura	21
3.3.3	Determinación de acrilamida por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) acoplada a Detector de Arreglo de Diodos (DAD)	23
3.3.4	Caracterización química de los chips de papa.....	23
3.4	Tratamiento estadístico.....	24
3.4.1	Estandarización de la metodología analítica	24
3.4.2	Determinación del tratamiento óptimo de fritura convencional	29
3.4.3	Relación entre las variables estudiadas y el contenido de acrilamida de los chips de papa obtenidos mediante procesos de fritura convencional y al vacío	29
	CAPÍTULO IV.....	31
4	RESULTADOS Y DISCUSION	31
4.1	Estandarización de la metodología analítica	31
4.2	Linealidad	31
4.3	Límite de detección y límite de cuantificación	42
4.5	Precisión	44
4.6	Exactitud.....	45
4.7	Proceso de fritura.....	47
4.7.1	Optimización del proceso de fritura convencional.....	47
4.7.2	Fritura al vacío	72
4.8	Análisis de acrilamida	73
4.8.1	Correlación de las características físico químicas de los chips de papa con el contenido de acrilamida presente en los mismos.	75
4.9	Verificación de hipótesis	83
	CAPITULO V.....	84
5	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	84
5.1	Conclusiones	84

5.2 Recomendaciones.....	85
CAPÍTULO VI.....	86
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	86
	ANEXO 1 93
	ANEXO 2 96
	ANEXO 3 97

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.- Composición química y nutricional de las variedades de papa utilizadas en la investigación.....	11
Tabla 2.- Matriz de tratamientos para el plan de experiencias de Doehler con dos puntos centrales.....	22
Tabla 3.- Esquema para la evaluación de la linealidad del método de determinación de acrilamida en papa frita.....	24
Tabla 4.- Esquema para el estudio de la repetibilidad del método.....	27
Tabla 5.- Preparación de estándares para curvas de calibración de acrilamida.....	32
Tabla 6.- Curva de calibración promedio de acrilamida para el día 1.....	32
Tabla 7.- Resultados análisis de regresión lineal para la curva de calibración del día 1.....	33
Tabla 8.- Curva de calibración promedio de acrilamida para el día 2.....	34
Tabla 9.- Resultados del análisis de regresión lineal para la curva de calibración del día 2.....	36
Tabla 10.- Curva de calibración de acrilamida para el día 3.....	37
Tabla 11.- Resultados del análisis de regresión lineal para la curva de calibración del día 3.....	38
Tabla 12.- Curva de calibración de acrilamida para el día 4.....	39
Tabla 13.- Resultados del análisis de regresión lineal para la curva de calibración del día 4.....	40
Tabla 14.- Curva de calibración global de acrilamida.....	41
Tabla 15.- Datos promedio del área correspondiente a dos niveles de contaminación de acrilamida en muestras de chips de papa.....	42
Tabla 16.- Resultados del cálculo de los límites de detección y cuantificación del contenido de acrilamida en curva estándar y matriz alimentaria (chips de papa frita) utilizando curva de calibración global.....	43
Tabla 17.- Resultados para el estudio de repetibilidad del método.....	44
Tabla 18.- Resultados del análisis de exactitud para el método de determinación de acrilamida en chips de papa frita.....	46
Tabla 19.- Resultados de la optimización del proceso de fritura para la variedad Diacol Capiro.....	47
Tabla 20.- Estimación de efectos para la respuesta humedad en la optimización del proceso de fritura de la variedad Diacol Capiro.....	48
Tabla 21.- Resultados del proceso de optimización del proceso de fritura para la variedad INIAP Josefina.....	51
Tabla 22.- Estimación de efectos para la respuesta humedad en la optimización del proceso de fritura de la variedad INIAP Josefina.....	52

Tabla 23.- Resultados de la optimización del proceso de fritura para la variedad INIAP Libertad.....	55
Tabla 24.- Estimación de efectos para la respuesta humedad en la optimización del proceso de fritura de la variedad INIAP Libertad	55
Tabla 25.- Resultados de la optimización del proceso de fritura para la variedad INIAP Natividad	58
Tabla 26.- Estimación de efectos para la respuesta humedad en la optimización del proceso de fritura de la variedad INIAP Natividad.....	58
Tabla 27.- Resultados de la optimización del proceso de fritura para la variedad Rubí	62
Tabla 28.- Estimación de efectos para la respuesta humedad en la optimización del proceso de fritura de la variedad Rubí	62
Tabla 29.- Resultados del proceso de optimización de fritura para la variedad Superchola.....	65
Tabla 30.- Estimación de efectos para la respuesta humedad en la optimización del proceso de fritura de la variedad Superchola	65
Tabla 31.- Resultados de la optimización del proceso de fritura para la variedad INIAP Victoria	69
Tabla 32.- Estimación de efectos para la respuesta humedad en la optimización del proceso de fritura de la variedad INIAP Victoria.....	69
Tabla 33.- Contenido de humedad y grasa posterior al proceso de fritura al vacío ...	72
Tabla 34.- Contenido de acrilamida en muestras seleccionadas de los procesos de fritura convencional y al vacío	74
Tabla 35.- Contenido de nitrógeno total y azúcares reductores de la variedad Diacol Capiro antes y después de los diferentes procesos de fritura	76
Tabla 36.- Contenido de nitrógeno total y azúcares reductores de la variedad INIAP Josefina antes y después de los diferentes procesos de fritura.....	76
Tabla 37.- Contenido de nitrógeno total y azúcares reductores de la variedad INIAP Libertad antes y después de los diferentes procesos de fritura	77
Tabla 38.- Contenido de nitrógeno total y azúcares reductores de la variedad INIAP Natividad antes y después de los diferentes procesos de fritura	78
Tabla 39.- Contenido de nitrógeno total y azúcares reductores de la variedad Rubí antes y después de los diferentes procesos de fritura.....	78
Tabla 40.- Contenido de nitrógeno total y azúcares reductores de la variedad Superchola antes y después de los diferentes procesos de fritura.....	79
Tabla 41.- Contenido de nitrógeno total y azúcares reductores de la variedad INIAP Libertad antes y después de los diferentes procesos de fritura	80
Tabla 42.- Variables empleadas en el análisis de correlación multivariante que influyen en la formación de acrilamida en condiciones de fritura convencional y al vacío	81

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.- Morfotipo representativo de papa variedad Capiro.....	5
Figura 2.- Morfotipo representativo de papa variedad. Josefina.....	6
Figura 3.- Morfotipo representativo de papa variedad Libertad	6
Figura 4.- Morfotipo representativo de la papa variedad Natividad	7
Figura 5.- Morfotipo representativo de la papa variedad Rubí	7
Figura 6.- Morfotipo representativo de la papa variedad Superchola.....	8
Figura 7.- Morfotipo de la papa variedad Victoria.....	8
Figura 8.- Estructura química de la acrilamida	14
Figura 9.- Departamento de Nutrición y Calidad (INIAP, EESC).....	17
Figura 10.- Proyección del Plan de experiencias de Doehler.....	22
Figura 11.- Representación gráfica de la ecuación (“trompeta”) de Horwitz (Codex Alimentarius, 2009).....	28
Figura 12.- Curva de calibración de acrilamida, día 1	33
Figura 13.- Curva de calibración de acrilamida día 2.....	35
Figura 14.- Curva de calibración de acrilamida día 3	37
Figura 15.- Curva de calibración de acrilamida día 4.....	39
Figura 16.- Curva de calibración global de acrilamida.....	41
Figura 17.- Análisis de regresión para muestra de chips de papa contaminada a dos niveles de concentración de acrilamida.....	43
Figura 18.- Precisión del método de contaminación de acrilamida en chips de papa en dos niveles de concentración, representación gráfica de los valores reales para el nivel bajo (NR1) de 425 µg/kg y para el nivel alto (NR2) de 703 µg/kg, así como los valores de reales para el nivel bajo (NT1) de 500 µg/kg, y para el nivel alto (NT2) de 750 µg/kg	45
Figura 19.- Diagrama de Pareto de la estimación de los efectos para la respuesta experimental humedad en la variedad Diacol Capiro	48
Figura 20.- Superficie de respuesta representando la influencia de los parámetros tiempo y temperatura del proceso de fritura convencional, en la humedad final de los chips de papa frita variedad Diacol Capiro	50
Figura 21.- Chips fritos de papa de la variedad Diacol Capiro. (a) condiciones óptimas, (b) condiciones de sobrefritura.....	51
Figura 22.- Diagrama de Pareto de la estimación de los efectos para la respuesta experimental humedad en la variedad INIAP Josefina	52
Figura 23.- Superficies de respuesta representando la influencia de los parámetros tiempo y temperatura de proceso de fritura convencional, en la humedad final de los chips de papa frita variedad INIAP Josefina.....	53
Figura 24- Chips de papa de la variedad INIAP Josefina (a) condiciones óptimas, (b)	

condiciones de sobrefritura	54
Figura 25.- Diagrama de Pareto de la estimación de los efectos para la respuesta experimental humedad variedad INIAP Libertad	56
Figura 26.- Superficies de respuesta representando la influencia de los parámetros tiempo y temperatura del proceso de fritura convencional, en la humedad final de los chips de papa frita variedad INIAP Libertad	57
Figura 27- Chips de papa de la variedad INIA Libertad (a) condiciones óptimas, (b) condiciones de sobrefritura variedad INIAP Libertad	58
Figura 28.- Diagrama de Pareto de la estimación de los efectos para la respuesta experimental humedad variedad INIAP Natividad	59
Figura 29.- Superficies de respuesta representando la influencia de los parámetros tiempo y temperatura del proceso de fritura convencional, en la humedad final de los chips de papa frita variedad INIAP Natividad	60
Figura 30- Chips fritos de papa variedad INIAP Natividad (a) condiciones óptimas y (b) condiciones de sobrefritura	61
Figura 31.- Diagrama de Pareto de la estimación de los efectos para la respuesta experimental humedad variedad Rubí.....	63
Figura 32.- Superficie de respuesta representando la influencia de los parámetros tiempo y temperatura del proceso de fritura convencional, en la humedad final de chips de papa frita de la variedad Rubí	64
Figura 33- Chips fritos de papa de la variedad Rubí (a) condiciones óptimas y (b) condiciones de sobrefritura	65
Figura 34.- Diagrama de Pareto de la estimación de los efectos para la respuesta experimental humedad variedad Superchola	66
Figura 35.- Superficie de respuesta representando la influencia de los parámetros tiempo y temperatura del proceso de fritura convencional, en la humedad final de los chips de papa frita variedad Superchola.....	67
Figura 36- Chips fritos de papa de la variedad Superchola (a) condiciones óptimas y (b) condiciones de sobrefritura	68
Figura 37.- Diagrama de Pareto de la estimación de los efectos para la respuesta experimental humedad variedad INIAP Victoria	70
Figura 38.- Superficie de respuesta representando los parámetros tiempo y temperatura del proceso de fritura convencional, en la humedad final de los chips de papa frita variedad INIAP Victoria	71
Figura 39.- Chips fritos de papa de la variedad INIAP Victoria (a) condiciones óptimas y (b) condiciones de sobrefritura variedad	72
Figura 40. Chips de papa a condiciones de vacío (125 °C / 11,30 kPa) a) variedad Diacol Capiro; b) variedad INIAP Josefina; c) variedad INIAP Libertad; d) variedad INIAP Natividad; e) variedad Rubí; f) variedad Superchola; g) variedad INIAP Victoria.....	73
Figura 41. Correlación entre los valores de acrilamida observada y predicha a partir del contenido de azúcares reductores y nitrógeno total consumido durante el proceso	

de fritura de las papas estudiadas. Valores en $\mu\text{g}/\text{kg}$	82
Figura 42.- Correlación entre los valores de acrilamida observada y predicha a partir del contenido de azúcares reductores y nitrógeno total consumido durante el proceso de fritura de las papas estudiadas. Valores en $\mu\text{g}/\text{kg}$	83
Figura 43.- Curva de calibración de azúcares reductores, método de ácido pícrico..	96
Figura 44.- Curva de calibración de azúcares reductores, método DNS.	97

RESUMEN

En este estudio se determinó la contaminación por acrilamida en chips de papa elaborados mediante dos procesos de fritura convencional y al vacío, empleando 7 variedades de papa cultivadas por el INIAP. El proceso de fritura convencional se realizó mediante el plan experimental de Doehler, con dos factores, tiempo y temperatura y dos puntos centrales frente a la respuesta experimental humedad. El tratamiento óptimo para cada variedad de papa se tomó en base al contenido de humedad tras el proceso de fritura y la calidad visual de los chips, obteniéndose las condiciones óptimas de 175°C-165 segundos para las variedades Diacol Capiro, Rubí, Superchola e INIAP-Victoria, 162°C-88 segundos, para las variedades Josefina y Natividad y 175°C-120 segundos para la variedad INIAP-Libertad. El contenido de acrilamida de los chips se comparó entre condiciones óptimas de fritura, condiciones de sobrefritura (188°C-188 segundos) y fritura a vacío (125°C-6 min a 11,30kPa).

El método de determinación de acrilamida desarrollado mediante HPLC consiguió establecer un límite de detección y cuantificación de 1,530 y 5,101µg/kg respectivamente en curva estándar, mientras que en la matriz del alimento contaminado los valores límite de detección y cuantificación fueron de 316,12 y 635,50µg/kg respectivamente.

Los contenidos de acrilamida obtenidos para fritura a vacío y convencional optimizada estuvieron por debajo de los límites legales establecidos por la legislación europea para papas tipo *chip* (1000µg/kg) en todos los casos de fritura al vacío, y convencional optimizada. Para sobrefritura, se encontraron valores superiores al permitido, en las variedades Diacol Capiro, Rubí, INIAP- (Libertad y Josefina).

Palabras clave: papa, fritura, acrilamida, INIAP, HPLC.

ABSTRACT

In this study, contamination by acrylamide in potato chips prepared by two conventional frying and vacuum processes was determined, using 7 potato varieties grown by the INIAP. The conventional frying process was carried out using Doehler's experimental plan, with two factors, time and temperature and two central points against the experimental moisture response. The choice of the optimal treatment for each variety of potato studied was based on the final moisture content after the frying process and the visual quality of the potato chips, obtaining optimum conditions of 175 °C for 165 seconds for the Diacol varieties. Capiro, Rubí, Superchola and INIAP Victoria, 162 °C for 188 seconds, for the Josefina and Natividad varieties and 175 °C for 120 seconds for the INIAP Libertad variety. The acrylamide content of potato chips at optimum frying conditions was compared to the acrylamide content obtained after an overfilling process (188 °C for 188 seconds) and a vacuum frying process (125 °C for 6 min at 11.30 kPa).

The method of determination of acrylamide developed by HPLC was able to establish a limit of detection of 1,530 µg/kg and a limit of quantification of 5,101 µg/kg in the standard curve, while in the contaminated food matrix the limit values of detection and quantification were 316.12 and 635.50 µg/kg respectively.

Acrylamide contents obtained for conventional frying at optimal conditions and vacuum frying were below the legal limits established by European legislation for chip-type potatoes (1000 µg / kg) in all cases of vacuum frying, and conventional optimized. In the case of overfilling, values higher than what was allowed were found in the varieties Diacol Capiro, Rubí, INIAP Libertad and Josefina. At the other extreme, the INIAP-Natividad and Superchola varieties turned out to be ideal for processing chips as they do not present contamination in any of the treatments chosen for the study.

Key words: potato, frying, acrylamide, INIAP, HPLC.

CAPITULO I

EI PROBLEMA

1.1 Tema de Investigación

Evaluación de la contaminación por acrilamida, generada durante el proceso de fritura convencional y al vacío en chips de 7 variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.)

1.2 Justificación

Actualmente a nivel mundial un riesgo que genera gran preocupación en la salud de los consumidores y que es la razón de estudio, es la presencia de acrilamida en ciertos alimentos de consumo humano, ricos en almidón. Estudios realizados por varios investigadores, demuestran que dicha sustancia se presenta en este tipo de alimentos cuando son sometidos a procesos de fritura u horneado a temperaturas superiores a los 120 °C. La acrilamida es un compuesto químico, que se produce por la reacción del aminoácido asparagina con diversos azúcares reductores a altas temperaturas, esta sustancia es altamente tóxica y ha sido considerada como contaminante pro-cancerígeno en humanos (Grupo 2A) por la Agencia Internacional de Investigaciones para el Cáncer (IARC), y que además posee propiedades mutagénicas y degenerativas, que tras exposiciones agudas se comporta como un neurotóxico.

Por esta razón a partir del año 2002, se ha generado gran interés y preocupación por parte de los consumidores, profesionales y especialmente autoridades sanitarias a nivel mundial, sin embargo, hasta la fecha en Ecuador no se han realizado investigaciones relacionadas con el tema directamente en alimentos de consumo nacional. Con este proyecto se busca proporcionar una base de información sobre la forma de generación/contaminación de acrilamida en alimentos de consumo masivo como la papa, ya que según la base de datos emitidos por el MAGAP para el año 2013, el consumo per cápita de papa en Ecuador es de 23,06 kg/año.

La presente investigación pretende realizar el monitoreo de la contaminación generada por la presencia de acrilamida en productos tipo Chips de 7 variedades de papas producidas en el INIAP, mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución acoplada

a Detector de Arreglo de Diodos (DAD), permitiendo cuantificar y evaluar los niveles de contaminación originados por dos procesos de producción; fritura convencional y al vacío.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

- Evaluar la contaminación por acrilamida durante los procesos de fritura convencional y al vacío en chips de 7 variedades de papa.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Adaptar una metodología para determinar acrilamida por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) acoplada a detector de arreglo de diodos (DAD).
- Determinar la influencia de dos procesos de fritura sobre la formación de acrilamida en 7 variedades de papa.
- Realizar el análisis de regresión y correlación entre las propiedades físico químicas que influyen sobre la formación de acrilamida.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes Investigativos

2.1.1 Papa

2.1.1.1 Origen

La papa (*Solanum tuberosum* L.), un cultivo originario de la zona andina de América del Sur, en la tierra alta localizada entre Perú y Bolivia, con el tiempo se extendió a muchos países de América Latina, donde fue domesticada y cultivada desde hace 7000 años. Existe evidencia arqueológica que prueba que varias culturas antiguas como las Inca, Tiahuanaco, Nazca y Mochica, cultivaron papa (**Andrade, 1997; Huáman et al., 1997**).

2.1.1.2 Importancia

La papa tiene un rol clave en la cadena alimenticia global, ya que fuera de los cereales es el alimento más importante del mundo, por su alto valor nutricional y gran aporte energético. Es originario de la región andina y considerado como el vegetal número uno del mundo, con una producción de 385 millones de toneladas/año y una superficie cosechada de 19 millones de hectáreas, siendo China, India, Rusia, Ucrania y Estados Unidos los cinco mayores productores. Con respecto a nuestra región, Ecuador ocupa el octavo lugar con 443 mil toneladas (**FAO, 2014; Monteros Guerrero, 2016; Pumisacho y Velásques, 2009**).

2.1.1.3 Consumo

A nivel nacional la papa ocupa el séptimo lugar entre los principales cultivos tradicionales, estando presente en 12 provincias del país, con un consumo per cápita de 23,6 kg/año, de los cuales el 90 % se consume en fresco y el 10 % restante se consume en forma de hojuelas (chips) y papas fritas tipo bastón (*french fries*). En

Ecuador a partir de 1994, el consumo de comidas rápidas ha aumentado a un ritmo anual del 6 %. En los últimos cinco años la industrialización de la papa en Sudamérica se elevó del 2 al 20 % y en Ecuador del 0,5 al 11 %. Se estima que 4,19 % de la producción nacional (17183 T/año), es destinada a la producción de papas en forma de chips (**Andrade et al., 2002; Devaux et al., 2010; ESPAC, 2014; Jácome, 2008**).

2.1.1.4 Variedades mejoradas

Las variedades de papa cultivadas en el país se clasifican en dos grupos: nativas y mejoradas. Las primeras son cultivares locales sometidas a procesos de domesticación, selección y conservación ancestral; mientras que las segundas son el resultado de procesos de mejoramiento genético y poseen mayor potencial de rendimiento, resistencia a enfermedades y óptima calidad culinaria (**Cuesta et al., 2005; Torres et al., 2011**).

2.1.1.5 Características de calidad externa de la papa

2.1.1.5.1 Tamaño y forma

El tamaño, forma y profundidad de los ojos están determinados por la condición genética de la variedad, de la densidad de la población de las plantas y las prácticas culturales de manejo. La forma de tubérculo preferida para papas tipo chips es la redonda u ovalada, con un rango de tamaño entre 4-6 cm de largo. La profundidad de los ojos deseable para facilitar el pelado es la descrita como superficial (**Andrade, 1997; Contreras y Krusch, 2001; Oviedo, 2005**).

2.1.1.5.2 Color

Cada variedad tiene un color de piel propio y las variaciones de color son debidas a mezclas varietales, por tanto, tienen una aptitud de uso diferente. La presencia de antocianinas diversas en el peridermo o células corticales periféricas es la responsable del color base de la pigmentación de la piel, al que se añaden diferentes tipos de

carotenoides identificados en los tubérculos que aportan diferentes tonalidades secundarias al color de la pulpa. A nivel nacional la preferencia de color de piel y pulpa son color roja, crema o rosada y amarilla, respectivamente (**Andrade, 1997; Contreras y Krusch, 2001; J. E. Rivera et al., 2003**).

2.1.1.6 Características físicas de las variedades de papa mejoradas usadas en la investigación.

Papa Diacol Capiro, esta variedad fue generada por el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), y es utilizada principalmente para consumo en fresco (sopas y cocida con cáscara). En Colombia, el principal uso de esta variedad es el procesamiento de productos fritos tipo chips y bastones, sin embargo, sus costos de producción son altos. Los tubérculos son redondos, ligeramente aplanados, de piel roja y color secundario morado, con ojos superficiales y pulpa color crema. En la Figura 1 se presenta el morfotipo de esta variedad (**Ñustez, 2010**).



Figura 1.- Morfotipo representativo de papa variedad Capiro

INIAP-Josefina, es una variedad desarrollada dentro del INIAP, la cual tiene tolerancia a la sequía, es apta para el consumo en fresco en forma de papa cocinada, sopas, puré y tortillas. Este tubérculo tiene forma oblonga con ojos medios, piel de color rojo pálido sin color secundario y pulpa de color amarilla. En la Figura 2 se presenta el morfotipo de esta variedad (**Cuesta, Oyarzún, et al., 2015**)



Figura 2.- Morfotipo representativo de papa variedad. Josefina

INIAP-Libertad, variedad desarrollada dentro del INIAP, la cual presenta como característica principal resistencia a la lancha (*Phytophthora infestans*) precocidad y calidad, es apta para el consumo en fresco en sopas, papa frita tipo chips y bastón. Los tubérculos tienen forma ovalada y aplanada, con ojos superficiales, piel de color amarillo sin color secundario y color de pulpa crema. En la Figura 3, se presenta el morfotipo de esta variedad (Cuesta, Oyarzún, et al., 2015).



Figura 3.- Morfotipo representativo de papa variedad Libertad

INIAP-Natividad, variedad desarrollada dentro de INIAP, cuya característica es que tiene resistencia a la lancha (*Phytophthora infestans*) para la Sierra Centro-Norte, es apta para el consumo en fresco, como papa cocinada, sopas, puré, tortillas, y papas fritas tipo bastó y mantiene su consistencia arenosa después de cocinada. Los tubérculos son oblongos, de piel amarilla con manchas rosadas, ojos de profundidad mediana y pulpa amarilla. En la Figura 4 se presenta el morfotipo de esta variedad (Cuesta, Rivadeneira, Monteros, et al., 2011; Torres et al., 2011).



Figura 4.- Morfotipo representativo de la papa variedad Natividad

Rubí, esta variedad es generada por el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), apta para el consumo en fresco, adecuada para caldos, sopas y cocida. Los tubérculos son de forma comprimida, color de la piel rojo-morado sin color secundario, con ojos superficiales y pulpa de color crema. En la Figura 5 se presenta el morfotipo de esta variedad (Ñustez, 2010).



Figura 5.- Morfotipo representativo de la papa variedad Rubí

Superchola, es una variedad que fue obtenida en 1984 por el genetista autodidacta Germán Bastidas (El Universo, 2004), siendo apta para consumo en fresco: sopa, puré y para procesamiento de papas fritas en forma de chips y tipo francesa. Los tubérculos son medianos, forma elíptica a ovalada, piel rosada y lisa, con ojos superficiales y pulpa amarilla pálida. En la Figura 6 se presenta el morfotipo de esta variedad (Andrade, 1998; Torres et al., 2011).



Figura 6.- Morfotipo representativo de la papa variedad Superchola

INIAP-Victoria, es una variedad desarrollada en el INIAP, apta para el consumo en fresco en forma de papa cocinada, sopas puré, tortillas y procesada en forma de papas fritas tipo bastón y chips. Los tubérculos son ovalados, con ojos superficiales, el color de la piel es rojo-morado-claro y el color de la pulpa es amarillo sin color secundario. En la Figura 7 se presenta el morfotipo de esta variedad (**Cuesta, Rivadeneira, Monteros, et al., 2011; Torres et al., 2011**).



Figura 7.- Morfotipo de la papa variedad Victoria

2.1.1.7 Características de calidad interna de la papa

Varios autores en sus investigaciones mencionan que la calidad y el contenido nutricional de la papa varían de acuerdo a la variedad y las condiciones del campo. La humedad en el tubérculo fresco está entre el 63 y el 87 %, los hidratos de carbono entre el 13 y el 30 % (incluyendo el contenido de fibra que varía entre el 0,17 y el 3,48 %), la proteína entre 0,7 y el 4,6 %, la grasa entre el 0,02 y el 0,96 % y las cenizas entre el 0,44 y el 1,9 %. De igual manera, el tubérculo presenta una cantidad apreciable de

componentes nutricionales básicos como azúcares, ácido ascórbico y otras vitaminas **(Andrade et al., 2002; Devaux et al., 2010).**

2.1.1.7.1 Contenido de materia seca

Esta característica es de mucha importancia en la calidad de los tubérculos, la cual está influenciada por factores como: variedad, prácticas de cultivo, condiciones climáticas, tipo de suelo e incidencia de plagas y enfermedades. Un contenido elevado de materia seca, equivale a un peso específico alto, lo cual implica un elevado rendimiento productivo en la industrialización (25-35 %), disminuyendo el consumo de aceite, reduciendo costos y disminuyendo la cantidad de energía necesaria para evaporar el agua **(Andrade, 1997; Borruey et al., 1999; Cecchini, 2000).**

2.1.1.7.2 Contenido de azúcares reductores

Los principales azúcares reductores presentes en el tubérculo son glucosa y fructosa, variando su contenido de acuerdo a la madurez del tubérculo y las condiciones de almacenamiento. Por esta razón su contenido disminuye conforme aumenta su madurez. Adicionalmente, no se deben utilizar temperaturas de almacenamiento inferiores a 10 °C para evitar su incremento (endulzado por frío), para que no haya una repercusión negativa en el sabor y la textura **(Aguilera Tapia y Salazar, 1998; Gravouelle, 1996; Grison et al., 1987).**

Contenidos bajos de azúcares reductores influyen directamente en la coloración de las papas sometidas a procesos de fritura, especialmente en chips, por el contrario, un contenido alto produce un color marrón oscuro y sabor amargo. De acuerdo a esto el contenido máximo de azúcares reductores en el tubérculo debe ser de 0,1 % en base a su peso en fresco. Un contenido superior a 0,33 % se considera indeseable, puesto que favorecen al ennegrecimiento de las papas durante el proceso de fritura, conocido como reacción de Maillard, la cual sucede entre el grupo reductor (grupo aldehído), y el grupo amino de los aminoácidos **(Aguilera Tapia y Salazar, 1998; Moreno, 2000a;**

Rodríguez, 2000).

2.1.1.7.3 Ennegrecimiento enzimático del tubérculo

La variación de la coloración de la pulpa del tubérculo es un problema que se presenta al pelar y cortar el mismo, puesto que se produce un color necrosado en la pulpa, siendo un problema tanto de cultivadores como procesadores ya que incide en el aumento de costos a través de las pérdidas. Este cambio de coloración se debe a un proceso de reacciones de pardeamiento, producidas por la oxidación de la tirosina y otros fenoles ortohídricos por la enzima polifenoloxidasasa (PPO). Para el control de este problema se emplean medios químicos que afectan a la actividad de la PP, por alteración del pH mediante adición de agentes quelantes, limpiadores, reductores, usando bisulfitos o compuestos sulfhidrilo (**Andrade, 1997; Dale y Mackay, 1994**).

2.1.1.7.4 Características de calidad química y nutricional de las variedades de papa

En la Tabla 1 se presenta una compilación de datos correspondientes a las características de calidad química y nutricional de las variedades de papa mejoradas utilizadas en la investigación.

Tabla 1.- Composición química y nutricional de las variedades de papa utilizadas en la investigación

	CARACTERÍSTICAS																							
	Materia seca	Azúcares totales	Azúcares reductores	Proteína	Fibra	Polifenoles	Carotenoides	Zinc	Fe	Manganeso	Cobre	Calcio	Fósforo	Magnesio	Potasio	Sodio	Vitamina C	Grav edad específicas	Lisina	Amilosa	Almidón	Cocción	Papa cocida	
UNIDADES	(%)	(%)*	(%)*	(%)*	(%)*	(mg/g)*	(µg/100gr)*	(ppm)*	(ppm)*	(ppm)*	(ppm)*	(%)*	(%)*	(%)*	(%)*	(%)*	(mg/100g)		(mg/g)*	(%)*	(%)*	(min)	(color)	
VARIEDAD																								
Diacol	20-22		0,1																					
Capiro																								
INIAP-Josefina	22-24		0,17-0,22	8,91		3,02	562,3	7,72	53,28								12,95					28	crema	
INIAP-Libertad	22		0,07			2,77	188,93	18,15	84								34,07	1,09	36,59			25	crema	
INIAP-Natividad	20,41	0,05	0,02	10,03														1,089			69,27	20	crema	
Rubi	20,21-23																							
Super chola	22,5		0,15	8,5		71,7		8	42						1,73		19,6	1,098						
INIAP-Victoria	20,9		0,15	8,16	2,61	2,42	39	52		7		0,02	0,17	0,1	1,47	0,02	7			16	68,75	20	amarilla	

Fuentes: Cuesta, Oyarzún, et al. (2015), Cuesta, Rivadeneira, Monteros, et al. (2011), Cuesta, Rivadeneira, et al. (2015), Cuesta, Rivadeneira, Reinoso, et al. (2011), Moreno (2000b), Ñustez (2010), Torres et al. (2011)

*Datos en base seca. Evaluación a 3050 m.s.n.m.

2.1.2 Fritura

El proceso de fritura de los alimentos es uno de los métodos de cocción con mayor aceptación a nivel mundial, puesto que confiere a los alimentos ciertas características únicas, debido a que se realiza a altas temperaturas de transferencia de calor, cocción rápida y cambio en las propiedades físicas y sensoriales como: aroma, sabor y textura, las cuales son imposibles de conseguir con otras técnicas de procesado. Además, actúa como método de conservación, como resultado de la destrucción de microorganismos, e inactivación de enzimas por efecto del calor y la reducción de actividad de agua **(Bravo, 2008; Fellows, 2000; Sutaerna Hurtado, 2009; Tirado et al., 2012)**.

2.1.2.1 Fritura convencional

El método de fritura convencional, es un proceso de cocción de los alimentos, por inmersión en aceite o grasa comestible a temperaturas superiores al punto de ebullición del agua, (130 y 200 °C), aunque las más comunes varían entre 170-190 °C, y a condiciones de presión atmosférica. Este proceso, implica de manera simultánea una transferencia de masa y calor, provocando dos flujos a contracorriente en la superficie del alimento, uno de vapor de agua hacia el exterior del producto (evidenciado en forma de burbujas) y el otro de aceite hacia al interior del alimento. La alta temperatura además produce alteraciones físico-químicas y cambios macroestructurales significativos en los principales componentes del alimento **(Bouchon, 2008; Bravo, 2008; Fillion y Henry, 1998; Parkash Kochhar y Gertz, 2004; Saguy y Dana, 2003; Varela Mosquera et al., 1988)**.

Durante el proceso de fritura tienen lugar cambios físicos químicos y nutricionales en el alimento, los cuales dependen entre otros factores de la humedad, tipo de alimento, calidad del aceite utilizado, temperatura del proceso, tiempo de exposición del alimento en el aceite caliente, dando como resultado gelatinización de almidones, desnaturalización de proteínas, eliminación de vapor de agua y formación de una corteza **(Bravo, 2008; Dobarganes et al., 2000; Moreira, 2001; Sharma et al., 2003)**.

En el proceso de fritura se producen cambios en el aceite empleado, ya que aumenta su viscosidad, disminuye la tensión superficial, y se originan reacciones de oxidación,

todos estos cambios inciden en la disminución de los componentes nutricionales del alimento y un aumento de la formación de compuestos tóxicos, como polímeros y monómeros de ácidos cíclicos y compuestos polares que pueden pasar al alimento y ser ingeridos por los consumidores **(Addis y Warner, 1991; Esterbauer, 1993; Mestdagh et al., 2007; Romero et al., 2006; Sharma et al., 2003)**.

En la actualidad el consumo de alimentos fritos es considerado un factor de riesgo para la salud, debido a su alto valor calórico por la grasa adquirida en el proceso de producción y la formación de compuestos tóxicos por procesos agresivos de fritura, entre los cuales se destaca la formación de acrilamida, la misma que está relacionada con el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer **(OMS, 2002; Sutaerna Hurtado, 2008)**.

2.1.2.2 Fritura al Vacío

El proceso de fritura al vacío consiste en el mismo principio que la fritura convencional, pero se diferencia en que se efectúa en un sistema cerrado, haciendo posible disminuir la temperatura de ebullición de los solventes del alimento, principalmente el agua. Durante este proceso, cuando el aceite alcanza la temperatura de ebullición del agua a una determinada presión, ésta se remueve del alimento. Las condiciones de temperatura del aceite y presión interior en el recipiente observadas en la literatura se sitúan entre 110 y 130 °C y 3 a 11,30 kPa respectivamente. En esas condiciones, la temperatura de ebullición del agua es próxima a la ambiente, por lo cual, el alimento se procesa en condiciones de bajas temperaturas y bajo contenido de oxígeno, consiguiéndose preservar mejor su color y sabor **(Shyu y Hwang, 2001; Untuña, 2013)**.

2.1.3 Acrilamida

2.1.3.1 Origen y propiedades

La acrilamida, 2-propenamida o etilén carboxamida, es una molécula reactiva, soluble en agua y disolventes polares como acetona, etanol y metanol. Además, es una sustancia sólida, inodora, de color blanco cristalino, con peso molecular de 71,08 g/mol, punto de fusión de $84,5 \pm 0,3$ °C y un punto de ebullición de 136 °C a 3,3 kPa

(25 mm Hg), cuya estructura química se presenta en la Figura 8 (American Cyanamid y Process Chemicals, 1969; Habermann, 1991; Knol, 2008; Norris, 1967).

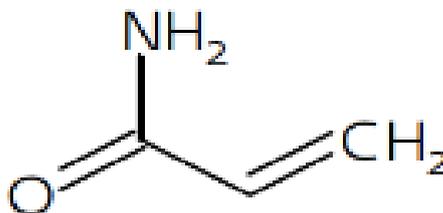


Figura 8.- Estructura química de la acrilamida

Esta molécula química es conocida por su amplio uso industrial en la síntesis de poliacrilamidas, fundamentalmente empleada para el tratamientos de agua, como aditivo en cosméticos, procesamiento de minerales y en la formulación de agentes selladores para túneles, represas y alcantarillas (Smith y Oehme, 1991).

2.1.3.2 Efectos tóxicos

Investigaciones realizadas actualmente basadas en resultados obtenidos en bioensayos con roedores, han definido a la acrilamida como pro-cancerígeno en humanos (Grupo 2A) por la Agencia Internacional de Investigaciones para el Cáncer, agente tóxico para la reproducción según la UE, y además posee propiedades mutagénicas (categoría 2) y degenerativas, que tras exposiciones agudas tiene efectos neurotóxicos. La posible causa de su carcinogenicidad y genotoxicidad se debe especialmente a la glicilamida y su metabolito epóxido que podrían ser formados en alimentos procesados (Erdreich y Friedman, 2004; IARC, 1994; NFSA, 2002; OMS, 2002; SCF, 2002).

2.1.3.3 Formación en alimentos

Un riesgo que genera gran preocupación en la salud de los consumidores a nivel mundial, es la presencia de acrilamida en los alimentos ricos en almidón principalmente, y que son sometidos a procesos de fritura u horneado a temperaturas superiores a 120 °C, por lo cual se han realizado varias investigaciones a nivel mundial

sobre la formación y contaminación producida por ésta molécula en los alimentos, cabe recalcar que su presencia es nula en alimentos crudos y hervidos. Entre los alimentos en donde se puede encontrar acrilamida se pueden mencionar: alimentos a base de papa (fritas y chips), galletas, cereales para el desayuno, alimentos para bebés a base de cereales, café y pan (**Claeys et al., 2005; EFSA, 2009; Lingnert et al., 2002; Mottram et al., 2002; OMS, 2002; Stadler et al., 2004; Tareke et al., 2002**).

La reacción de Maillard, es considerada el principal mecanismo para la formación de acrilamida, con la cual se forman sustancias que inciden en la calidad del alimento (color, sabor o aroma característico). La reacción de formación de acrilamida se da entre los precursores, el aminoácido asparagina y diversos azúcares reductores, en la cual se genera un compuesto carbonílico, el N-glicosil y un conjugando o base de Schiff, a partir de la cual se dan una serie de reacciones con diferentes productos intermediarios altamente reactivos formando acrilamida (**Crosa et al., 2014; De Vleeschouwer et al., 2009; Koutsidis et al., 2009; Medeiros Vinci et al., 2012**).

2.1.3.4 Exposición dietaria

A partir del año 2002, varias investigaciones reportaron los primeros hallazgos sobre la presencia de acrilamida en alimentos, la misma que se origina durante el proceso de producción de alimentos fritos principalmente. Estos estudios demostraron que los niveles de contaminación de esta molécula varía en los diferentes tipos de alimentos en base a su origen, composición y modo de preparación, siendo las papas fritas el alimento más investigado en varios países, reportando concentraciones promedio de 537 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de acrilamida con un valor mínimo $<50 \mu\text{g}/\text{kg}$ y un máximo de 3500 $\mu\text{g}/\text{kg}$, en chips de papa. Además la OMS señala que la ingesta de acrilamida es variable y se estima un consumo diario entre 0,3 a 0,8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corporal, siendo los niños la población más vulnerable ya que su consumo es de dos a tres veces mayor a la de un adulto expresada en base a su peso corporal (**Konings et al., 2003; OMS, 2002; Valenzuela y Ronco, 2007**). A este respecto, la legislación europea ofrece unos valores indicativos máximos de acrilamida que oscilan entre los 600 y los 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de alimento, en el caso de las papas fritas (UE, 2013).

2.1.3.5 Métodos de análisis

Para la determinación de acrilamida, a través del tiempo se han desarrollado varias técnicas analíticas de acuerdo al tipo de producto que se desea analizar. En tal virtud para el análisis de ésta molécula en matrices complejas como los productos alimenticios, actualmente se utilizan técnicas que han proporcionado resultados confiables como Cromatografía Gaseosa (GC) y Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) (Bologna et al., 1999; Castle, 1993; EPA, 1996; Eriksson, 2005; Hernández, 2007; Tekel et al., 1989).

2.2 Hipótesis

2.2.1 Hipótesis nula

Ho: Los contenidos de azúcares reductores y nitrógeno total, consumidos durante los procesos de fritura convencional y al vacío, no tienen influencia significativa sobre la producción y/o generación de acrilamida en los chips de las 7 variedades de papa en estudio.

2.2.2 Hipótesis alternativa

H1: Los contenidos de azúcares reductores y nitrógeno total, consumidos durante los procesos de fritura convencional y al vacío, influyen significativamente sobre la producción y/o generación de acrilamida en los chips de las 7 variedades de papa en estudio.

2.3 Señalamiento de variables de la hipótesis

2.3.1 Variables independientes

- Contenido de azúcares reductores
- Contenido de nitrógeno total

2.3.2 Variables dependientes

- Contenido de acrilamida

CAPITULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización del experimento

La presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Servicio de Análisis e Investigación en Alimentos (LSAIA) del Departamento de Nutrición y Calidad de la Estación Experimental Santa Catalina (EESC) del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), y en la Planta Piloto de la Universidad Tecnológica Equinoccial (UTE).



Figura 9.- Departamento de Nutrición y Calidad (INIAP, EESC)

3.2 Materiales, Equipos y Reactivos

3.2.1 Materia prima

Para la presente investigación se utilizaron 7 variedades de papa para fritura, Capiro, Josefina, Libertad, Natividad, Rubí, Superchola y Victoria, cada muestra estuvo constituida por 4 kg de papa y se obtuvo con la colaboración de los técnicos del programa Nacional de Raíces y Tubérculos-Rubro papa del INIAP-EESC y el Centro Internacional de Papa (CIP).

3.2.2 Materiales de laboratorio

- Agitadores magnéticos
- Balones volumétricos de 5 a 100 mL
- Cartuchos de celulosa
- Columnas SPE para purificación (recuperación $\geq 90\%$)
- Cubetas de plástico descartables para espectrofotometría
- Embudos de filtración de vidrio
- Envases de plástico de 250 mL
- Espátulas de metal
- Fundas de aluminio
- Gradillas porta tubos de ensayo
- Jeringuillas de polipropileno de 5mL desechables
- Membrana HV (Durapore) EM PVDF, 0,22 μm de poro, 25 mm de diámetro.
- Micropipeta automática de 100 a 1000 μL y de 10 a 100 μL
- Papel filtro de 12,5 cm de diámetro Whatman 4 o equivalente
- Pera de succión de tres válvulas
- Picetas de plástico
- Pipetas Pasteur de vidrio
- Pipetas volumétricas de 10 mL
- Probetas de borosilicato de 10mL a 1000mL
- Puntas para micropipeta automática
- Tubos de ensayo de borosilicato con tapón rosca de 16 mL de capacidad
- Tubos de ensayo de vidrio con punta cónica de 10 y 15 mL
- Varillas de agitación
- Vasos de precipitación de borosilicato de 10 a 1000 mL
- Vasos de vidrio para licuadora de 500 mL
- Viales de vidrio para HPLC

3.2.3 Equipos de laboratorio

- Agitador eléctrico vortex Mixer
- Balanza analítica de capacidad de 220g y precisión de 0.1mg (Shimadzu AUX220)

- Baño María (Memmert)
- Baño Ultrasonido (Cole Parmer)
- Centrifuga WIFUG
- Cronómetro digital (Thomas Scientific)
- Equipo de Extracción en fase sólida al vacío (Waters)
- Equipo de purificación de agua MILLI-Q ACADEMIC
- Equipo HPLC (Agilent 1200 series)
- Equipo para determinación de grasa FOSS SOXHLET 2043
- Equipo para determinación de proteína FOSS KJELNDHAL 8400
- Espectrofotómetro Uv-Visible (Shimadzu 2201)
- Estufas
- Evaporador de muestras.
- Freidora al vacío
- Freidora eléctrica (Croydon)
- Licuadoras (Osterizer)
- Molino (Thomas Wiley)
- Plancha Agitadora / calentadora (Cole Parmer)
- Rebanador eléctrico de hojuelas de papa (Robot Couple CL 50)
- Refrigerador
- Termómetro digital (I.R. THERMOMETER-France)

3.2.4 Reactivos

- Acetonitrilo grado HPLC
- Ácido 3,5-dinitrosalicílico grado p.a.
- Ácido Acético pureza del 99,8 %
- Ácido ascórbico grado p.a.
- Ácido pícrico grado p.a.
- Agua tipo I (Milli-Q)
- Bicarbonato de sodio grado p.a.
- Bisulfito de sodio grado p.a.
- Carbonato de calcio grado p.a.
- Carbonato de sodio grado p.a.

- Cloruro de sodio grado p.a.
- Dihidrógeno fosfato de potasio anhidro grado p.a.
- Etanol al 80 % grado p.a.
- Fenol cristalizado grado p. a.
- Gas Nitrógeno pureza del 99,9 %
- Grasa especial para fritura
- Hexano grado HPLC
- Hexano grado p.a.
- Hidrogeno fosfato di-sódico anhidro grado p.a.
- Hidróxido de sodio grado p.a.
- Sulfato de Magnesio grado p.a.
- Supelclean PSA-SPE
- Tartrato de sodio y potasio grado p.a.

3.2.5 Estándares

- Estándar de acrilamida pureza > 99 % (Sigma A3553)
- Estándar de glucosa pureza > 99,5 % (Sigma G8270)

3.3 Metodología

3.3.1 Caracterización química de la materia prima

Dentro de esta categoría se realizó las siguientes determinaciones:

- a) Humedad de papa fresca: Se utilizó el método de la A.O.A.C. (1997), N° 934.06., adaptado en el Dpto. de Nutrición y Calidad del INIAP, cuyo principio está basado en la determinación de la cantidad de agua existente en una muestra por diferencia de peso. La muestra se deshidrató en una estufa a 105°C por 12 horas. Al término del proceso la muestra se enfrió en un desecador y posteriormente se pesó.

- b) Proteína: Se utilizó el método de determinación de nitrógeno total (Kjeldhal) revisado por Harris (1970) y adaptado al Dpto. de Nutrición y Calidad- Laboratorio de Servicios de Análisis e Investigación en Alimentos del INIAP, MO-LSAIA01.04. Su fundamento señala que el nitrógeno de las proteínas y otros compuestos se transforma a sulfato de amonio por medio de la digestión con ácido sulfúrico en ebullición. El residuo se enfría, se diluye con agua y se agrega hidróxido de sodio. El amonio presente se desprende y a la vez se destila y se recibe en una solución de ácido bórico que posteriormente se titula con ácido sulfúrico estandarizado. Una vez determinado el contenido de nitrógeno total, se aplica el factor de conversión 6,25 para obtener el contenido de proteína (MAFF 1975).
- c) Azúcares Reductores: se utilizó el método de ácido pícrico (Cronin y Smith, 1979), adaptado en el Dpto. de Nutrición y Calidad del INIAP. El principio está basado en la extracción de los azúcares reductores de la muestra con una solución de alcohol etílico al 80 % y posterior reacción con ácido pícrico, formando un picramato de color amarillo intenso que es leído en un espectrofotómetro a 510 nm. El porcentaje de azúcares reductores se calculó comparando la densidad óptica de las muestras con una curva de calibración obtenida a partir de la densidad óptica de una serie de soluciones de glucosa a concentraciones entre 0 y 1 mg/L. La curva se adjunta en el anexo 2.

3.3.2 Proceso de fritura

3.3.2.1 Optimización del proceso de fritura convencional

La optimización del proceso de fritura convencional se realizó en base a los diferentes parámetros recogidos en la Norma NTE INEN 2561 (2010), utilizando un plan de experiencia de Doehler con dos variables; tiempo y temperatura, con la finalidad de establecer una superficie de respuesta de los efectos de estas variables sobre el proceso de fritura en las diferentes variedades de papa, para lo cual se tomó como respuesta experimental la humedad.

En la Figura 10, se presentan los ensayos realizados durante el experimento definiendo el rango de trabajo para la variable temperatura entre 160 a 190 °C y para la variable tiempo entre 2 a 3,5 minutos (120 a 210 segundos)

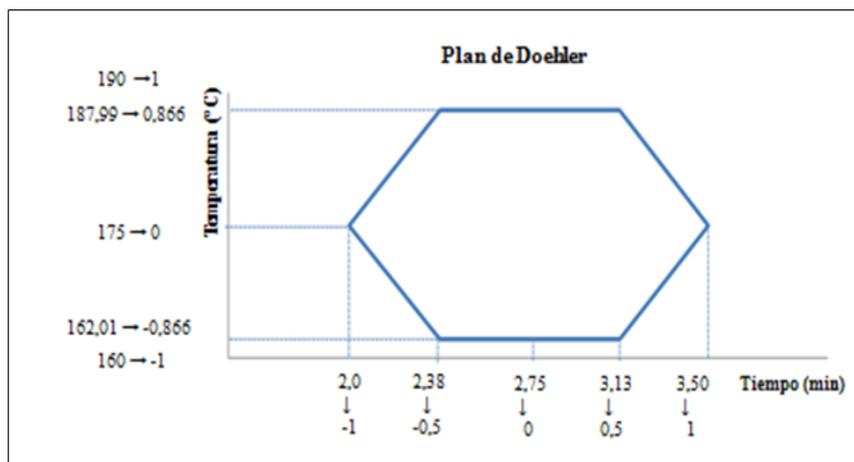


Figura 10.- Proyección del Plan de experiencias de Doehler.

Utilizando los datos de la Figura 10 se estableció la matriz de ensayos con la que se llevó a cabo la optimización del proceso de fritura (Tabla 2).

Tabla 2.- Matriz de tratamientos para el plan de experiencias de Doehler con dos puntos centrales

Tratamiento N°	Valores Código		Valores reales	
	Tiempo	Temperatura	Tiempo (seg)	Temperatura (°C)
0	0	0	165	175
0	0	0	165	175
1	0	0	165	175
2	1	0	210	175
3	0,5	-0,866	188	162
4	0,5	0,866	188	188
5	-1	0	120	175
6	-0,5	-0,866	143	162
7	-0,5	0,866	143	188

3.3.2.2 Proceso de fritura al vacío

El proceso de fritura al vacío se realizó a temperatura de 125 °C por 6 minutos y una presión de 11,30 kPa. Estas condiciones se establecieron tomando como referencia los parámetros de trabajo utilizados por **Untuña (2013)**, de acuerdo a los resultados óptimos reportados por dicha autora.

3.3.3 Determinación de acrilamida por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) acoplada a Detector de Arreglo de Diodos (DAD)

El análisis de acrilamida se realizó tomando como referencia el método propuesto por Agilent Technologies (Fadwa, 2012), para el Análisis de Acrilamida, utilizando un sistema de extracción y purificación de la acrilamida mediante los sistemas QuE-ChERS, y posterior cuantificación utilizando Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) acoplada a Detector de Arreglo de Diodos (DAD), la misma fue adaptada en el Laboratorio de Servicios de Análisis e Investigación en Alimentos (LSAIA) del INIAP. (ANEXO 1).

3.3.4 Caracterización química de los chips de papa

Para la caracterización de los chips de papas se realizó las siguientes determinaciones:

- a) Análisis de Humedad y Proteína: se utilizaron los métodos descritos en el apartado 3.3.1, literales a y b. Adicionalmente se realizaron análisis de grasa y azúcares reductores con los métodos descritos en los literales b y c de esta sección.
- b) Grasa: se utilizó el método de la Universidad de Florida, 1970, adaptado al Dpto. de Nutrición y Calidad-Laboratorio de Servicios de Análisis e Investigación en Alimentos del INIAP MO-LSAIA01.03, cuyo principio se basa en la extracción de grasa por reflujo de la muestra con hexano en un sistema FOSS SOXTEC 2043, el extracto hexánico es evaporado enfriado y pesado.
- c) Azúcares reductores: se utilizó el método de DNS (Miller, 1959) adaptado al Dpto. de Nutrición y Calidad del INIAP, cuyo principio consiste en la extracción de los azúcares reductores de la muestra con una solución de alcohol etílico al 80 %, y posterior reacción con ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS), formando un complejo coloreado color marrón. La cuantificación se realizó mediante la lectura de la densidad óptica en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 540 nm. El porcentaje de azúcares reductores se calculó comparando la densidad óptica de las muestras con una curva de calibración obtenida

a partir de la densidad óptica de una serie de soluciones de glucosa, a concentraciones de 0 a 20 mg/L. La curva se adjunta en el anexo 3.

3.4 Tratamiento estadístico

3.4.1 Estandarización de la metodología analítica

Para la validación del método de análisis por Cromatografía Líquida de Alta Resolución HPLC, utilizando Detector de Arreglo de Diodos (DAD), se trabajó con estándares certificados de Acrilamida, estableciendo un conjunto mínimo de parámetros de calidad que aseguren la exactitud y precisión del método. Los parámetros evaluados se describen a continuación

3.4.1.1 Linealidad

La linealidad del método se evaluó relacionando la función de respuesta del equipo con la concentración de estándares certificados de Acrilamida, utilizando el esquema que se presenta en la Tabla 3.

Tabla 3- Esquema para la evaluación de la linealidad del método de determinación de acrilamida en papa frita

CONCENTRACIÓN ESTÁNDAR	RESPUESTA DEL EQUIPO			
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4
C ₁				
C ₂				
C ₃				
C ₄				
C ₅				

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

Con los resultados obtenidos se realizó el estudio de regresión lineal, evaluando los siguientes parámetros:

Coefficiente de correlación (r):

$$r = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\left[\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n} \right]^{\frac{1}{2}} \left[\sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{n} \right]^{\frac{1}{2}}} \quad \text{Ec.1}$$

Donde:

n= número de mediciones

x= concentración (ng/mL)

y= área (LU)

Pendiente (m):

$$m = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{S_{yx}}{S_{xx}} \quad \text{Ec.2}$$

Intercepto (L):

$$L = \frac{\sum y - m \sum x}{n} = \bar{y} - m \bar{x} \quad \text{Ec.3}$$

Desviación estándar de la pendiente (Sm):

$$Sm = \sqrt{\frac{S^2_{yx}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}} = \frac{S_{yx}}{\sqrt{S_{xx}}} \quad \text{Ec.4}$$

Desviación estándar del intercepto (SL):

$$SL = \sqrt{Sm^2 \frac{\sum x^2}{n}} = Sm \sqrt{\frac{\sum x^2}{n}} \quad \text{Ec.5}$$

Error estándar de la regresión (ŝ):

$$\hat{s} = \sqrt{\frac{\sum (y - \hat{y})^2}{n-2}} \quad \text{Ec.6}$$

Límite de confianza de la pendiente:

$$m = m \pm t \cdot Sm \quad \text{Ec.7}$$

Donde:

t= Valor de t de la distribución t de Student con n-2 grados de libertad (t tabla)

Límite de confianza del intercepto:

$$L = L \pm t \cdot SL \quad \text{Ec.8}$$

Prueba t de Student para el coeficiente de correlación

H₀= No existe correlación lineal significativa entre las variables X (concentración)
e Y (área)

$$t_r = \frac{|r| \cdot \sqrt{n-2}}{\sqrt{(1-r^2)}} \quad \text{Ec.9}$$

3.4.1.2 Límite de detección

Utilizando el estudio de regresión lineal, se evaluó el límite de detección con la siguiente relación:

Límite de detección

$$LD = \frac{3L}{m} \quad \text{Ec.10}$$

Donde:

L = intercepto

m = pendiente

3.4.1.3 Límite de cuantificación

Utilizando el estudio de regresión lineal, se evaluó el límite de cuantificación con la siguiente relación:

Límite de cuantificación

$$LC = \frac{10L}{m}$$

Ec.11

Donde.

L = intercepto

m = pendiente

3.4.1.4 Precisión (repetibilidad)

El estudio de repetibilidad se realizó utilizando muestras artificialmente contaminadas con acrilamida, mediante el esquema que se presenta en la Tabla 4.

Tabla 4.- Esquema para el estudio de la repetibilidad del método

NIVEL	Repeticiones	Respuestas
		Día 1
N ₁	R1	
	R2	
	R3	
	R4	
	R5	
	R6	
N ₂	R1	
	R2	
	R3	
	R4	
	R5	
	R6	

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

Utilizando los resultados obtenidos en el ensayo de repetibilidad del método se calculó la desviación estándar y el coeficiente de variación según las ecuaciones 12 y 13 respectivamente, y los resultados se compararon con los coeficiente de variación referenciales de acuerdo a la ecuación de Horwitz que relaciona el nivel de concentración medido de un analito en función del coeficiente de variación, en la Figura 11 se muestra la representación gráfica de esta ecuación (Codex Alimentarius, 2009; C. Rivera y Rodríguez, 2010).

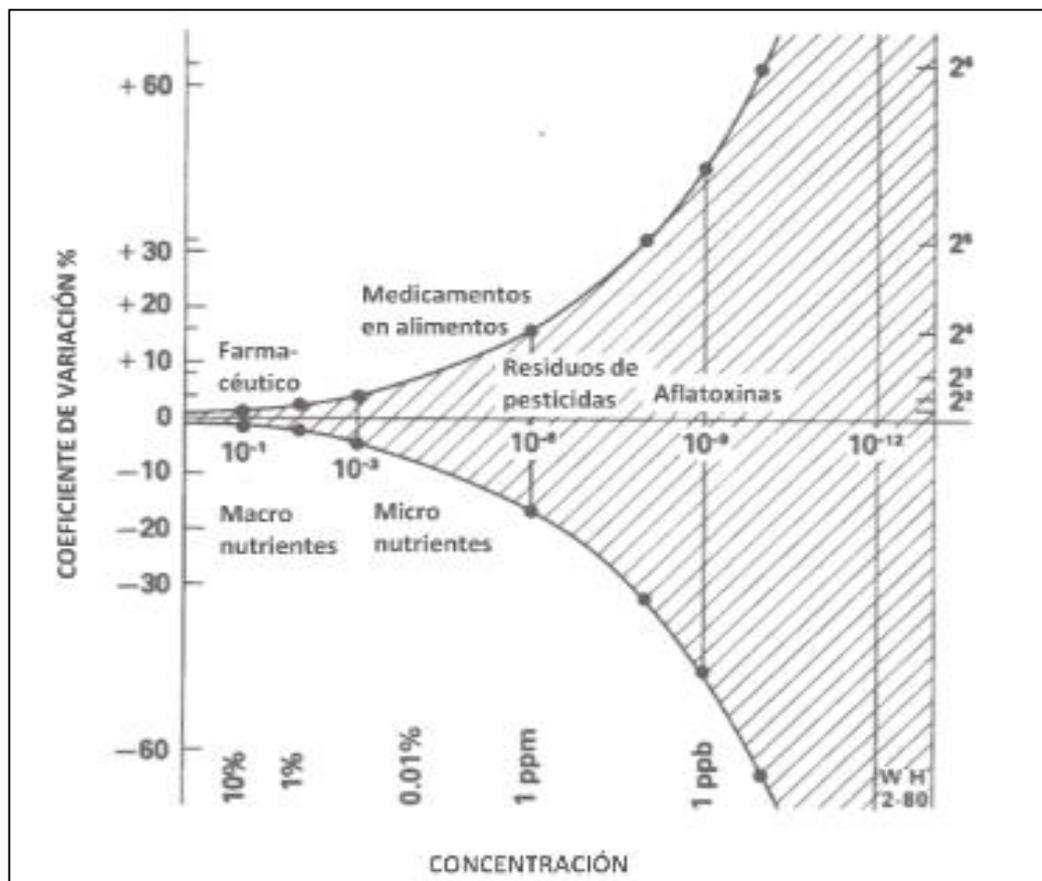


Figura 11.- Representación gráfica de la ecuación (“trompeta”) de Horwitz (Codex Alimentarius, 2009)

Desviación estándar muestral:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

Ec.12

Coefficiente de variación

$$CV = \frac{s}{|\bar{x}|}$$

Ec.13

3.4.1.5 Exactitud

El análisis de exactitud se realizó en muestras de chips de papa frita comerciales artificialmente contaminadas con acrilamida. Previamente se determinó que la presencia inicial de acrilamida en las muestras comerciales estaba por debajo del umbral de detección. Posteriormente se añadió acrilamida en dos niveles: 500 y 750 µg/kg. En cada nivel se calculó el porcentaje de recuperación utilizando la siguiente fórmula:

Porcentaje de recuperación

$$\% \text{Recuperación} = \frac{C_{\text{obtenido}}}{C_{\text{esperado}}} * 100$$

Ec.14

Donde:

C_{obtenido} es el resultado obtenido.

C_{esperado} es el valor teórico del mismo.

3.4.2 Determinación del tratamiento óptimo de fritura convencional

Para determinar el tratamiento óptimo de fritura convencional en cada variedad de papa estudiada se utilizó el programa STATISTICA versión 1.0, con el cual mediante un análisis estadístico de la varianza se determinó la existencia de posibles diferencias entre las medias correspondientes a cada tratamiento, con un nivel de significancia del 95 %.

3.4.3 Relación entre las variables estudiadas y el contenido de acrilamida de los chips de papa obtenidos mediante procesos de fritura convencional y al vacío

Se evaluó la importancia relativa de cada variable físico-química en la formación de acrilamida de los chips a partir de los coeficientes de determinación de las regresiones lineales calculadas para cada variable, respecto al contenido de acrilamida

determinado experimentalmente.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Estandarización de la metodología analítica

Una vez establecida la metodología se procedió a realizar pruebas en el laboratorio, para determinar las condiciones óptimas para el proceso de análisis. Estas pruebas se realizaron utilizando el método propuesto por Agilent Technologies (2012), para la determinación de acrilamida en chips de papas mediante purificación de extractos de muestras por QuEChERS y cuantificación por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) acoplada a Detector de Arreglo de Diodos (DAD). Todos los ensayos se realizaron utilizando un estándar puro de Acrilamida, y muestras de chips de papa artificialmente contaminadas.

De igual manera mediante inyección de estándares de acrilamida se optimizaron las condiciones del sistema cromatográfico, obteniendo los siguientes parámetros de trabajo:

- Longitud de onda: 200 nm
- Flujo: 0,7 mL min⁻¹
- Presión: 30 bar
- Temperatura: 35 °C
- Volumen de inyección: 15 µL
- Fase móvil: acetonitrilo: al100%

4.2 Linealidad

La linealidad se define como la proporcionalidad entre la concentración del analito y el área del pico cromatográfico obtenido. Para evaluar este parámetro se utilizó un estándar de acrilamida de pureza > 99 %, a partir del cual se preparó una solución madre de 100 ppm en acetonitrilo grado HPLC. Posteriormente, mediante dilución de esta solución en acetonitrilo, se preparó una solución de trabajo de 1ppm.

Partiendo de la solución de trabajo se prepararon cinco estándares mediante diluciones con acetonitrilo, en las concentraciones que se observan en la Tabla 5.

Tabla 5.- Preparación de estándares para curvas de calibración de acrilamida

Volumen de solución (µL)	Volumen de acetonitrilo (µL)	Concentración de acrilamida (ng/mL)
2000	1937,5	31,25
2000	1875	62,5
2000	1750	125,0
2000	1000	500
2000	0	1000

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

Una vez preparados los estándares se realizó una curva de calibración por triplicado en cuatro días diferentes, se inyectaron 15 µL de cada estándar en el cromatógrafo HPLC y se registraron los valores de área para cada estándar.

Los resultados promedio obtenidos para la curva de calibración de acrilamida en el día 1 se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6.- Curva de calibración promedio de acrilamida para el día 1.

Concentración (ng/mL)	31,25	62,5	125	500	1000
Área (mAU*s)	5,6641	12,6765	22,5830	96,3489	190,5370

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

Con base a los resultados obtenidos en la Tabla 6, se graficó la concentración de Acrilamida (ng/mL) frente al área (mAU*s) para el día 1 (Figura 12).

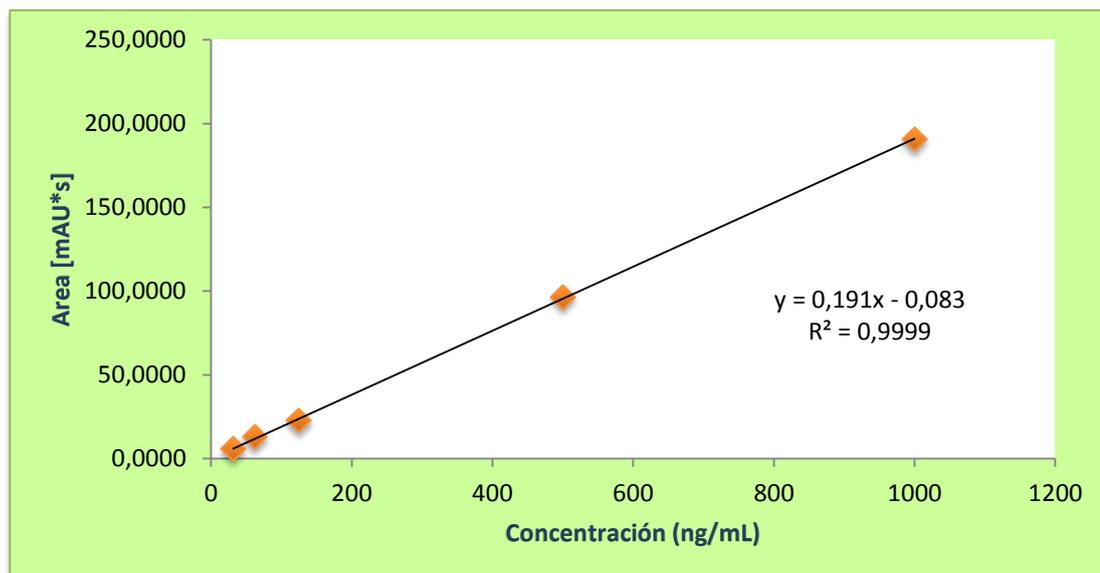


Figura 12.- Curva de calibración de acrilamida, día 1

En la Figura 12, se puede observar la ecuación obtenida para la primera curva de calibración, la misma que presentó un coeficiente de determinación (R^2) de 0,9999, por lo cual se estableció la existencia de una alta correlación lineal entre los resultados de las áreas obtenidas y la concentración de acrilamida en el rango de trabajo definido. En la Tabla 7 se presentan los resultados obtenidos en el análisis de regresión lineal para la curva de calibración correspondiente al día 1

Tabla 7.- Resultados análisis de regresión lineal para la curva de calibración del día 1.

Parámetros	Resultados
M	0,191
Lo	-0,083
\hat{S}	1,031
Sm	0,001
s_{Lo}	0,630
t tabulada	3,182
t calculada	152,769
Mmin	0,187
m max	0,195
Lo min	-2,089
Lo max	1,923

Del análisis de regresión lineal realizado en esta curva de calibración, se estableció un

valor de pendiente de la recta (m) de 0,191 y de la ordenada al origen (L_0) de -0,083. Además, se determinó que los valores de la desviación estándar de la pendiente (S_m) y desviación estándar de la ordenada al origen (sL_0), corresponden a 0,001 y 0,630 respectivamente. Utilizando los resultados obtenidos para la pendiente, el intercepto y las desviaciones de cada parámetro, se establecieron los límites de confianza mediante el parámetro estadístico t de Student al 95 % de significancia, como se indica en las ecuaciones 7 y 8. De este análisis se obtuvo un límite de aceptación para la pendiente entre 0,187 a 0,195 y para el intercepto de -2,089 a 1,923.

En la Tabla 7, se presentan los resultados de la prueba t de Student para el coeficiente de correlación r. Dicho análisis permitió establecer que existe una correlación lineal significativa entre los valores X (concentración) e Y (área), puesto que el valor de t_r calculado (152,77) es superior al valor de t obtenido de las tablas (3,18) para un 95% de confianza.

De igual manera, en la Tabla 7 se presenta el cálculo del error estándar de la regresión \hat{s} , para la curva de calibración del día 1, con un valor de 1,031. Este valor representa la incertidumbre de esta curva, es decir, la diferencia entre los valores reales y estimados de la regresión.

Los resultados promedio obtenidos para la curva de calibración de acrilamida en el día 2 se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8.- Curva de calibración promedio de acrilamida para el día 2

Concentración (ng/mL)	32,5	62,5	125	500	1000
Área (mAU*s)	5,3924	12,4792	22,3261	95,6250	190,2237

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

En base a los resultados obtenidos en la Tabla 8, se graficó la concentración de acrilamida (ng/mL) frente al área (mAU*s) para el día 2 (Figura 13).

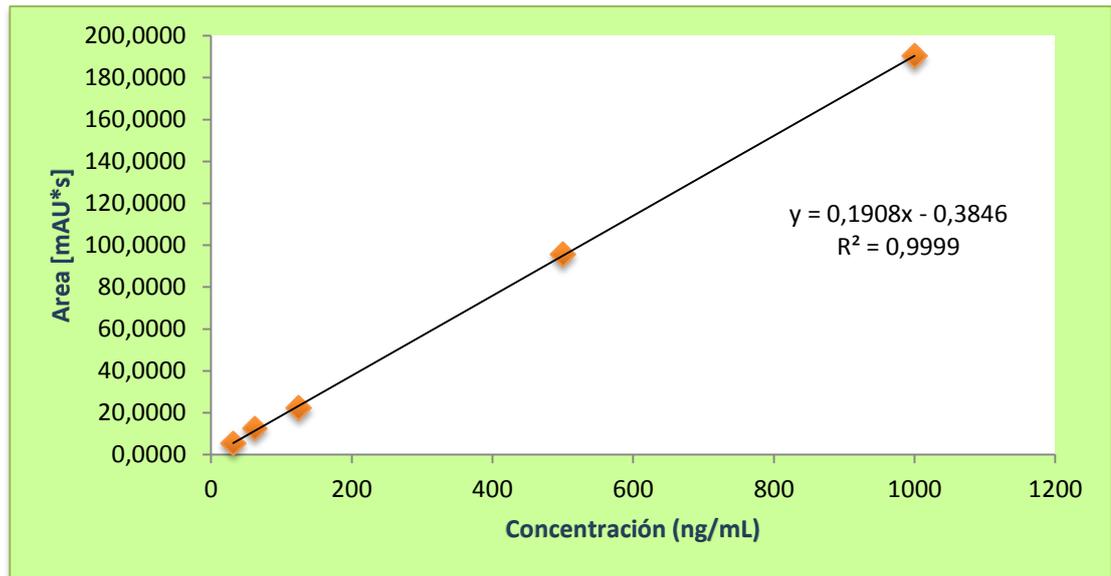


Figura 13.- Curva de calibración de acrilamida día 2.

En la Figura 13, se puede observar la ecuación lineal de la segunda curva de calibración, la misma que presenta un coeficiente de determinación (R^2) de 0,999, por lo cual se estableció la existencia de una alta correlación lineal entre los resultados de las áreas obtenidas en función de la concentración de acrilamida.

En la Tabla 9, se presentan los resultados obtenidos en el análisis de regresión lineal para la curva de calibración correspondiente a día 2:

Tabla 9.- Resultados del análisis de regresión lineal para la curva de calibración del día 2.

Parámetros	Resultados
M	0,191
Lo	-0,385
Ŝ	0,935
Sm	0,001
sLo	0,572
t tablas	3,182
t calculado	168,285
Mmin	0,187
m max	0,194
Lo min	-2,204
Lo max	1,434

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

Del análisis de regresión lineal realizado en esta curva de calibración, se estableció un valor de pendiente de la recta (m) de 0,191 y de la ordenada al origen (L_0) de -0,385. Además se determinó que los valores de la desviación estándar de la pendiente (S_m) y desviación estándar de la ordenada al origen (sL_0) corresponden a 0,01 y 0,572 respectivamente. Utilizando los resultados obtenidos para la pendiente, el intercepto y las desviaciones de cada parámetro, se establecieron los límites de confianza con un 95 % de significación mediante el parámetro estadístico t de Student, como se indica en las ecuaciones 7 y 8. De este análisis se obtuvo un límite de aceptación para la pendiente entre 0,187 a 0,194 y para intercepto de -2,204 a 1,434.

En la Tabla 9, se presenta los resultados de la prueba t de Student para el coeficiente de correlación r . Dicho análisis permitió establecer la existencia de una correlación lineal significativa entre los valores X (concentración) e Y (área), puesto que el valor de t_r calculado (168,285) es superior al valor de t obtenido de las tablas (3,182) con un 95 % de confianza.

De igual manera en la Tabla 9, se presenta el cálculo del error estándar de la regresión \hat{s} , para la curva de calibración del día 2 con un valor de 0,935. Este valor representa la incertidumbre de esta curva, es decir la diferencia entre los valores reales y estimados de esta regresión.

Los resultados promedio obtenidos para la curva de calibración de acrilamida en el día 3 se muestran en la Tabla 10.

Tabla 10.- Curva de calibración de acrilamida para el día 3

Concentración (ng/mL)	31,25	62,5	125	500	1000
Área (mAU*s)	5,4824	12,2077	22,5412	93,7734	183,1897

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

En base a los resultados obtenidos en la Tabla 10, se graficó la concentración de acrilamida (ng/mL) frente al área (mAU*s) para el día 3 (Figura 14).

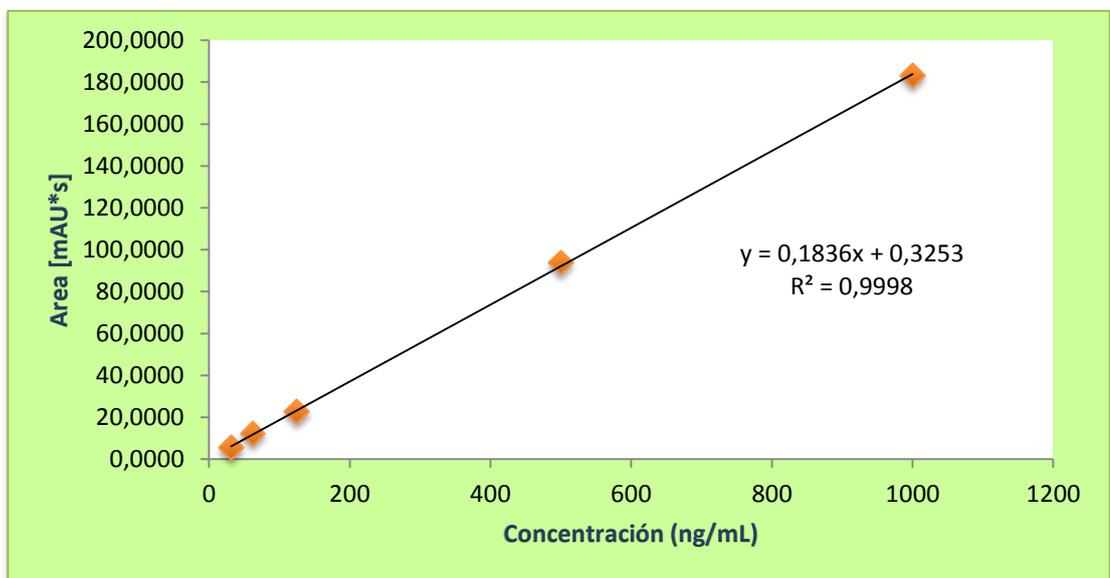


Figura 14.- Curva de calibración de acrilamida día 3

En la Figura 14, se puede observar la ecuación obtenida para la tercera curva de calibración, la misma que presenta un coeficiente de determinación (R^2) de 0,9998, por lo cual se estableció la existencia de una alta correlación lineal entre los resultados de las áreas obtenidas y la concentración de acrilamida en el rango de trabajo definido. En la Tabla 11, se presenta los resultados obtenidos en el análisis de regresión lineal para la curva de calibración correspondiente a día 3:

Tabla 11.- Resultados del análisis de regresión lineal para la curva de calibración del día 3

Parámetros	Resultados
m	0,184
Lo	0,325
ŝ	1,197
sm	0,001
sLo	0,732
t tablas	3,182
t calculado	126,445
mmin	0,179
m max	0,188
Lo min	-2,004
Lo max	2,655

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

Del análisis de regresión lineal realizado en esta curva de calibración, se estableció un valor de pendiente de la recta (m) de 0,184 y de la ordenada al origen (L_0) de 0,325. Además se determinó que los valores de la desviación estándar de la pendiente (S_m) y desviación estándar de la ordenada al origen (sL_0), corresponden a 0,001 y 0,732 respectivamente. Utilizando los resultados obtenidos para la pendiente, el intercepto y las desviaciones de cada parámetro, se establecieron los límites de confianza mediante el parámetro estadístico t de Student al 95% de Significancia, como se indica en las ecuaciones 7 y 8. De este análisis se obtuvo un límite de aceptación para la pendiente entre 0,179 a 0,188 y para el intercepto de -2,004 a 2,655.

En la Tabla 11, se presentan los resultados de la prueba t de Student para el coeficiente de correlación r . Dicho análisis permitió establecer que existe una correlación lineal significativa entre los valores X (concentración) e Y (área), puesto que el valor de t_r calculado (126,445) es superior al valor de t obtenido de las tablas (3,182) para un 95 % de confianza.

De igual manera en la Tabla 11, se presenta el cálculo del error estándar de la regresión \hat{s} , para la curva de calibración del día 3, con un valor de 1,197. Este valor representa la incertidumbre de esta curva, es decir la diferencia entre los valores reales y estimados de la regresión.

Los resultados promedio obtenidos para la curva de calibración de acrilamida en el día 4 se muestran en la Tabla 12.

Tabla 12.- Curva de calibración de acrilamida para el día 4

Concentración (ng/mL)	31,25	62,5	125,00	500,00	1000,00
Área (mAU*s)	5,7060	12,4524	22,2181	96,4457	190,4320

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

En base a los resultados obtenidos en la Tabla 12, se graficó la concentración de acrilamida (ng/mL) frente al área (mAU*s) para el día 4 (Figura 15).

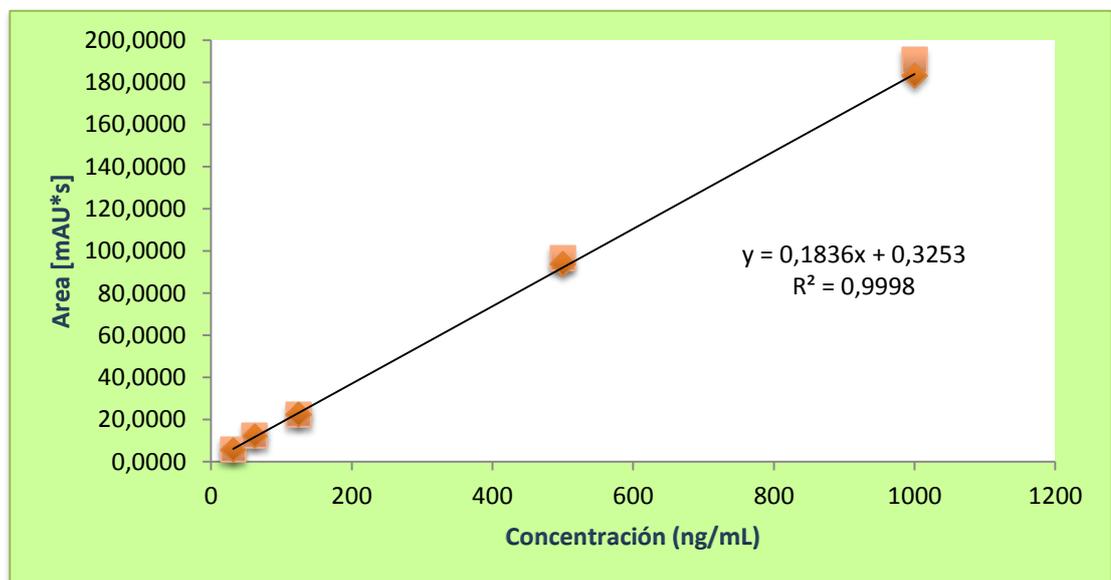


Figura 15.- Curva de calibración de acrilamida día 4

En la Figura15, se puede observar la ecuación lineal de la cuarta curva de calibración, la misma que presenta un coeficiente de determinación (R^2) de 0,9998, por lo cual se estableció la existencia de una alta correlación lineal entre los resultados de las áreas obtenidas en función de la concentración de acrilamida.

En la Tabla 13, se presentan los resultados obtenidos en el análisis de regresión lineal para la curva de calibración correspondiente a día 4:

Tabla 13.- Resultados del análisis de regresión lineal para la curva de calibración del día 4

Parámetros	Resultados
M	0,191
Lo	-0,243
ŝ	1,166
Sm	0,001
sLo	0,713
t tablas	3,182
t calculado	135,149
Mmin	0,187
m max	0,196
Lo min	-2,512
Lo max	2,025

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

Del análisis de regresión lineal realizado en esta curva de calibración, se estableció un valor de pendiente de la recta (m) de 0,191 y de la ordenada al origen (L_0) de -0,243. Además se determinó que los valores de la desviación estándar de la pendiente (S_m) y desviación estándar de la ordenada al origen (sL_0), corresponden a 0,001 y 0,713 respectivamente. Utilizando los resultados obtenidos para la pendiente, el intercepto y las desviaciones de cada parámetro, se establecieron los límites de confianza mediante parámetro estadístico t de Student al 95 % de significancia, como se indica en las ecuaciones 7 y 8. De este análisis se obtuvo un límite de aceptación para la pendiente entre 0,187 a 0,196 y para el intercepto de -2,512 a 2,025.

En la Tabla 13, se presentan los resultados de la prueba t de Student para el coeficiente de correlación r . Dicho análisis permitió establecer que existe una correlación lineal significativa entre los valores X (concentración) e Y (área), puesto que el valor de t_r calculado (135,149) es superior al valor de t obtenido de las tablas (3,182) para un 95 % de confianza.

De igual manera en la Tabla 13, se presenta el cálculo del error estándar de la regresión \hat{s} , para la curva de calibración del día 4 con un valor de 1,166. Este valor representa a la incertidumbre de esta curva, es decir la diferencia entre los valores reales y estimados de la regresión.

Con base a los resultados obtenidos de la inyección de 60 estándares en cuatro días diferentes, se estableció la curva global promedio con la que se procedió a programar

el cromatógrafo HPLC para los análisis correspondientes. Los resultados promedio obtenidos para la curva de calibración global de acrilamida se muestran en la Tabla 14.

Tabla 14.- Curva de calibración global de acrilamida.

Concentración (ng/mL)	31,25	62,50	125,00	500,00	1000,00
Área (mAU*s)	5,5687	12,4540	22,4171	95,5483	188,5956

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

Utilizando los resultados presentados en la Tabla 14, se graficó la concentración de acrilamida (ng/mL) frente al área (mAU*s) para el promedio de los cuatro días (Figura 16).

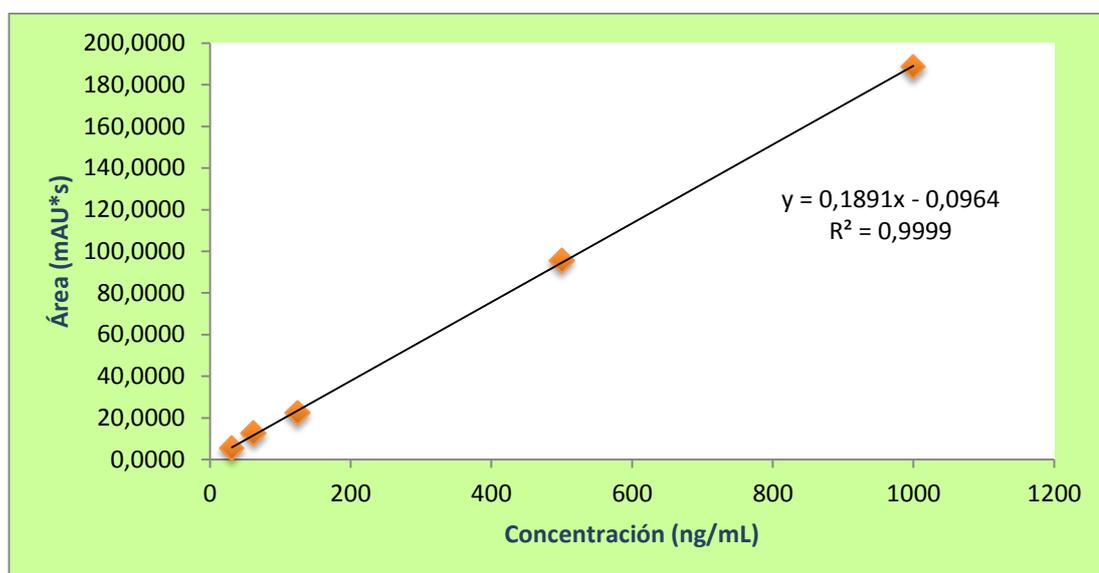


Figura 16.- Curva de calibración global de acrilamida

En la Figura 16, se puede observar la ecuación lineal obtenida para la curva de calibración global, la misma que presenta un coeficiente de determinación (R^2) de 0,9999, por lo cual se estableció la existencia de una alta correlación lineal entre los resultados de las áreas obtenidas en función de la concentración de acrilamida.

De igual manera mediante el estudio de regresión lineal de la curva global, se estableció un valor de pendiente de la recta (m) de 0,189 y de la ordenada al origen (L_0) de -0,096. Además se determinó que los valores de la desviación estándar de la pendiente (S_m) y desviación estándar de la ordenada al origen (SL_0), corresponden a

0,001 y 0,662 respectivamente. Utilizando los resultados obtenidos para la pendiente, el intercepto y las desviaciones de cada parámetro, se establecieron los límites de confianza mediante el parámetro estadístico t de Student al 95 % de significancia, como se indica en las ecuaciones 7 y 8. De este análisis se obtuvo un límite de aceptación para la pendiente entre 0,179 a 0,196 y para el intercepto de -2,512 a 2,655. La curva de calibración global presentó un error estándar (\hat{s}) de 1,197. Este valor representa la incertidumbre promedio de los resultados calculados a partir de la curva de calibración.

4.3 Límite de detección y límite de cuantificación

La estimación de los límites de detección y de cuantificación se realizó utilizando los valores obtenidos para la pendiente (0,189) y la ordenada al origen (-0,0964) de la curva de calibración global establecida en el estudio de linealidad. Para la determinación del límite de detección se aplicó la Ecuación 10 y para el cálculo del límite de cuantificación se aplicó la Ecuación 11. De esta manera se obtuvo un límite de detección de 1,530 ng/mL y un límite de cuantificación de 5,101 ng/mL.

Posteriormente se estimó el límite de detección y de cuantificación en una muestra real para estimar el efecto matriz, utilizando muestras de chips de papa artificialmente contaminadas con acrilamida. Para este cálculo se utilizó los valores obtenidos para la pendiente (0,2071) y la ordenada al origen (-21,832) del análisis de regresión lineal en muestra contaminada a dos niveles de concentración de acrilamida frente al área (Figura 17), a partir de los datos promedio presentados en la Tabla 15.

Tabla 15.-Datos promedio del área correspondiente a dos niveles de contaminación de acrilamida en muestras de chips de papa

Concentración ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	500	750
Área (mAU*s)	81,705	133,473

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

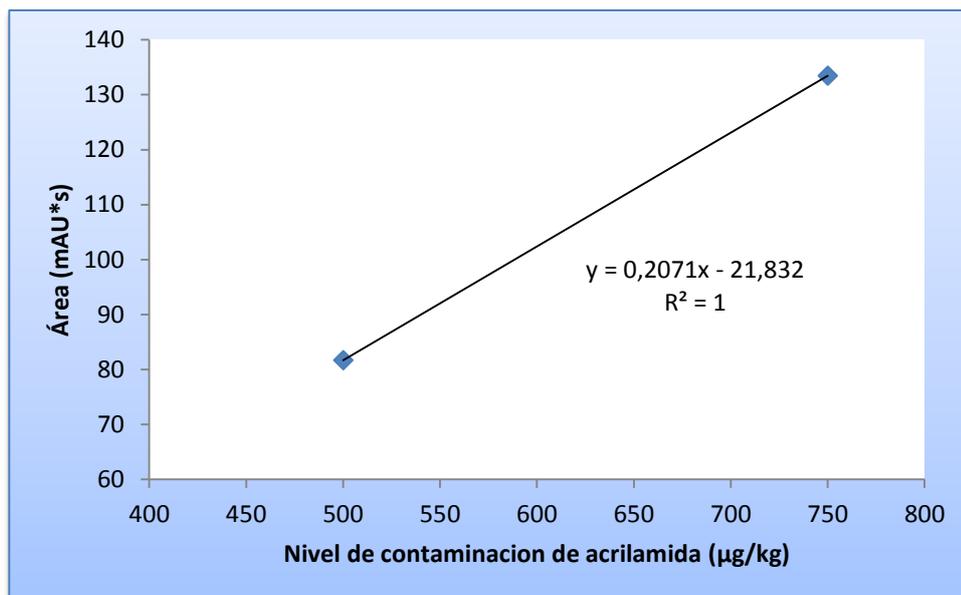


Figura 17.- Análisis de regresión para muestra de chips de papa contaminada a dos niveles de concentración de acrilamida de acrilamida

Los resultados para los límites de cuantificación se observan en la en la Tabla 16.

Tabla 16.- Resultados del cálculo de los límites de detección y cuantificación del contenido de acrilamida en curva estándar y matriz alimentaria (chips de papa frita) utilizando curva de calibración global

Límite de detección (curva calibración) (ng/mL)	Límite de detección (chips de papa) (µg/kg)	Límite de cuantificación (curva calibración) (ng/mL)	Límite de cuantificación (chips de papa) (µg/kg)
1,530	316,12	5,101	635,50

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

Observando los resultados de la Tabla 16, se estableció que el método tiene un fuerte efecto de la matriz, por lo cual los límites de detección y cuantificación presentan valores de 316,12 y 635,50 µg/kg respectivamente.

4.5 Precisión

Para establecer la precisión del método se realizó el análisis de muestras de chips de papa contaminada artificialmente con acrilamida en dos niveles de concentración, con seis repeticiones. Los resultados de esta prueba se pueden observar a continuación en la Tabla 17 y en la Figura 18.

Tabla 17.- Resultados para el estudio de repetibilidad del método

Nivel de contaminación Valores teóricos	Repeticiones	Valores reales En muestras contaminadas (µg/kg)	Valores reales promedio (µg/kg)
N₁ (500 µg/kg)	R1	400	425
	R2	450	
	R3	400	
	R4	460	
	R5	440	
	R6	400	
N₂ (750 µg/kg)	R1	690	703
	R2	720	
	R3	730	
	R4	690	
	R5	690	
	R6	700	

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

Tomando los datos correspondientes a los valores reales para cada nivel de concentración presentados en la Tabla 17, se calculó la desviación estándar y el coeficiente de variación, utilizando las ecuaciones 12 y 13 respectivamente, observándose en la Figura 18, que al nivel más bajo de concentración (500 µg/kg) el coeficiente de variación fue del 5,88 %, y para el nivel más alto (750 µg/kg) se obtuvo un coeficiente de variación del 2,49 %.

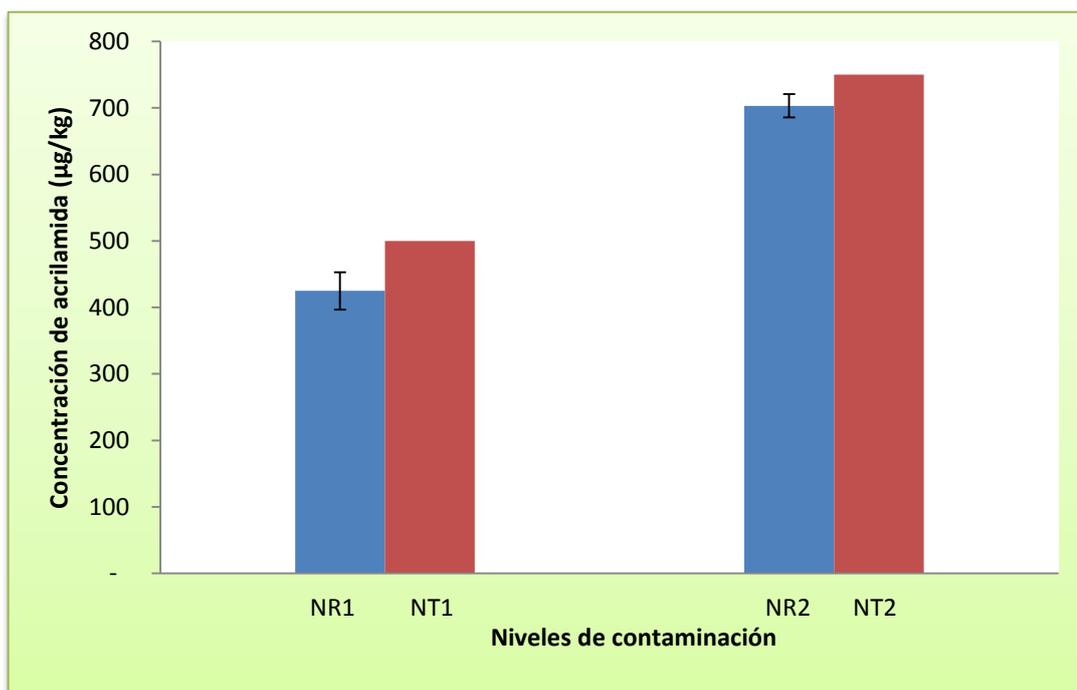


Figura 18.- Precisión del método de contaminación de acrilamida en chips de papa en dos niveles de concentración, representación gráfica de los valores reales para el nivel bajo (NR1) de 425 µg/kg y para el nivel alto (NR2) de 703 µg/kg, así como los valores de reales para el nivel bajo (NT1) de 500 µg/kg, y para el nivel alto (NT2) de 750 µg/kg

Estos resultados demuestran que el método presenta una buena repetibilidad para el nivel de concentración medido de acuerdo a los valores referenciales del coeficiente de variación presentados en la ecuación de Horwitz, que indica que a concentraciones de esta magnitud, los niveles del coeficiente de variación aceptados son de hasta el 20%.

4.6 Exactitud

La exactitud se determinó en base al porcentaje de recuperación, cuyos valores fueron obtenidos a partir de los resultados reales de las muestras de chips de papa artificialmente contaminadas en los dos niveles de concentración: 500 µg/mL y 750 µg/mL. El porcentaje de recuperación se calculó utilizando la Ecuación 14, los resultados promedio de este análisis se presentan en la Tabla 18.

Tabla 18.- Resultados del análisis de exactitud para el método de determinación de acrilamida en chips de papa frita

Concentración de acrilamida en papa contaminada Valor teórico (µg/kg)	Concentración de acrilamida recuperada en la papa (µg/kg)	Recuperación calculada (%)	Recuperación calculada promedio (%)
500	430,00	86,00	86,00
500	450,00	90,00	
500	400,00	80,00	
500	460,00	92,00	
500	440,00	88,00	
500	400,00	80,00	
750	690,00	92,00	93,78
750	720,00	96,00	
750	730,00	97,33	
750	690,00	92,00	
750	690,00	92,00	
750	700,00	93,33	

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

Como se puede apreciar en la Tabla 18, los valores de porcentaje de recuperación del método variaron en el rango de 80-97 %, con un promedio de recuperación de acrilamida del 89,89 %. Estos resultados se encuentran dentro de los criterios de aceptación para métodos de análisis para residuos y contaminantes en alimentos al nivel de concentración en los que se evalúa el analito (≥ 100 µg/kg) de partes por billón que establece que se aceptarán valores de porcentaje de recuperación en un intervalo del 80-110 %, según Cofepris citado en el trabajo de **Muñoz (2015)**.

Adicionalmente, es de destacar que los resultados de los límites de detección y cuantificación obtenidos para esta matriz alimentaria cumplen las recomendaciones de la **UE (2013)** para chips de papa fritas (600-1000 µg/kg). A pesar de ello, sería muy recomendable seguir mejorando la técnica de detección de acrilamida mediante la incorporación de equipamiento más sensible, de forma que se pueda llegar a aplicar al control de alimentos más sensibles como, por ejemplo, los cereales para desayuno, el pan de molde y, de forma especial, los alimentos infantiles, cuyo límite recomendado baja

hasta los 50 µg/kg. Esta mejora del equipamiento podría alcanzarse mediante la incorporación de detectores de espectrometría de masas acoplados al equipo HPLC.

4.7 Proceso de fritura

4.7.1 Optimización del proceso de fritura convencional

Con la finalidad de determinar las condiciones idóneas de tiempo y temperatura para el proceso de fritura convencional para cada variedad de papa, se utilizó un plan experimental de Doehler, tomando como respuesta experimental la humedad. Esto permitió seleccionar las condiciones adecuadas para la obtención de un producto frito con una humedad inferior al 5 % (NTE INEN 2561), y establecer las condiciones en las que se produce una sobrefritura, con la finalidad de relacionar estas condiciones con la producción de acrilamida. Los resultados fueron evaluados utilizando el programa STATISTICA versión 10.0, mediante el análisis de superficie de respuesta de acuerdo al modelo de experiencias de Doehler.

4.7.1.1 Proceso de fritura variedad Diacol Capiro

Los resultados y la matriz utilizada para la optimización del proceso de fritura, en esta variedad se presentan en la Tabla 19.

Tabla 19.- Resultados de la optimización del proceso de fritura para la variedad Diacol Capiro

Variables independientes		Respuesta experimental
Tiempo (seg)	Temperatura (°C)	Humedad (%)
165	175	1,52
165	175	1,52
165	175	1,52
210	175	1,41
188	162	2,78
188	188	0,59
120	175	1,87
143	162	3,44
143	188	1,06

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

Posteriormente se realizó el análisis de estimación de efectos para la respuesta experimental humedad, utilizando los valores de la Tabla 19. Los resultados de este análisis se presentan en la Tabla 20 y la Figura 19.

Tabla 20.- Estimación de efectos para la respuesta humedad en la optimización del proceso de fritura de la variedad Diacol Capiro

Effets Estimés ; Var.:Humedad Capiro; R²=,98739; Aj.:,96638 (Feuille de données4)										
2 fact. , 1 Blocs , 9 Ess; MC Résidus=,0253306										
VD Humedad Capiro										
Fact.	Effet	Err-Type	t(3)	p	-95,% Lim.Conf	+95,% Lim.Conf	(coeffs)	Err-Type (coeffs)	-95,% Lim.Conf	+95,% Lim.Conf
Moy/Ord.Orig	1,51788	0,091885	16,5192	0,000483	1,22545	1,81030	1,51788	0,091885	1,22545	1,810296
(1)Tiempo (L)	-0,33995	0,091914	-3,6986	0,034312	-0,63246	-0,04744	-0,16998	0,045957	-0,31623	-0,023720
Tiempo (Q)	0,05792	0,072634	0,7974	0,483515	-0,17324	0,28907	0,02896	0,036317	-0,08662	0,144536
(2)Temperatura(L)	-2,28500	0,159156	-14,3570	0,000732	-2,79150	-1,77850	-1,14250	0,079578	-1,39578	-0,889248
Temperatura(Q)	0,84133	0,217935	3,8604	0,030725	0,14775	1,53491	0,42067	0,108965	0,07388	0,767456
1L * 2L	0,09500	0,159156	0,5969	0,592620	-0,41150	0,60150	0,04750	0,079578	-0,20578	0,300752

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

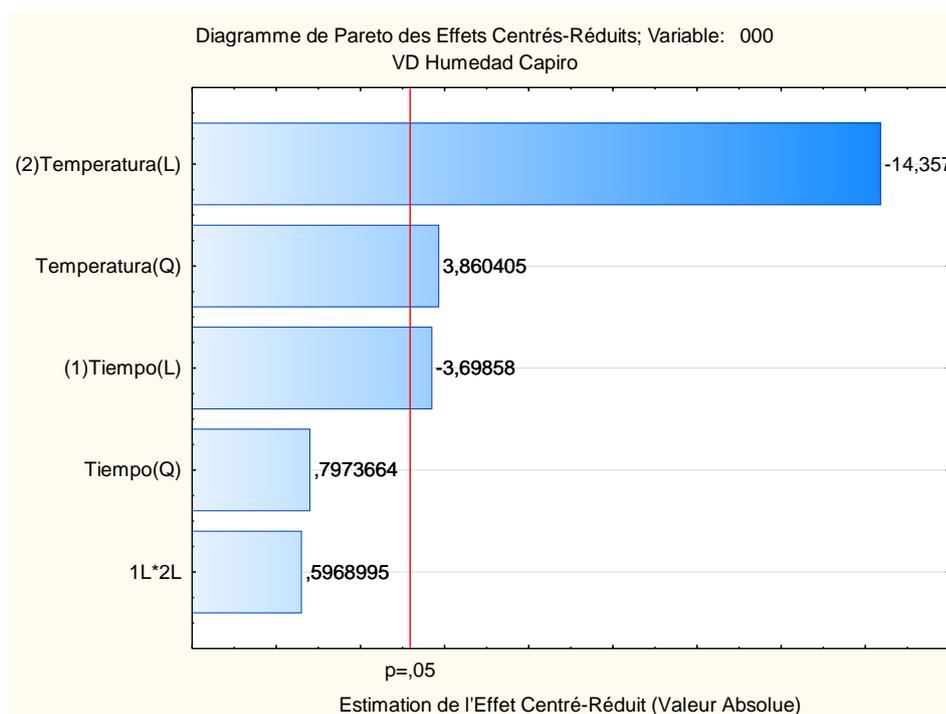


Figura 19.- Diagrama de Pareto de la estimación de los efectos para la respuesta experimental humedad en la variedad Diacol Capiro

Observando los resultados de los análisis realizados se estableció que existe una influencia significativa ($p < 0,05$), de los factores tiempo y temperatura sobre el contenido de humedad al final del proceso de fritura a un nivel de confianza del 95 %. Con los resultados obtenidos en la Tabla 20, se estableció la ecuación del modelo

matemático para predecir el contenido de humedad a partir de la influencia de los factores tiempo y temperatura del proceso de fritura convencional para esta variedad (Ecuación 15).

$$Y_H = 1,51788 - 0,33995t - 2,28500T + 84133T^2 \quad \text{Ec. 15}$$

Donde:

Y_H = humedad (%)

t = tiempo (s)

T = temperatura (°C)

De igual manera observando los resultados de la Tabla 20, se estableció que el modelo presenta un coeficiente de determinación (R^2) de 0,98739, por lo cual se pudo concluir que el modelo matemático presenta una buena correlación y se ajusta a los ensayos realizados.

En la Figura 20, se presenta la proyección de las respuestas experimentales en función de los factores tiempo y temperatura, observando la superficie de respuesta para la variable humedad, se estableció que, a medida que aumenta el tiempo y temperatura en el proceso de fritura el contenido de humedad disminuye. Este fenómeno se explica por la transferencia de calor entre el aceite y las rodajas de papa.

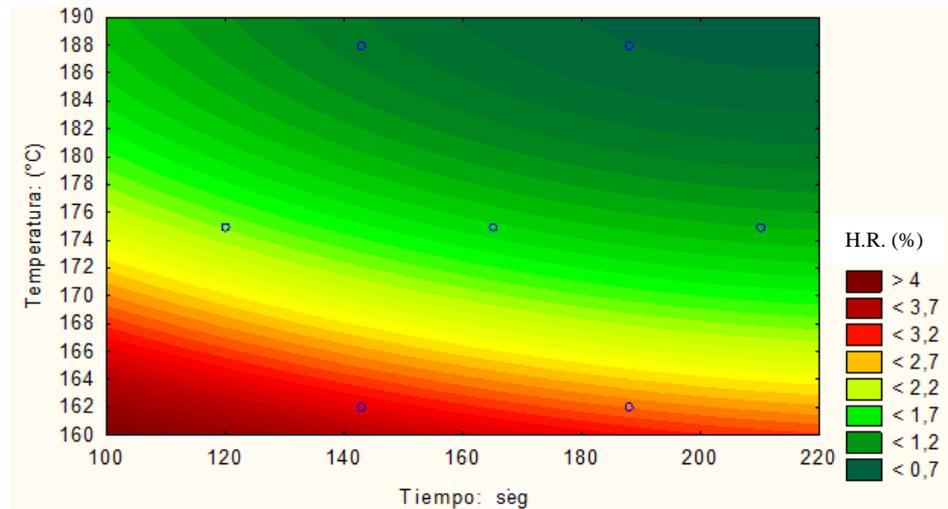


Figura 20.- Superficie de respuesta representando la influencia de los parámetros tiempo y temperatura del proceso de fritura convencional, en la humedad final de los chips de papa frita variedad Diacol Capiro

Utilizando los resultados obtenidos en la optimización del proceso de fritura se procedió a escoger dos tratamientos que se ajustaban a condiciones de humedad inferior a 5 %. Estos tratamientos fueron T1 (175 °C y 165 segundos) y T4 (188 °C y 188 segundos), los mismos que permitieron observar, en el primer caso, un proceso óptimo de fritura (Figura 21a) y en el segundo caso un efecto de sobrefritura en el que se observó que los chips presentaban manchas oscuras (Figura 21b). Ambos tratamientos se emplearon para la posterior evaluación de la presencia de acrilamida en estas condiciones.

Además como un dato adicional de calidad de fritura se realizó la determinación de contenido de grasa en los tratamientos escogidos, los mismos que presentaron valores de 39,59 % para el T1 y 33,49 %, para el T4.

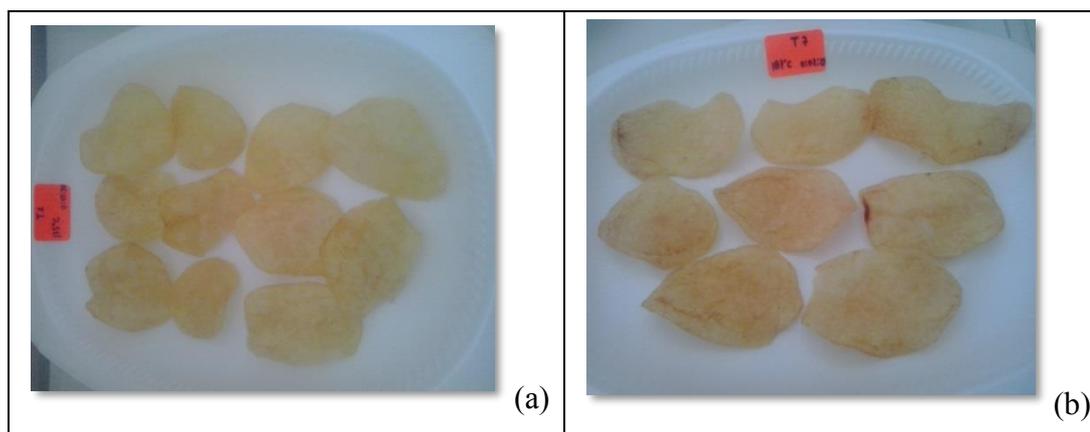


Figura 21.- Chips fritos de papa de la variedad Diacol Capiro. (a) condiciones óptimas, (b) condiciones de sobrefritura

4.7.1.2 Proceso de fritura variedad INIAP Josefina

Los resultados y la matriz utilizada para la optimización del proceso de fritura, en esta variedad se presentan en la Tabla 21.

Tabla 21.- Resultados del proceso de optimización del proceso de fritura para la variedad INIAP Josefina

Variables independientes		Respuesta experimental
Tiempo (min)	Temperatura (°C)	Humedad (%)
165	175	1,21
165	175	1,21
165	175	1,21
210	175	1,16
188	162	1,54
188	188	0,83
120	175	1,45
143	162	1,73
143	188	1,04

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

De igual manera se realizó el análisis de estimación de efectos para la respuesta experimental humedad utilizando los valores de la Tabla 21. Los resultados de este análisis se presentan en la Tabla 22 y la Figura 22.

Tabla 22.- Estimación de efectos para la respuesta humedad en la optimización del proceso de fritura de la variedad INIAP Josefina

Effets Estimés ; Var.:Humedad Josefina; R ² =.99629; Aj.:.99011 (Feuille de données4)										
2 fact. , 1 Blocs , 9 Ess; MC Résidus=.0007246										
VD Humedad Josefina										
Fact.	Effet	Err-T type	t(3)	p	-95, % Lim.Conf	+95, % Lim.Conf	(coeffs)	Err-T type (coeffs)	-95, % Lim.Conf	+95, % Lim.Conf
Moy/Ord.Orig	1,20847	0,01554	77,760	0,00000	1,15901	1,25792	1,20847	0,01554	1,15901	1,25792
(1)Tiempo (L)	-0,16193	0,01554	-10,416	0,00188	-0,21141	-0,11246	-0,08096	0,00777	-0,10570	-0,05623
Tiempo (Q)	0,04714	0,01228	3,8378	0,03119	0,00805	0,08624	0,02357	0,00614	0,00402	0,04312
(2)Temperatura(L)	-0,70000	0,02691	-26,004	0,00012	-0,78566	-0,61433	-0,35000	0,01345	-0,39283	-0,30716
Temperatura(Q)	0,10591	0,03686	2,873	0,06388	-0,01139	0,22321	0,05295	0,01843	-0,00569	0,11160
1L * 2L	-0,01000	0,02691	-0,371	0,73496	-0,09566	0,07566	-0,00500	0,01345	-0,04783	0,03783

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

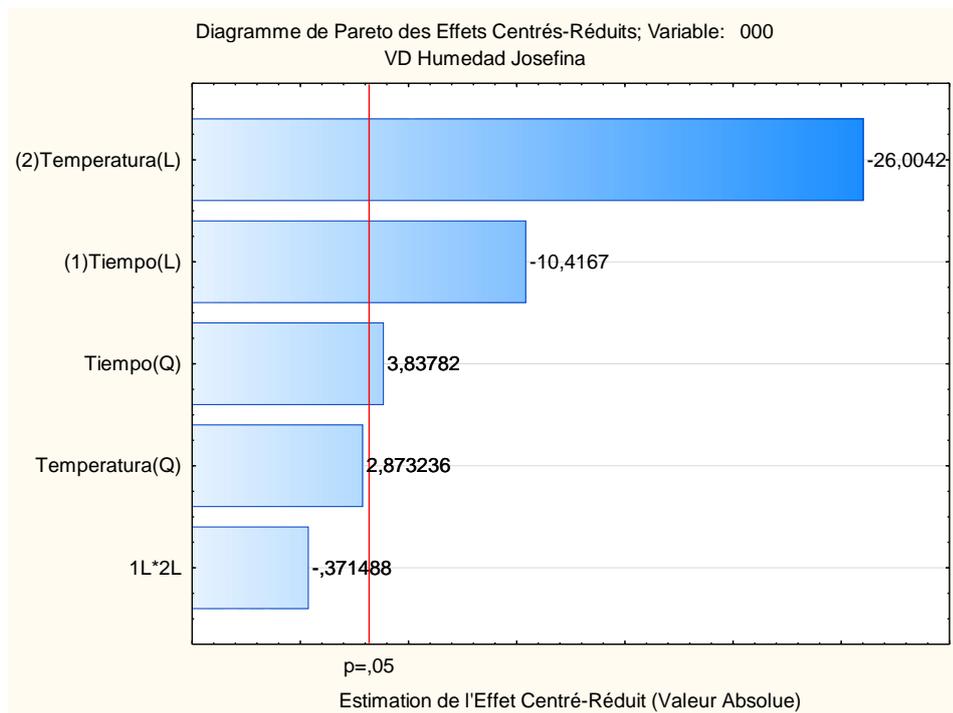


Figura 22.- Diagrama de Pareto de la estimación de los efectos para la respuesta experimental humedad en la variedad INIAP Josefina

Observando los resultados de los análisis realizados se estableció que existe influencia significativa ($p < 0,05$), de los factores tiempo y temperatura sobre el contenido de humedad al final del proceso de fritura a un nivel de confianza del 95 %.

Con los resultados obtenidos en la Tabla 22, se estableció la ecuación del modelo matemático para predecir el contenido de humedad mediante la influencia de los factores tiempo y temperatura del proceso de fritura convencional para esta variedad (Ecuación 16).

$$Y_H = 1,208471 - 0,161936t + 0,047148t^2 - 0,700000T \quad \text{Ec.16}$$

Donde:

Y_H = humedad (%)

t = tiempo (s)

T = temperatura (°C)

De igual manera observando los resultados de la Tabla 22, se estableció que el modelo presenta un coeficiente de determinación (R^2) de 0,99629, por lo cual se pudo concluir que el modelo matemático presenta una buena correlación y se ajusta a los ensayos realizados.

En la Figura 23, se presenta la proyección de las respuestas experimentales en función de los factores tiempo y temperatura, observando la superficie de respuesta para la variable humedad, se estableció que, a medida que aumenta el tiempo y temperatura en el proceso de fritura el contenido de humedad disminuye. Este fenómeno se explica por la transferencia de calor que existe entre el aceite y las rodajas de papa.

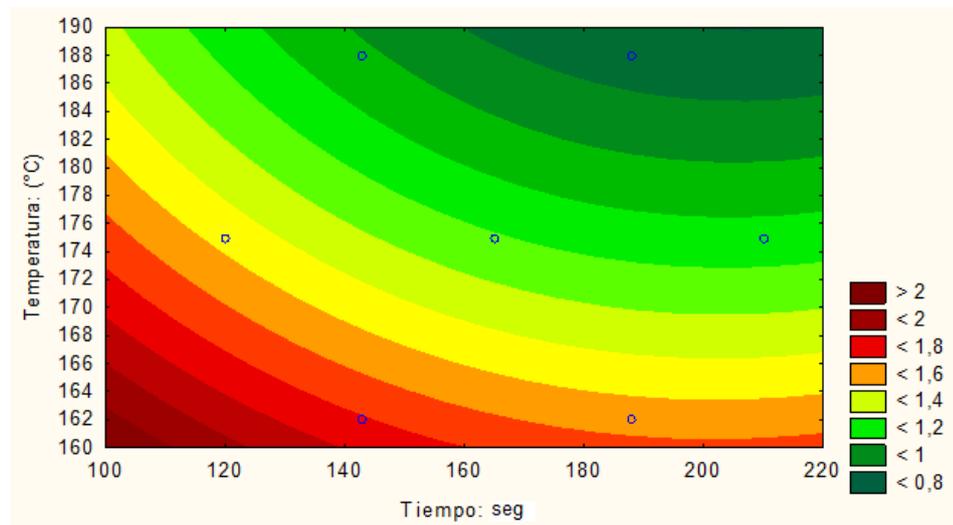


Figura 23.- Superficies de respuesta representando la influencia de los parámetros tiempo y temperatura de proceso de fritura convencional, en la humedad final de los chips de papa frita variedad INIAP Josefina

Utilizando los resultados obtenidos en el proceso de optimización de la fritura se procedió a escoger dos tratamientos que se ajustaban a condiciones de humedad inferior a 5 %. Estos tratamientos fueron T3 (162 °C y 188 segundos) y T4 (188 °C y 188 segundos), los mismos que permitieron observar en el primer caso, un proceso óptimo de fritura (Figura 24a), y en el segundo caso un efecto de sobre fritura (Figura

24b), en la cual se observó que los chips presentaban manchas oscuras, para la posterior evaluación de la presencia de acrilamida a estas condiciones.

Además como un dato adicional de calidad de fritura se realizó la determinación de contenido de grasa en los tratamientos escogidos, los mismos que presentaron valores de 37,24 % para el T3 y 27,88 %, para el T4.

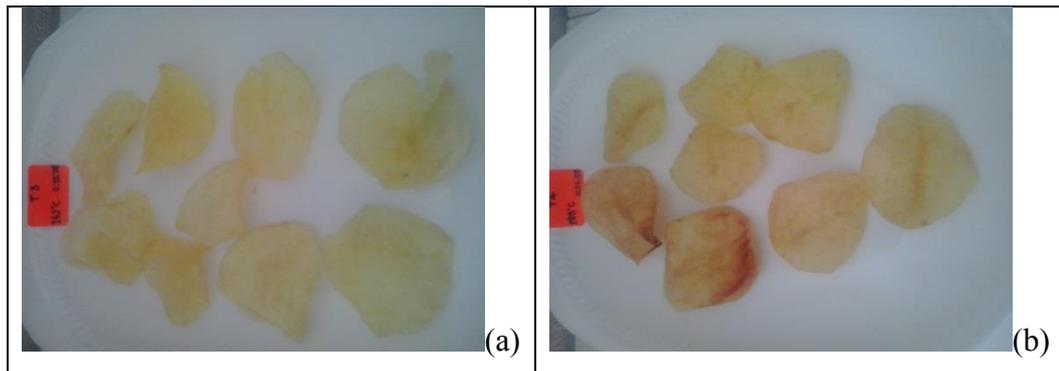


Figura 24- Chips de papa de la variedad INIAP Josefina (a) condiciones óptimas, (b) condiciones de sobrefritura

4.7.1.3 Proceso de fritura INIAP Libertad

Los resultados y la matriz utilizada para la optimización del proceso de fritura, en esta variedad se presentan en la Tabla 23.

Tabla 23.- Resultados de la optimización del proceso de fritura para la variedad INIAP Libertad

Variables independientes		Respuesta experimental
Tiempo (min)	Temperatura (°C)	Humedad (%)
165	175	1,34
165	175	1,34
165	175	1,34
210	175	1,27
188	162	2,57
188	188	1,09
120	175	1,69
143	162	3,18
143	188	1,14

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

Posteriormente se realizó el análisis de estimación de efectos para la respuesta experimental humedad, utilizando los valores de la Tabla 23. Los resultados de este análisis se presentan en la Tabla 24 y la Figura 25.

Tabla 24.- Estimación de efectos para la respuesta humedad en la optimización del proceso de fritura de la variedad INIAP Libertad

Effets Estimés ; Var.:Humedad Libertad; R ² =,99759; Aj.:,99358 (Feuille de données)										
2 fact. , 1 Blocs , 9 Ess; MC Résidu=,0033672										
VD Humedad Libertad										
Fact.	Effet	Err-Type	t(3)	p	-95, % Lim.Conf	+95, % Lim.Conf	(coeffs)	Err-Type (coeffs)	-95, % Lim.Conf	+95, % Lim.Conf
Moy/Ord.Orig	1,3378	0,03350	39,934	0,00003	-1,2312	1,4444	1,33783	0,03350	1,23122	1,44445
(1)Tiempo (L)	-0,2479	0,03351	-7,399	0,00510	-0,3546	-0,1413	-0,12397	0,01675	-0,17729	-0,07065
Tiempo (Q)	0,0692	0,02648	2,614	0,07936	-0,0150	0,1535	0,03462	0,01324	-0,00751	0,07675
(2)Temperatura(L)	-1,7600	0,05802	-30,330	0,00007	-1,9446	-1,5753	-0,88000	0,02901	-0,97233	-0,78766
Temperatura(Q)	1,2450	0,07945	15,669	0,00056	0,9922	1,4979	0,62254	0,03973	0,49610	0,74898
1L * 2L	0,2800	0,05802	4,825	0,01696	0,0953	0,4646	0,14000	0,02901	0,04766	0,23233

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

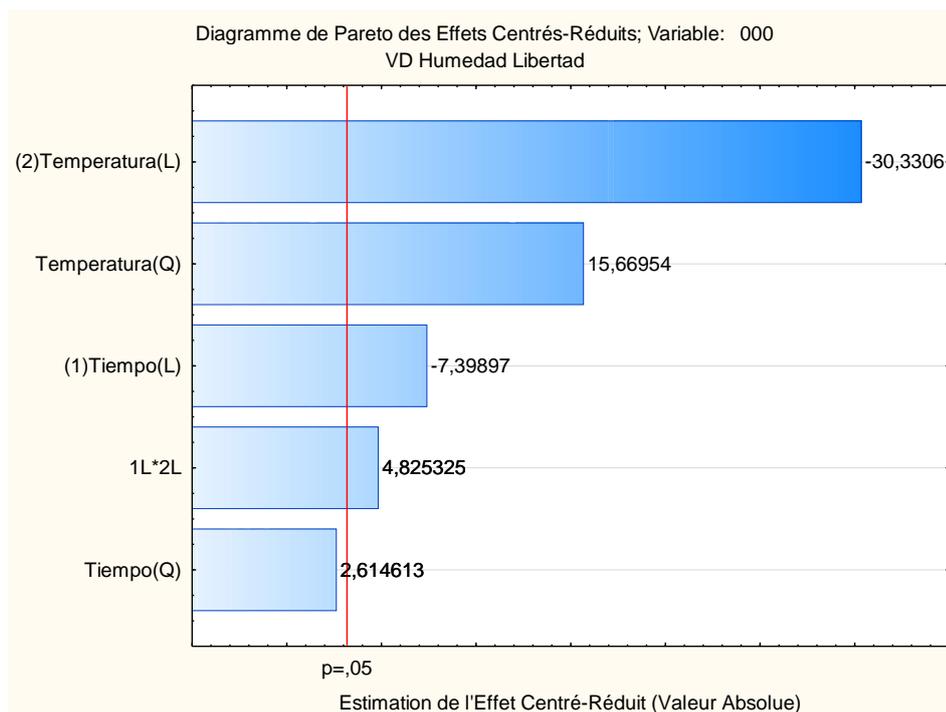


Figura 25.- Diagrama de Pareto de la estimación de los efectos para la respuesta experimental humedad variedad INIAP Libertad

Observando los resultados de los análisis realizados se estableció que existe influencia significativa ($p < 0,05$), de los factores tiempo y temperatura sobre el contenido de humedad al final del proceso de fritura a un nivel de confianza del 95 %.

Con los resultados obtenidos en la Tabla 24, se estableció la ecuación del modelo matemático para predecir el contenido de humedad, mediante la influencia de los factores tiempo y temperatura del proceso de fritura convencional para esta variedad (Ecuación 17).

$$Y_H = 1,33784 - 0,24795t - 1,76000T + 1,24509T^2 + 0,28000(t * T) \text{ Ec. 17}$$

Donde:

Y_H = humedad (%)

t = tiempo (s)

T = temperatura (°C)

De igual manera observando los resultados de la Tabla 24, se estableció que el modelo presenta un coeficiente de determinación (R^2) de 0,99759, por lo cual se pudo concluir

que el modelo presenta una buena correlación y se ajusta a los ensayos realizados. En la Figura 26, se presenta la proyección de las respuestas experimentales en función de los factores tiempo y temperatura, observando la superficie de respuesta para la variable humedad, se estableció que, a medida que aumenta el tiempo y temperatura en el proceso de fritura el contenido de humedad disminuye. Este fenómeno se explica por la transferencia de calor que existe entre el aceite y las rodajas de papa.

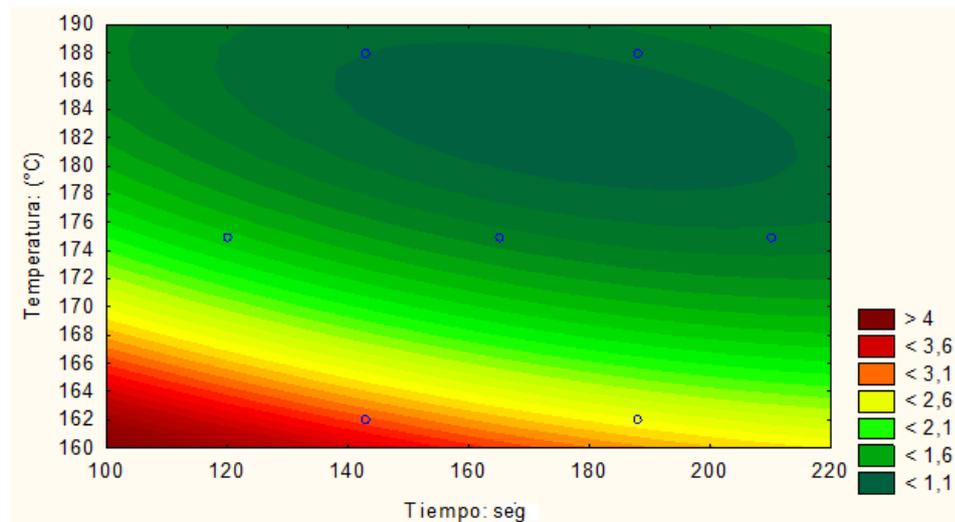


Figura 26.- Superficies de respuesta representando la influencia de los parámetros tiempo y temperatura del proceso de fritura convencional, en la humedad final de los chips de papa frita variedad INIAP Libertad

Utilizando los resultados obtenidos en el proceso de optimización de la fritura se procedió a escoger dos tratamientos que se ajustaban a condiciones de humedad inferior a 5 %. Estos tratamientos fueron T5 (175 °C y 120 segundos) y T4 (188 °C y 188 segundos), los mismos que permitieron observar en el primer caso un proceso óptimo de fritura (Figura 27a), y en el segundo caso un efecto de sobrefritura (Figura 27b), en la cual se observó que los chips presentaban manchas oscuras, para la posterior evaluación de la presencia de acrilamida a estas condiciones.

Además como un dato adicional de calidad de fritura se realizó la determinación de contenido de grasa en los tratamientos escogidos, los mismos que presentaron valores de 33,92 % para el T5 y 30,57 %, para el T4.

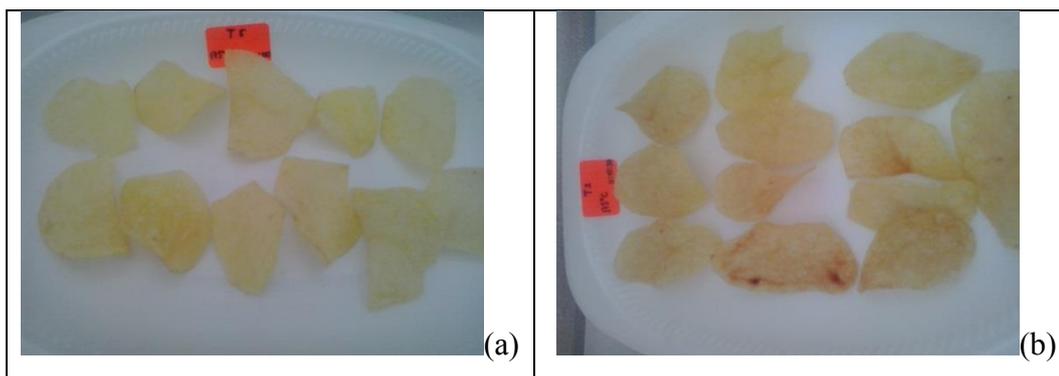


Figura 27- Chips de papa de la variedad INIA Libertad (a) condiciones óptimas, (b) condiciones de sobrefritura variedad INIAP Libertad

4.7.1.4 Proceso de fritura variedad INIAP Natividad

Los resultados y la matriz utilizada para la optimización del proceso de fritura, en esta variedad se presentan en la Tabla 25.

Tabla 25.- Resultados de la optimización del proceso de fritura para la variedad INIAP Natividad

Variables independientes		Respuesta experimental
Tiempo (min)	Temperatura (°C)	Humedad (%)
165	175	1,49
165	175	1,49
165	175	1,49
210	175	1,13
188	162	2,29
188	188	0,87
120	175	1,86
143	162	3,53
143	188	1,04

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

Posteriormente se realizó el análisis de estimación de efectos para la respuesta experimental humedad, utilizando los valores de la Tabla 25. Los resultados de este análisis se presentan en la Tabla 26 y la Figura 28.

Tabla 26.- Estimación de efectos para la respuesta humedad en la optimización del proceso de fritura de la variedad INIAP Natividad

Effets Estimés ; Var.:Humedad Natividad; R²=,98546; Aj.:,96123 (Feuille de données4)										
2 fact. , 1 Blocs , 9 Ess.; MC Résidus=,0256986										
VD Humedad Natividad										
Fact.	Effet	Err-Type	t(3)	p	-95, % Lim.Conf	+95, % Lim.Conf	(coeffs)	Err-Type (coeffs)	-95, % Lim.Conf	+95, % Lim.Conf
Moy/Ord.Orig	1,48636	0,09255	16,060	0,00052	1,19183	1,78090	1,48636	0,09255	1,19183	1,78090
(1)Tiempo (L)	-0,47832	0,09257	-5,1666	0,01406	-0,77295	-0,18369	-0,23916	0,04629	-0,38647	-0,091847
Tiempo (Q)	0,00040	0,07316	0,0055	0,99597	-0,23243	0,23323	0,00020	0,03658	-0,11621	0,116615
(2)Temperatura(L)	-1,95500	0,16030	-12,1953	0,00118	-2,46517	-1,44483	-0,97750	0,08015	-1,23258	-0,722414
Temperatura(Q)	0,89187	0,21951	4,0628	0,02688	0,19327	1,59047	0,44593	0,10975	0,09664	0,795235
1L * 2L	0,53500	0,16030	3,3373	0,04476	0,02483	1,04517	0,26750	0,08015	0,01241	0,522586

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

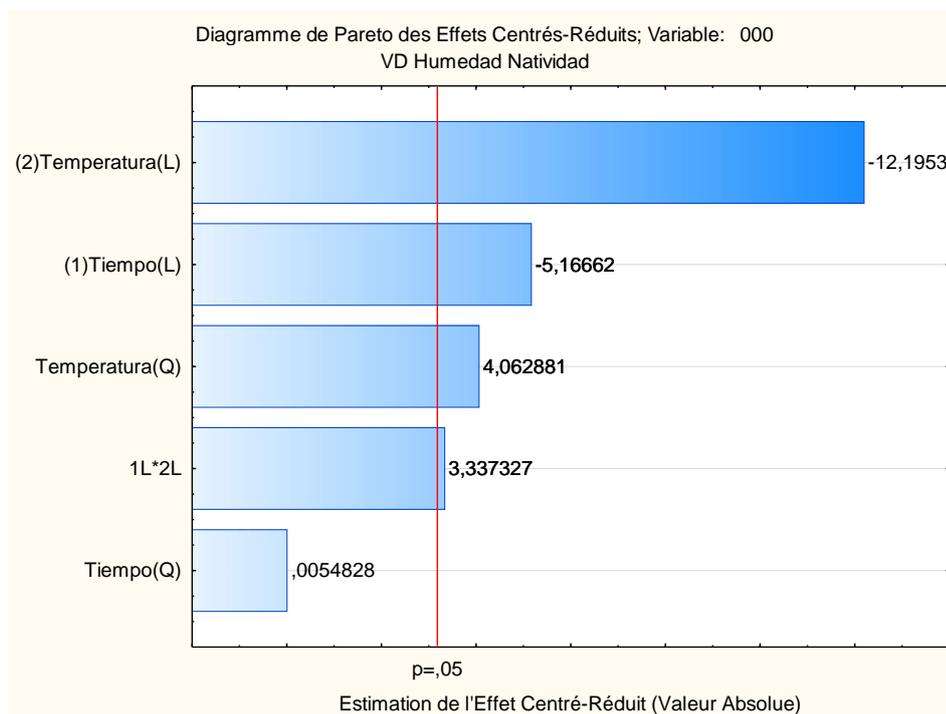


Figura 28.- Diagrama de Pareto de la estimaci3n de los efectos para la respuesta experimental humedad variedad INIAP Natividad

Observando los resultados de los análisis realizados se estableci3 que existe influencia significativa, de los factores tiempo y temperatura sobre el contenido de humedad al final del proceso de fritura convencional a un nivel de confianza del 95 %.

Con los resultados obtenidos en la Tabla 26, se estableci3 la ecuaci3n del modelo matemático para predecir el contenido de humedad, mediante la influencia de los factores tiempo y temperatura de proceso de fritura convencional para esta variedad (Ecuaci3n 18).

$$Y_H = 1,48636 - 0,47832t - 1,95500T + 0,89187T^2 + 0,53500(t * T) \quad \text{Ec. 18}$$

Donde:

Y_H = humedad (%)

t= tiempo (s)

T= temperatura (°C)

De igual manera observando los resultados de la Tabla 26, se estableció que el modelo presenta un coeficiente de determinación (R^2) de 0,985, por lo cual se pudo concluir que el modelo presenta una buena correlación y se ajusta a los ensayos realizados.

En la Figura 29, se presenta la proyección de las respuestas experimentales en función de los factores tiempo y temperatura, observando la superficie de respuesta para la variable humedad, se estableció que, a medida que aumenta el tiempo y temperatura en el proceso de fritura el contenido de humedad disminuye. Este fenómeno se explica por la transferencia de calor que existe entre el aceite y las rodajas de papa.

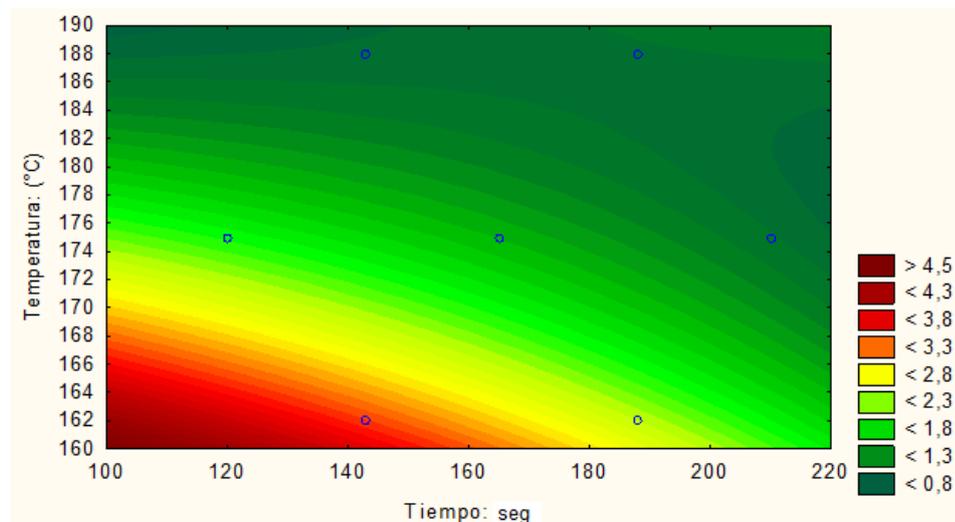


Figura 29.- Superficies de respuesta representando la influencia de los parámetros tiempo y temperatura del proceso de fritura convencional, en la humedad final de los chips de papa frita variedad INIAP Natividad

Utilizando los resultados obtenidos en el proceso de optimización de la fritura se procedió a escoger dos tratamientos que se ajustaban a condiciones de humedad inferior a 5 %. Estos tratamientos fueron T3 (162 °C y 188 segundos) y T4 (188 °C de y 188 segundos), los mismos que permitieron observar en el primer caso un proceso óptimo de fritura (Figura 30a), y en el segundo caso un efecto de sobrefritura (Figura

30b), en la cual se observó que los chips presentaban manchas oscuras, para la posterior evaluación de la presencia de acrilamida a estas condiciones.

Además como un dato adicional de calidad de fritura se realizó la determinación de contenido de grasa en los tratamientos escogidos, los mismos que presentaron valores de 32,00 % para el T3 y 30,03 %, para el T4.

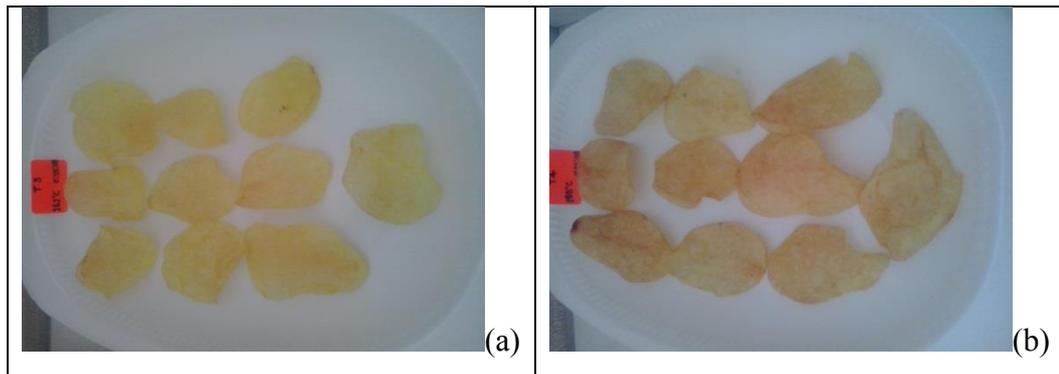


Figura 30- Chips fritos de papa variedad INIAP Natividad (a) condiciones óptimas y (b) condiciones de sobre fritura

4.7.1.5 Proceso de fritura variedad Rubí

Los resultados y la matriz utilizada para la optimización del proceso de fritura, en esta variedad se presentan en la Tabla 27.

Tabla 27.- Resultados de la optimización del proceso de fritura para la variedad Rubí

Variables independientes		Respuesta experimental
Tiempo (min)	Temperatura (°C)	Humedad (%)
165	175	1,57
165	175	1,57
165	175	1,57
210	175	1,42
188	162	2,51
188	188	1,07
120	175	2,12
143	162	3,53
143	188	1,30

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

Posteriormente se realizó el análisis de estimación de efectos para la respuesta experimental humedad, utilizando los valores de la Tabla 27. Los resultados de este análisis se presentan en la Tabla 28 y la Figura 31.

Tabla 28.- Estimación de efectos para la respuesta humedad en la optimización del proceso de fritura de la variedad Rubí

Effets Estimés ; Var.:Humedad Rubí; R ² =,98884; Aj.:,97023 (Feuille de données4)										
2 fact. , 1 Blocs , 9 Ess; MC Résidus=,0173484										
VD Humedad Rubí										
Fact.	Effet	Err-Type	t(3)	p	-95,% Lim.Conf	+95,% Lim.Conf	(coeffs)	Err-Type (coeffs)	-95,% Lim.Conf	+95,% Lim.Conf
Moy/Ord.Orig	1,5664	0,07604	20,600	0,00025	-1,3244	1,8084	1,56648	0,07604	-1,3244	1,80848
(1)Tiempo (L)	-0,4387	0,07606	-5,768	0,01035	-0,6808	-0,1966	-0,21937	0,03803	-0,3404	-0,09834
Tiempo (Q)	0,0982	0,06011	1,634	0,20058	-0,0930	0,2895	0,04913	0,03005	-0,0465	0,14478
(2)Temperatura(L)	-1,8350	0,13171	-13,931	0,00080	-2,2541	-1,4158	-0,91750	0,06585	-1,1270	-0,70791
Temperatura(Q)	0,9737	0,18036	5,399	0,01245	0,3997	1,5477	0,48688	0,09018	0,1998	0,77387
1L * 2L	0,3950	0,13171	2,998	0,05771	-0,0241	0,8141	0,19750	0,06585	-0,0120	0,40708

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

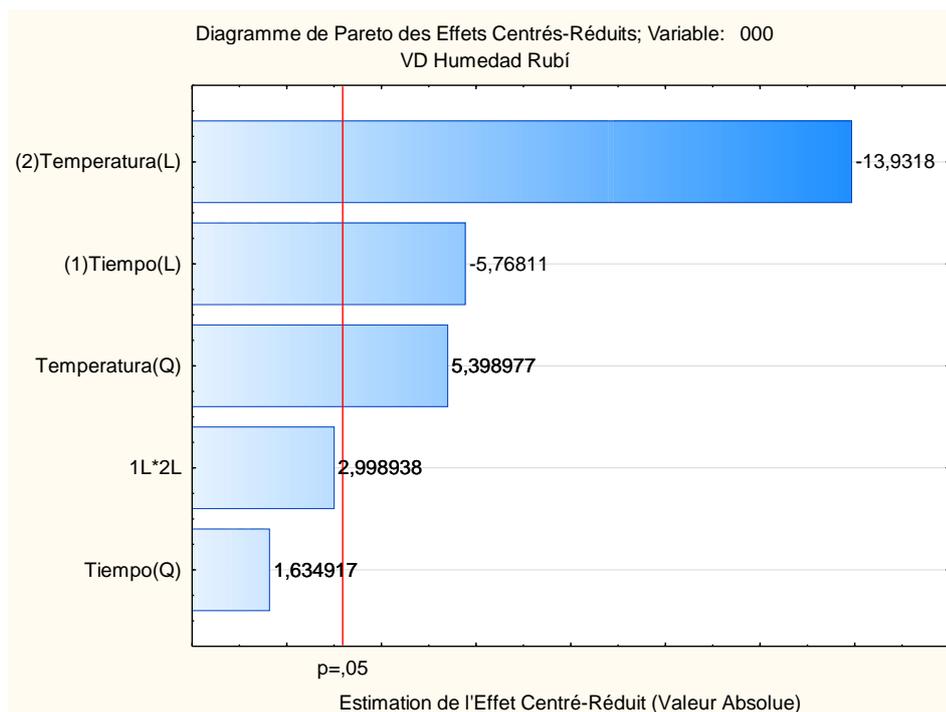


Figura 31.- Diagrama de Pareto de la estimación de los efectos para la respuesta experimental humedad variedad Rubí

Observando los resultados de los análisis realizados se estableció que existe influencia significativa ($p < 0,05$), de los factores tiempo y temperatura sobre el contenido de humedad al final del proceso de fritura, a un nivel de confianza del 95 %.

Con los resultados obtenidos en la Tabla 28, se estableció la ecuación del modelo matemático para predecir el contenido de humedad, mediante la influencia de los factores tiempo y temperatura del proceso de fritura convencional para esta variedad (Ecuación 19).

$$Y_H = 1,56648 - 0,43875t - 1,835000T + 0,96933T^2 + 0,62500 \quad \text{Ec. 19}$$

Donde:

Y_H = humedad (%)

t= tiempo (s)

T= temperatura (°C)

De igual manera observando los resultados de la Tabla 28, se estableció que el modelo presenta un coeficiente de determinación (R^2) de 0,988, por lo cual se pudo concluir

que el modelo presenta una buena correlación y se ajusta a los ensayos realizados. En la Figura 32, se presenta la proyección de las respuestas experimentales en función de los factores tiempo y temperatura, observando la superficie de respuesta para la variable humedad, se estableció que, a medida que aumenta el tiempo y temperatura en el proceso de fritura el contenido de humedad disminuye. Este fenómeno se explica por la transferencia de calor que existe entre el aceite y las rodajas de papa.

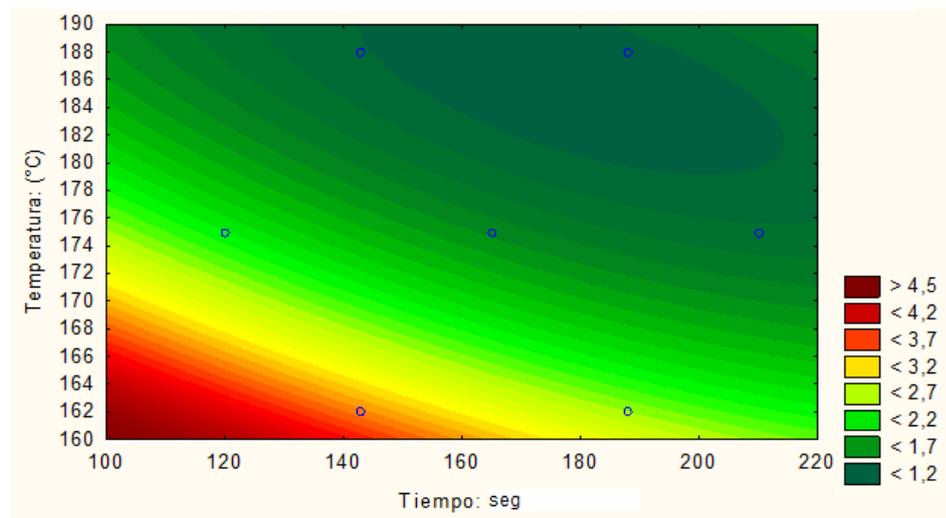


Figura 32.- Superficie de respuesta representando la influencia de los parámetros tiempo y temperatura del proceso de fritura convencional, en la humedad final de chips de papa frita de la variedad Rubí

Utilizando los resultados obtenidos en el proceso de optimización de la fritura se procedió a escoger dos tratamientos que se ajustaban a condiciones de humedad inferior a 5 %. Estos tratamientos fueron T1 (175 °C y 165 segundos) y T4 (188 °C y 188 segundos), los mismos que permitieron observar en el primer caso un proceso óptimo de fritura (Figura 33a), y en el segundo caso un efecto de sobre fritura (Figura 33b), en la cual se observó que los chips presentaban manchas oscuras, para la posterior evaluación de la presencia de acrilamida a estas condiciones.

Además como un dato adicional de calidad de fritura se realizó la determinación de contenido de grasa en los tratamientos escogidos, los mismos que presentaron valores de 39,19 % para el T1 y 30,50 %, para el T4.

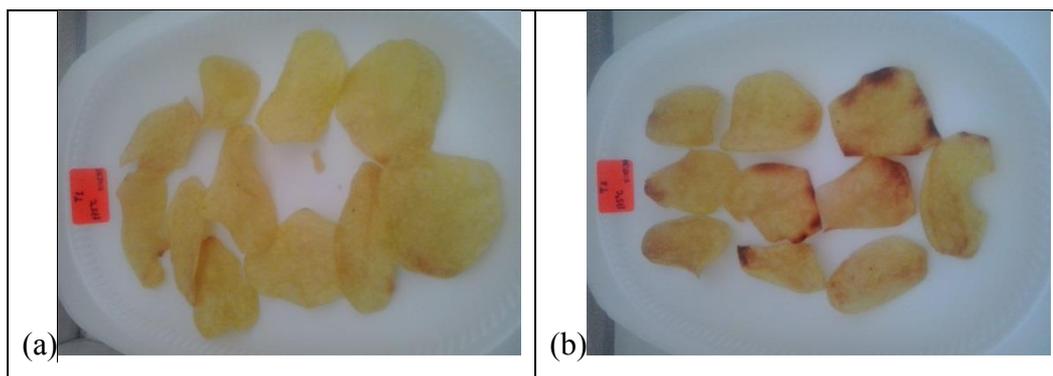


Figura 33- Chips fritos de papa de la variedad Rubí (a) condiciones óptimas y (b) condiciones de sobre fritura

4.7.1.6 Proceso de fritura variedad Superchola

Los resultados y la matriz utilizada para la optimización del proceso de fritura, en esta variedad se presentan en la Tabla 29.

Tabla 29.- Resultados del proceso de optimización de fritura para la variedad Superchola

Variables independientes		Respuesta experi- mental
Tiempo (min)	Temperatura (°C)	Humedad (%)
165	175	1,62
165	175	1,62
165	175	1,62
210	175	1,55
188	162	2,96
188	188	1,07
120	175	1,98
143	162	3,69
143	188	1,39

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

Posteriormente se realizó el análisis de estimación de efectos para la respuesta experimental humedad, utilizando los valores de la Tabla 29. Los resultados de este análisis se presentan en la Tabla 30 y la Figura 34.

Tabla 30.- Estimación de efectos para la respuesta humedad en la optimización del proceso de fritura de la variedad Superchola

Effets Estimés ; Var.:Humedad Superchola; R²=,98837; Aj.:,96899 (Feuille de données4)										
2 fact. , 1 Blocs , 9 Ess.; MC Résidus=,0217958										
VD Humedad Superchola										
Fact.	Effet	Err-Type	t(3)	p	-95,% Lim.Conf	+95,% Lim.Conf	(coeffs)	Err-Type (coeffs)	-95,% Lim.Conf	+95,% Lim.Conf
Moy/Ord.Orig	1,61802	0,08523	18,983	0,00031	1,3467	1,88927	1,61802	0,08523	1,3467	1,88927
(1)Tiempo (L)	-0,31624	0,08526	-3,7092	0,03406	-0,5875	-0,04491	-0,15812	0,04263	-0,2937	-0,02245
Tiempo (Q)	0,07057	0,06737	1,0474	0,37187	-0,1438	0,2849	0,0352	0,03368	-0,0719	0,14249
(2)Temperatura(L)	-2,0950	0,14763	-14,190	0,00075	-2,5648	-1,6251	-1,0475	0,07381	-1,2824	-0,81258
Temperatura(Q)	1,2484	0,20216	6,1753	0,00855	0,6050	1,8917	0,6242	0,10108	0,3025	0,94588
1L * 2L	0,2050	0,14763	1,388	0,25910	-0,2648	0,6748	0,1025	0,07381	-0,1324	0,33741

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

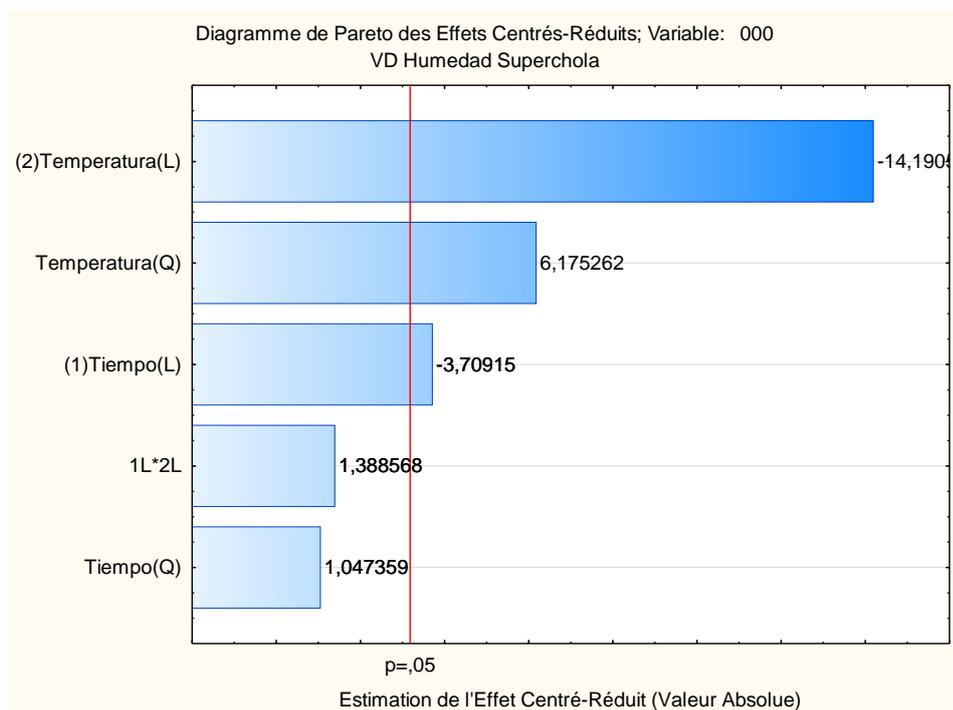


Figura 34.- Diagrama de Pareto de la estimación de los efectos para la respuesta experimental humedad variedad Superchola

Observando los resultados de los análisis realizados se estableció la inexistencia de la influencia significativa, de los factores tiempo y temperatura sobre el contenido de humedad al final del proceso de fritura a un nivel de confianza del 95 %.

Con los resultados obtenidos en la Tabla 30, se estableció la ecuación del modelo matemático para predecir el contenido de humedad mediante la influencia de los factores tiempo y temperatura del proceso de fritura convencional para esta variedad (Ecuación 20).

$$H = 1,61802 - 0,31624t - 2,09500T + 1,24840T^2 \quad \text{Ec. 20}$$

Donde:

Y_H = humedad (%)

t= tiempo (s)

T= temperatura (°C)

De igual manera observando los resultados de la Tabla 30, se estableció que el modelo presenta un coeficiente de determinación (R^2) de 0,988, por lo cual se pudo concluir que el modelo presenta una buena correlación y se ajusta a los ensayos realizados.

En la Figura 35, se presenta la proyección de las respuestas experimentales en función de los factores tiempo y temperatura, observando la superficie de respuesta para la variable humedad, se estableció que, a medida que aumenta el tiempo y temperatura en el proceso de fritura el contenido de humedad disminuye. Este fenómeno se explica por la transferencia de calor que existe entre el aceite y las rodajas de papa.

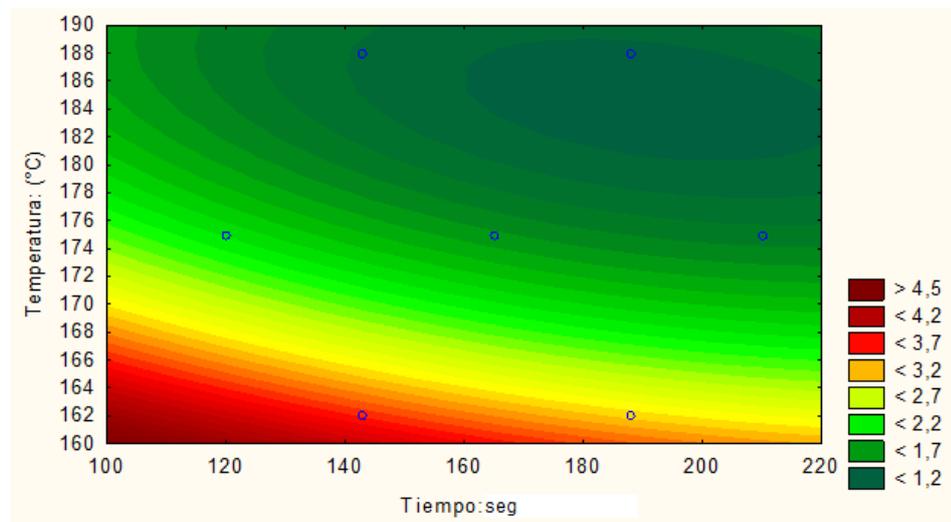


Figura 35.- Superficie de respuesta representando la influencia de los parámetros tiempo y temperatura del proceso de fritura convencional, en la humedad final de los chips de papa frita variedad Superchola

Utilizando los resultados obtenidos en el proceso de optimización de la fritura se procedió a escoger dos tratamientos que se ajustaban a condiciones de humedad inferior a 5 %. Estos tratamientos fueron T1 (175 °C y 165 segundos) y T4 (188 °C y 188 segundos), los mismos que permitieron observar en el primer caso un proceso óptimo de fritura (Figura 36a), y en el segundo caso un efecto de sobrefritura (Figura

36b), en la cual se observó que los chips presentaban manchas oscuras, para la posterior evaluación de la presencia de acrilamida a estas condiciones.

Además como un dato adicional de calidad de fritura se realizó la determinación de contenido de grasa en los tratamientos escogidos, los mismos que presentaron valores de 34,47 % para el T1 y 29,10 %, para el T4.

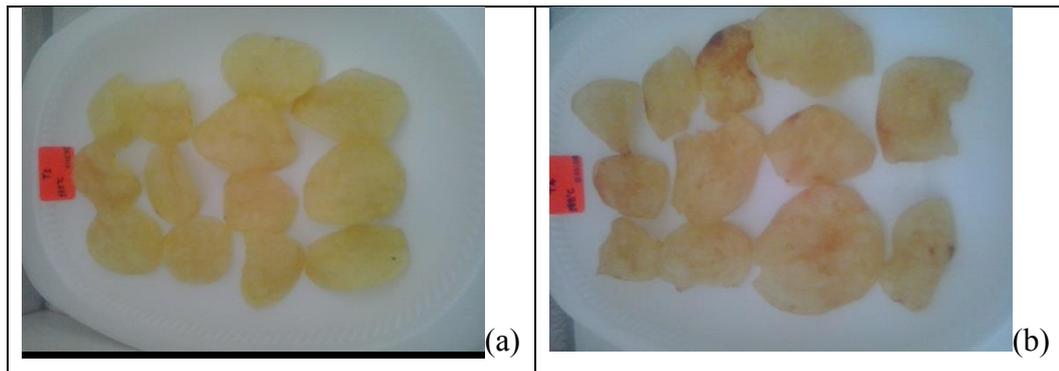


Figura 36- Chips fritos de papa de la variedad Superchola (a) condiciones óptimas y (b) condiciones de sobrefritura

4.7.1.7 Proceso de fritura variedad Victoria

Los resultados y la matriz utilizada para la optimización del proceso de fritura, en esta variedad se presentan en la Tabla 31.

Tabla 31.- Resultados de la optimización del proceso de fritura para la variedad INIAP Victoria

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

Variables independientes		Respuesta experimental
Tiempo (min)	Temperatura (°C)	Humedad (%)
165	175	1,43
165	175	1,43
165	175	1,43
210	175	1,28
188	162	2,27
188	188	0,92
120	175	1,65
143	162	3,13
143	188	0,86

Posteriormente se realizó el análisis de estimación de efectos para la respuesta experimental humedad, utilizando los valores de la Tabla 31. Los resultados de este análisis se presentan en la Tabla 32 y la Figura 37.

Tabla 32.- Estimación de efectos para la respuesta humedad en la optimización del proceso de fritura de la variedad INIAP Victoria

Effets Estimés ; Var.:Humedad Victoria; R ² =,99223; Aj.:,97927 (Feuille de données4)										
2 fact. , 1 Blocs , 9 Ess.; MC Résidu=,0103438										
VD Humedad Victoria										
Fact.	Effet	Err-Type	t(3)	p	-95,% Lim.Conf	+95,% Lim.Conf	(coeffs)	Err-Type (coeffs)	-95,% Lim.Conf	+95,% Lim.Conf
Moy/Ord.Orig	1,42821	0,058717	24,3236	0,000152	1,24135	1,61508	1,42821	0,058717	1,24135	1,615079
(1)Tiempo (L)	-0,25619	0,058735	-4,3617	0,022277	-0,44311	-0,06927	-0,12809	0,029368	-0,22155	-0,034633
Tiempo (Q)	0,01617	0,046415	0,3483	0,750594	-0,13155	0,16388	0,008084	0,023208	-0,06577	0,081941
(2)Temperatura(L)	-1,81000	0,101705	-17,7966	0,000387	-2,13367	-1,48633	-0,90500	0,050852	-1,06683	-0,743165
Temperatura(Q)	0,71740	0,139265	5,1512	0,014182	0,27415	1,16062	0,358707	0,069634	0,13709	0,580305
1L * 2L	0,46000	0,101705	4,5229	0,020213	0,13633	0,78367	0,23000	0,050852	0,06817	0,391835

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

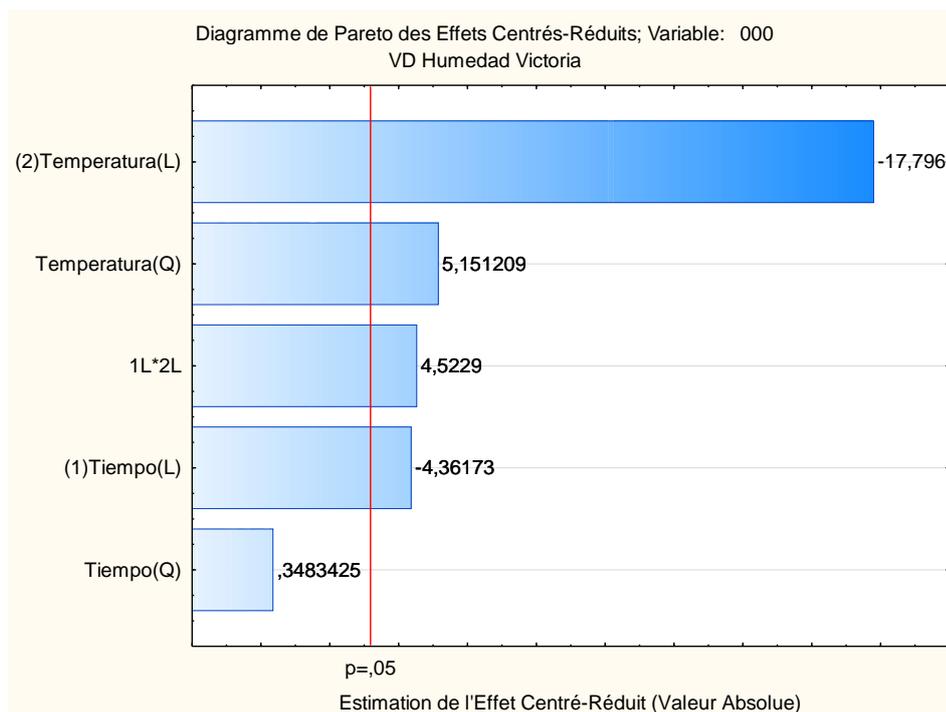


Figura 37.- Diagrama de Pareto de la estimación de los efectos para la respuesta experimental humedad variedad INIAP Victoria

Observando los resultados de los análisis realizados se estableció que existe influencia significativa ($p < 0,05$), de los factores tiempo y temperatura, sobre el contenido de humedad al final del proceso de fritura a un nivel de confianza del 95 %.

Con los resultados obtenidos en la Tabla 32, se estableció la ecuación del modelo matemático para predecir el contenido de humedad, mediante la influencia de los factores tiempo y temperatura de proceso de fritura convencional para esta variedad (Ecuación 21).

$$Y = 1,42821 - 0,25619t - 1,81000T + 0,71740T^2 + 0,46000(t * T) \quad \text{Ec. 21}$$

Donde:

Y_H = humedad (%)

t = tiempo (s)

T = temperatura (°C)

De igual manera observando los resultados de la Tabla 32, se estableció que el modelo presenta un coeficiente de determinación (R^2) de 0,99223, por lo cual se pudo concluir

que el modelo presenta una buena correlación y se ajusta a los ensayos realizados.

En la Figura 38, se presenta la proyección de las respuestas experimentales en función de los factores tiempo y temperatura, observando la superficie de respuesta para la variable humedad, se estableció que, a medida que aumenta el tiempo y temperatura en el proceso de fritura el contenido de humedad disminuye. Este fenómeno se explica por la transferencia de calor que existe entre el aceite y las rodajas de papa.

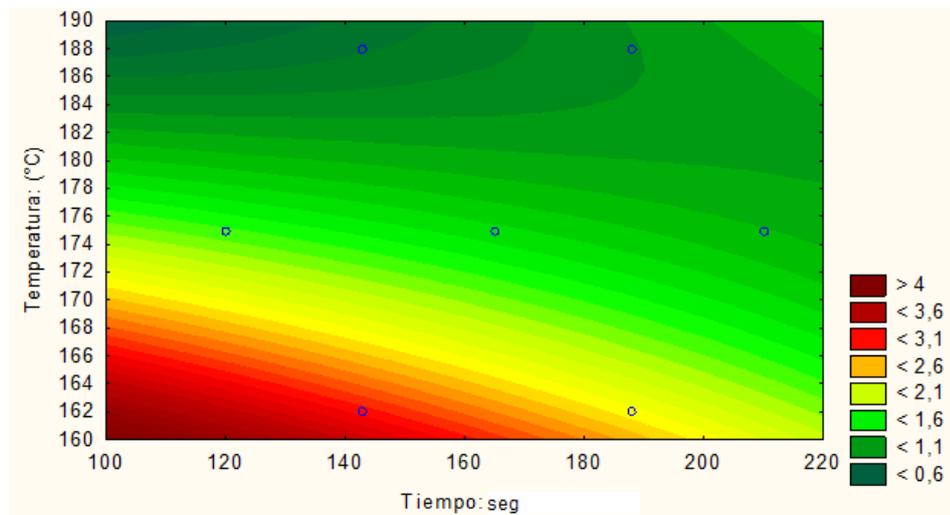


Figura 38.- Superficie de respuesta representando los parámetros tiempo y temperatura del proceso de fritura convencional, en la humedad final de los chips de papa frita variedad INIAP Victoria

Utilizando los resultados obtenidos en el proceso de optimización de la fritura se procedió a escoger dos tratamientos que se ajustaban a condiciones de humedad inferior a 5 %. Estos tratamientos fueron T1 (175 °C y 165 segundos) y T4 (188 °C y 188 segundos), los mismos que permitieron observar en el primer caso un proceso óptimo de fritura (Figura 39a), y en el segundo caso un efecto de sobrefritura (Figura 39b), en la cual se observó que los chips presentaron manchas oscuras, para la posterior evaluación de la presencia de acrilamida a estas condiciones.

Además como un dato adicional de calidad de fritura se realizó la determinación de contenido de grasa en los tratamientos escogidos, los mismos que presentaron valores de 25,17 % para el T1 y 20,97 %, para el T4.



Figura 39.- Chips fritos de papa de la variedad INIAP Victoria (a) condiciones óptimas y (b) condiciones de sobre fritura variedad

4.7.2 Fritura al vacío

Con la finalidad de establecer diferencias en cuanto a la formación de acrilamida en los diferentes procesos de fritura, se realizó la elaboración de los chips de las siete variedades de papa utilizando el proceso de fritura al vacío, a temperatura de 125 °C y 11,30 kPa, durante 6 minutos. Los resultados de humedad de las diferentes variedades de papa utilizadas para esta investigación se muestran a continuación en la Tabla 33.

Tabla 33.- Contenido de humedad y grasa posterior al proceso de fritura al vacío

VARIEDAD	Contenido de humedad	Contenido de grasa
	Valor promedio (%)	Valor promedio (%)
Diacol Capiro	4,02	7,31
INIAP Josefina	3,66	10,07
INIAP Libertad	2,45	9,17
INIAP Natividad	3,95	12,28
Rubí	2,76	10,30
Superchola	3,73	6,41
INIAP Victoria	4,71	17,54

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

Para el posterior análisis de acrilamida, se utilizaron todas las muestras resultantes de este proceso de fritura, ya que a estas condiciones se obtiene un producto óptimo, tal como se puede apreciar en la Figura 40.

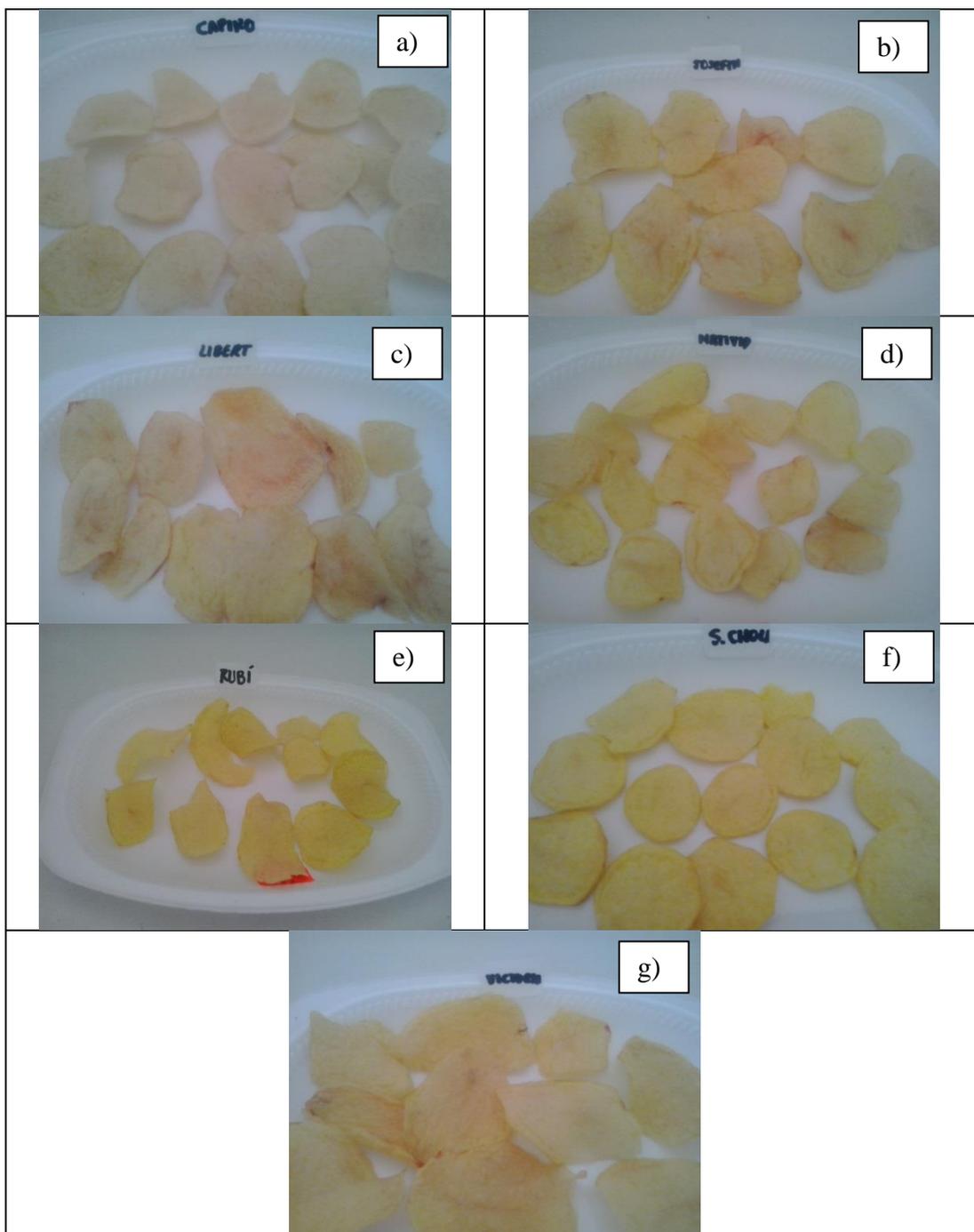


Figura 40. Chips de papa a condiciones de vacío (125 °C / 11,30 kPa) a) variedad Diacol Capiro; b) variedad INIAP Josefina; c) variedad INIAP Libertad; d) variedad INIAP Natividad; e) variedad Rubí; f) variedad Superchola; g) variedad INIAP Victoria

4.8 Análisis de acrilamida

Con los tratamientos seleccionados en cada uno de los proceso de fritura se determinó la concentración de acrilamida presente en los mismos, mediante la aplicación del

método de Agilent previamente adaptado al Laboratorio de Servicios de Análisis e Investigación en Alimentos (LSAIA), los resultados de este análisis se presentan en la Tabla 34.

Tabla 34.- Contenido de acrilamida en muestras seleccionadas de los procesos de fritura convencional y al vacío

Variedad de papa	Proceso de Friura	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Acrilamida (µg/kg)
Diacol Capiro	Convencional óptimo	175	2,75	< LD
	Convencional sobrefritura	188	3,13	2412,60
	Al vacío	125 °C a 10,30 kPa	6	< LD
INIAP Josefina	Convencional óptimo	162,01	3,13	< LD
	Convencional sobrefritura	187,99	3,13	1107,20
	Al vacío	125 °C 10,30 kPa	6	< LD
INIAP Libertad	Convencional óptimo	175	2	< LD
	Convencional sobrefritura	188	3,13	1114,89
	Al vacío	125 °C a 10,30kPa	6	586,02
INIAP Natividad	Convencional óptimo	162,01	3,13	< LD
	Convencional sobrefritura	187,99	3,13	< LD
	Al vacío	125 °C a 10,30kPa	6	< LD
Rubí	Convencional óptimo	175	2,75	< LD
	Convencional sobrefritura	187,99	2,38	1683,93
	Al vacío	125 °C 10,30kPa	6	< LD
Superchola	Convencional óptimo	175	2,75	< LD
	Convencional sobrefritura	187,99	2,38	< LD
	Al vacío	125 °C 10,30kPa	6	< LD
Victoria	Convencional óptimo	175	2,75	< LD
	Convencional sobrefritura	187,99	2,38	859,55
	Al vacío	125 °C 10,30kPa	6	< LD

Límite de detección (LD)= 316,12 µg/kg.

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

Con los resultados presentados en la Tabla 34 se determinó que la mayor cantidad de muestras contienen un nivel de acrilamida inferior al límite de detección (316,12 µg/kg), es decir que bajo dicho valor las cantidades del analito producido en estas

muestras no pueden ser detectadas por el equipo de acuerdo al método adaptado. Además el valor en el mínimo de analito que puede ser cuantificado es de 635,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$, bajo este valor no se puede asegurar con precisión y exactitud la cantidad de acrilamida generada en las muestras.

4.8.1 Correlación de las características físico químicas de los chips de papa con el contenido de acrilamida presente en los mismos.

Con la finalidad de dar cumplimiento al tercer objetivo específico de la investigación se realizó un análisis de correlación entre las variables físico químicas que inciden en la formación de acrilamida. Para ello se tomaron como respuestas experimentales la concentración de azúcares y nitrógeno total inicial (papa en estado fresco) y final (posterior al proceso de fritura convencional y al vacío) de los tratamientos de las siete variedades de papa escogidas previamente en los diferentes procesos de fritura convencional y al vacío, por ser estas variables las que influyen directamente como precursores de la formación de acrilamida, en base a estudios realizados por varios autores (Mottram et al., 2002; Stadler et al., 2004; Tareke et al., 2002).

4.8.1.1 Variedad Diacol Capiro.

En base a los resultados del contenido de acrilamida determinado para esta variedad de papa se estableció que los valores del analito se encuentran bajo el límite de detección, para los procesos de fritura convencional en el tratamiento óptimo (T1) y fritura al vacío, lo que establece que en caso de existir acrilamida en estos tratamientos, no es detectable en el equipo mediante la aplicación de la metodología seleccionada para su análisis. Mientras que para el proceso de fritura convencional en el tratamiento de sobrefritura (T4), se encontró un contenido de 2412 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de acrilamida en esta variedad. Los resultados del análisis de los precursores (contenido de nitrógeno total y contenido de azúcares reductores) se presentan en la Tabla 35.

Tabla 35.- Contenido de nitrógeno total y azúcares reductores de la variedad Diacol Capiro antes y después de los diferentes procesos de fritura

Azúcares reductores	Tratamiento 1	Tratamiento 4	Fritura al vacío
	Contenido de azúcares reductores (%)		
Inicial (1)	0,23	0,23	0,23
Final (2)	0,09	0,09	0,18
Nitrógeno total	Contenido de nitrógeno total (%)		
	Inicial (1)	1,88	1,88
Final (2)	1,03	0,82	1,35

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

4.8.1.2 Variedad INIAP Josefina

En base a los resultados del contenido de acrilamida determinado para esta variedad de papa, se estableció que los valores del analito se encuentra bajo el límite de detección, para los procesos de fritura convencional en el tratamiento óptimo (T3) y fritura al vacío, lo que establece que en caso de existir acrilamida en estos tratamientos, no es detectable en el equipo mediante la aplicación de la metodología seleccionada para su análisis. Mientras que para el proceso de fritura convencional en el tratamiento de sobrefritura (T4), se encontró un valor de 1107,20 µg/kg de acrilamida en esta variedad

Los resultados del análisis de los precursores: contenido de nitrógeno total y contenido de azúcares reductores se presentan en la Tabla 36.

Tabla 36.- Contenido de nitrógeno total y azúcares reductores de la variedad INIAP Josefina antes y después de los diferentes procesos de fritura

Azúcares reductores	Tratamiento 3	Tratamiento 4	Fritura al vacío
	Contenido de azúcares reductores (%)		
Inicial (1)	0,22	0,22	0,22
Final (2)	0,09	0,11	0,18
Nitrógeno total	Contenido de nitrógeno total (%)		
	Inicial (1)	1,86	1,86
Final (2)	0,86	1,04	1,28

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

4.8.1.3 Variedad INIAP Libertad

En base a los resultados del contenido de acrilamida determinado para esta variedad de papa, se estableció que los valores del analito se encuentran bajo el límite de detección para el proceso de fritura convencional en el tratamiento óptimo (T5), lo que establece que, en caso de existir acrilamida en dicho tratamiento, no es detectable en el equipo mediante la aplicación de la metodología seleccionada para su análisis.

Mientras que para los procesos de fritura convencional en el tratamiento de sobrefritura (T4) y fritura al vacío se encontraron valores de 1114,89 µg/kg y 586,02 µg/kg de acrilamida respectivamente en esta variedad. Los resultados del análisis de los precursores contenido de nitrógeno total y contenido de azúcares reductores se presentan en la Tabla 37.

Tabla 37.- Contenido de nitrógeno total y azúcares reductores de la variedad INIAP Libertad antes y después de los diferentes procesos de fritura

Azúcares reductores	Trata- miento 5	Trata- miento 4	Fritura al vacío
	Contenido de azúcares reductores (%)		
Inicial (1)	0,20	0,20	0,20
Final (2)	0,16	0,07	0,10
Nitrógeno total	Contenido de nitrógeno total (%)		
	Inicial (1)	1,88	1,88
Final (2)	0,87	0,97	1,49

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

4.8.1.4 INIAP Natividad

En base a los resultados del contenido de acrilamida determinado para esta variedad de papa, se estableció que los valores del analito se encuentran bajo el límite de detección para los procesos de fritura convencional tanto en el tratamiento óptimo (T3), como en el de sobrefritura y en el proceso de fritura al vacío (T4), lo que indica que, en caso de existir acrilamida en estos tratamientos, no es detectable en el equipo mediante la aplicación de la metodología seleccionada para su análisis.

Los resultados del análisis de los precursores contenido de nitrógeno total y contenido de azúcares reductores se presentan en la Tabla 38.

Tabla 38.- Contenido de nitrógeno total y azúcares reductores de la variedad INIAP Natividad antes y después de los diferentes procesos de fritura

Azúcares reductores	Trata- miento 3	Trata- miento 4	Fritura al vacío
	Contenido de azúcares reductores (%)		
Inicial (1)	0,22	0,22	0,22
Final (2)	0,11	0,08	0,09
Nitrógeno total	Contenido de nitrógeno total (%)		
Inicial (1)	1,60	1,60	1,60
Final (2)	0,95	0,99	0,93

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

4.8.1.5 Rubí

En base a los resultados del contenido de acrilamida determinado para esta variedad de papa se estableció que los valores del analito se encuentran bajo el límite de detección para los procesos de fritura convencional en el tratamiento óptimo (T1) y para fritura al vacío, lo que indica que, en caso de existir acrilamida en estos tratamientos, no es detectable en el equipo mediante la aplicación de la metodología seleccionada para su análisis. Mientras que para el proceso de fritura convencional tratamiento de sobrefritura (T4) se encontró un valor de 1683,93 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de acrilamida en esta variedad. Los resultados del análisis de los precursores contenido de nitrógeno total y contenido de azúcares reductores se presentan en la Tabla 39.

Tabla 39.- Contenido de nitrógeno total y azúcares reductores de la variedad Rubí antes y después de los diferentes procesos de fritura

Azúcares reductores	Trata- miento 1	Trata- miento 4	Fritura al vacío
	Contenido de azúcares reductores (%)		
Inicial (1)	0,23	0,23	0,23
Final (2)	0,08	0,10	0,16
Nitrógeno total	Contenido de nitrógeno total (%)		
Inicial (1)	2,23	2,23	2,23
Final (2)	1,16	1,18	1,90

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

4.8.1.6 Variedad Superchola

En base a los resultados del contenido de acrilamida determinado para esta variedad de papa, se estableció que los valores del analito se encuentran bajo el límite de detección para los procesos de fritura convencional tanto en el tratamiento óptimo (T1), como en sobrefritura (T4) y fritura al vacío, lo que establece que, en caso de existir acrilamida en estos tratamientos, no es detectable en el equipo mediante la aplicación de la metodología seleccionada para su análisis. Los resultados del análisis de los precursores contenido de nitrógeno total y contenido de azúcares reductores se presentan en la Tabla 40.

Tabla 40.- Contenido de nitrógeno total y azúcares reductores de la variedad Superchola antes y después de los diferentes procesos de fritura

Azúcares reductores	Trata- miento 1	Trata- miento 4	Fritura al vacío
	Contenido de azúcares reductores (%)		
Inicial (1)	0,23	0,23	0,23
Final (2)	0,14	0,09	0,17
Nitrógeno total	Contenido de nitrógeno total (%)		
Inicial (1)	1,84	1,84	1,84
Final (2)	1,11	1,20	0,79

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

4.8.1.7 Variedad Victoria

En base a los resultados del contenido de acrilamida determinado para esta variedad de papa, se estableció que los valores del analito se encuentran bajo el límite de detección para los procesos de fritura convencional en el tratamiento óptimo (T1) y fritura al vacío, lo que establece que, en caso de existir acrilamida en estos tratamientos, no es detectable en el equipo mediante la aplicación de la metodología seleccionada para su análisis. Mientras que para el proceso de fritura convencional tratamiento de sobrefritura (T4) se encontró un valor de 859,55 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de acrilamida en esta variedad.

Los resultados del análisis de los precursores contenido de nitrógeno total y contenido de azúcares reductores se presentan en la Tabla 41.

Tabla 41.- Contenido de nitrógeno total y azúcares reductores de la variedad INIAP Victoria antes y después de los diferentes procesos de fritura

Azúcares reductores	Trata- miento 1	Trata- miento 4	Fritura al vacío
	Contenido de azúcares reductores (%)		
Inicial (1)	0,26	0,26	0,26
Final (2)	0,14	0,17	0,16
Nitrógeno total	Contenido de nitrógeno total (%)		
Inicial (1)	2,07	2,07	2,07
Final (2)	1,07	1,15	1,35

Elaborado por: Gabriela Alexandra Zurita Sorrosa, 2017

Finalmente, debido a que la contaminación de acrilamida no se logró determinar cuantitativamente en todos los tratamientos escogidos de las diferentes variedades de papa estudiadas, se decidió usar para el análisis de correlación multivariante únicamente los resultados referentes a las variedades y tratamientos en donde fue evidente y se obtuvo un valor cuantitativo de la contaminación por acrilamida.

Para llevar a cabo el análisis de correlación y con la finalidad de dar cumplimiento al tercer objetivo específico se realizó un análisis de regresión multivariante entre el contenido de acrilamida y las variables que inciden en su formación (azúcares reductores y nitrógeno total), para lo cual se tomó como variables independientes los valores relativos a la diferencia entre el contenido final e inicial, tanto de azúcares reductores (%) como los de nitrógeno total (%) y como variable dependiente el contenido de acrilamida generado ($\mu\text{g}/\text{kg}$).

Los datos correspondientes para el análisis de correlación de acrilamida se presentan en la Tabla 42.

Tabla 42.- Variables empleadas en el análisis de correlación multivariante que influyen en la formación de acrilamida en condiciones de fritura convencional y al vacío

	Azúcares reductores consumidos (%)	Nitrógeno total consumido (%)	Contenido de acrilamida (µg/kg)
Diacol Capiro T4	0,14	1,06	2412,60
INIAP Josefina T4	0,11	0,82	1107,20
INIAP Libertad T4	0,13	0,90	1114,89
INIAP Libertad FV	0,10	0,39	586,02
Rubí T4	0,12	1,05	1683,93
INIAP Victoria T4	0,10	0,92	859,55

T4: fritura convencional a 188 °C/188 seg; FV: fritura al vacío a 125 °C/11,25 kPa/6 min

Estos resultados se pueden justificar en relación al estudio de Stadler et al. (2002) que menciona que el calentamiento de cantidades equimolares de asparagina y glucosa a 180 °C por 30 minutos produce 368 µmol de acrilamida por mol de asparagina.

Utilizando los resultados de la Tabla 42, se realizó el análisis de regresión multivariante, con el que se evaluó la correlación existente entre las variables independientes y se desarrolló el modelo matemático que define la predicción del contenido de acrilamida en chips de papa frita en función del contenido de azúcares reductores y nitrógeno total consumido durante el proceso de fritura.

A continuación, se presenta la ecuación que relaciona las variables implicadas en el estudio (Ecuación 22)

$$Acr = -2536,56 + 0,707AZT + 0,262N \quad \text{Ec. 22}$$

A continuación, se determinó el coeficiente de determinación (R^2) siendo 0,82, y el coeficiente de correlación (r), cuyo valor fue de 0,91 el cual indica que el 82 % de la variabilidad de los datos del contenido de acrilamida es explicada por el modelo de regresión calculado. En la Figura 41 se puede apreciar la ecuación de ajuste de los valores observados frente a los predichos.

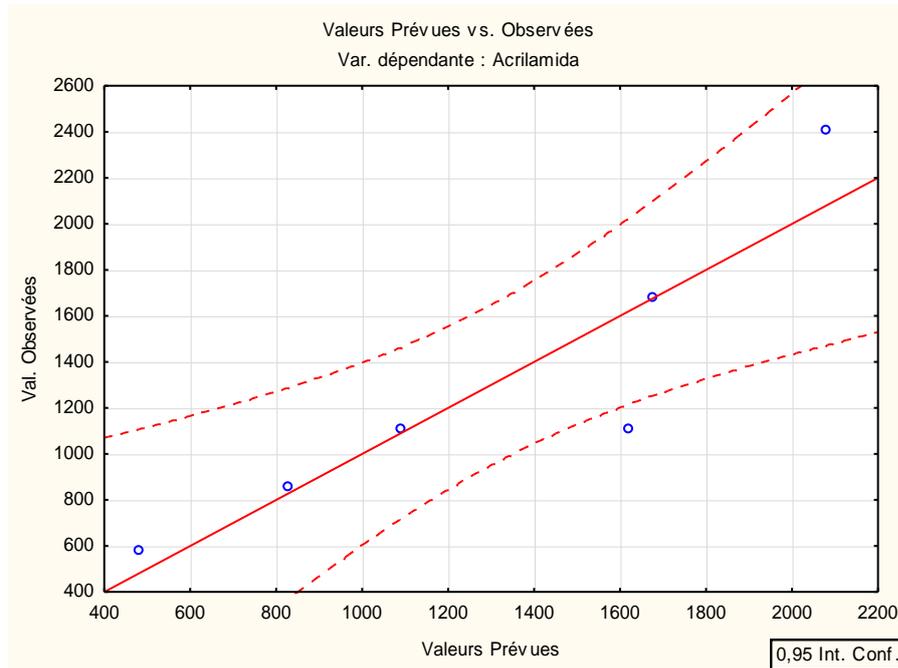


Figura 41. Correlación entre los valores de acrilamida observada y predicha a partir del contenido de azúcares reductores y nitrógeno total consumido durante el proceso de fritura de las papas estudiadas. Valores en µg/kg

Con la finalidad de alcanzar un coeficiente de correlación superior, que permita garantizar una mayor correlación entre las variables estudiadas, evaluando el efecto del error experimental mediante un análisis de residuos entre los valores observados (obtenidos experimentalmente en el laboratorio) y los valores predichos (estimados según la Ecuación 22), se decidió eliminar el dato referente a la variedad Rubí T4, que era el que se encontraba fuera de la homogeneidad del conjunto de datos.

Los resultados del análisis de regresión multivariante utilizando los mismos datos excepto los referentes a la variedad Rubí T4, permitieron obtener un mejor ajuste de los datos (Figura 42), cuya ecuación de predicción del contenido de acrilamida (µg/kg) en función del contenido de azúcares reductores y nitrógeno total consumido durante el proceso de fritura se presenta en la Ecuación 23, cuyos coeficiente de determinación y correlación fueron de 0,99 y 0,98 respectivamente, estableciéndose así que la ecuación desarrollada permite explicar el 98% de los datos en función de las variables estudiadas.

$$Acr = -3104,80 + 0,868AzR + 0,167NT$$

Ec. 23

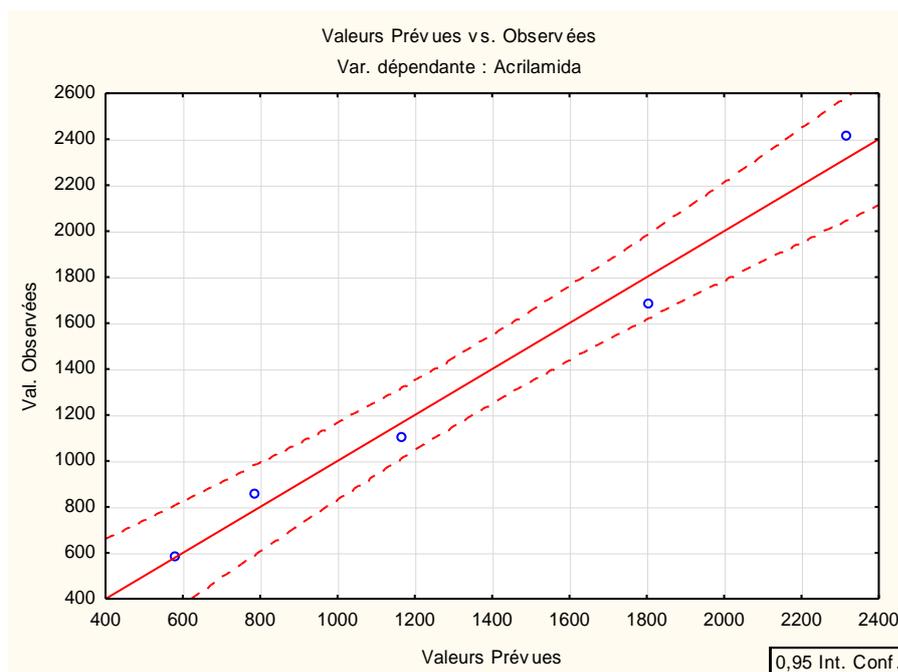


Figura 42.- Correlación entre los valores de acrilamida observada y predicha a partir del contenido de azúcares reductores y nitrógeno total consumido durante el proceso de fritura de las papas estudiadas. Valores en $\mu\text{g}/\text{kg}$

4.9 Verificación de hipótesis

Los resultados obtenidos a un nivel de confianza del 95% arrojaron que existe influencia significativa en relación a las variables de estudio, aceptando así la “hipótesis alternativa”, que explica que “los contenidos de azúcares reductores y nitrógeno total consumidos durante los procesos de fritura convencional y al vacío, influyen significativamente sobre la producción y/o generación de acrilamida en los chips de las 7 variedades de papa en estudio”.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- El método de determinación de acrilamida desarrollado tiene unos límites de detección y cuantificación de 1,530 y 5,101 $\mu\text{g}/\text{kg}$ para la curva estándar y de 316,12 y 635,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ que le permite ser empleado para el control de dicho contaminante de acuerdo a las recomendaciones de la UE para papas fritas tipo chip, además de otros alimentos afectados por esta problemática.
- Las condiciones de procesamiento de fritura convencional óptimas para cada variedad de papa fueron 175 °C y 165 segundos para las variedades Diacol Capiro, Rubí, Superchola e INIAP Victoria, 162 °C y 188 segundos para las variedades Josefina y Natividad y 175 °C y 120 segundos para la variedad INIAP Libertad.
- Las condiciones más propicias para la generación de acrilamida se produjeron al emplear condiciones de 188 °C y 188 segundos durante la fritura de las variedades de papas estudiadas.
- La contaminación por acrilamida generada durante los procesos de fritura convencional y al vacío, se ve altamente influenciada por el contenido de azúcares reductores y nitrógeno total de la papa y las condiciones de tiempo y temperatura establecidas en cada proceso de fritura, lo que sugiere la necesidad de llevar a cabo estudios pormenorizados para cada variedad.
- Las variedades INIAP-Natividad y Superchola resultaron ser idóneas para fritura convencional ya que no se detectó producción de acrilamida en dichas condiciones de procesamiento.
- El proceso de fritura al vacío redujo la producción de acrilamida respecto a la fritura convencional, no llegándose a superar el límite de detección en las

variedades de papa estudiadas, salvo en el caso de la variedad INIAP-Libertad.

5.2 Recomendaciones

- Se recomienda emplear las variedades INIAP-Natividad y Superchola para la elaboración de chips fritos, desaconsejando para ello el uso de la variedad INIAP-Libertad.
- Para reducir el contenido de acrilamida en la elaboración de chips de papa frita, se recomienda la fritura a vacío ya que permite el empleo de un número más amplio de variedades como fuente de materia prima, así como reducir la temperatura y, por tanto, el costo del proceso.
- Se recomienda continuar mejorando la técnica de detección de acrilamida mediante el uso de un equipo con mayor sensibilidad (P. ej. HPLC acoplado a espectrometría de masas) para poder alcanzar los límites de detección recomendados por la UE para alimentos infantiles y ciertos alimentos de alto nivel de consumo (pan de molde y cereales para desayuno).
- Se recomienda realizar un trabajo más a fondo, basado en el contenido de acrilamida en alimentos de consumo diario, realizando una investigación en los lugares donde se expende comida rápida (papas fritas), con la finalidad de obtener datos más reales sobre el tipo de alimentos que se consumen en diferentes lugares del Ecuador.

CAPÍTULO VI

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Addis, P. y Warner, G. (1991). The potential health aspects of lipid oxidation products in food. *Free radicals and food additives*, 77-119.
- Aguilera Tapia, M. y Salazar, C. G. (1998). Estudio de seis clones promisorios de papa con características agroindustriales requeridas por Frito-Lay: Ingeniera Agroindustrial, Carrera de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Técnica de Cotopaxi, Latacunga, Ecuador.
- American Cyanamid, C. y Process Chemicals, D. (1969). *Chemistry of Acrylamide*. New Jersey: American Cyanamid Co.
- Andrade, H. (1997). Requerimientos cualitativos para la industrialización de la papa *Boletín plagable N°9* (Vol. 9). Quito, Ecuador: INIAP.
- Andrade, H. (1998). Variedades de papa cultivadas en el Ecuador. In B. Hardy y H. Andrade (Eds.). Quito, Ecuador: INIAP.
- Andrade, H., Bastidas, O. y Sherwood, S. (2002). La papa en Ecuador. En M. Pumisacho y S. Sherwood (Eds.), *El cultivo de la papa en Ecuador* (Vol. 50, pp. 21-28). Quito-Ecuador.
- AOAC. (1997). Official Methods of Analysis (Vol. 934.06). Virginia Association of Official Analytical Chemists.
- Bologna, L. S., Andrawes, F. F., Barvenik, F. W., Lentz, R. D. y Sojka, R. E. (1999). Analysis of residual acrylamide in field crops. *Journal of Chromatographic Science*, 37(7), 240-244.
- Borruey, A., Cotrina, F. y Mula, J. (1999). Calidad Industrial y Culinaria de las variedades de patata *Informaciones Técnicas del Departamento de Agricultura y Medio Ambiente de la D.G.A.* (pp. 1-12). Madrid, España: Gobierno de Aragón Departamento de Agricultura y Medio Ambiente.
- Bouchon, P. (2008). *Manual del procesado de los alimentos*. España.
- Bravo, J. E. (2008). *Contribucion al estudio de la fritura al vacío: Deshidratacion de rodajas de manzana*. (Tesis de Doctorado), Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España.
- Castle, L. (1993). Determination of acrylamide monomer in mushrooms grown on polyacrylamide gel. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(8), 1261-1263. doi: 10.1021/jf00032a019
- Cecchini, H. (2000). Influencias del Manejo de Producción sobre la calidad de calidad de la papa para la fabricación de "Chips" (pp. 1-46). Zollikofen-Suiza: Escuela Universitaria Suiza de Agronomía.

- Claeys, W. L., De Vleeschouwer, K. y Hendrickx, M. E. (2005). Quantifying the formation of carcinogens during food processing: Acrylamide. *Trends in Food Science and Technology*, 16(5), 181-193. doi: 10.1016/j.tifs. 2005.01.005
- Codex Alimentarius. (2009). Anteproyecto de revisión de las directrices para estimar la incertidumbre de los resultados para la determinación de los residuos de plaguicidas CAC/GL 59-2206: Comisión del Codex Alimentarius CAC/GL.
- Contreras, A. y Krusch, M. (2001). *La papa en su mesa: Calidad y usos*. Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- Cronin, D. A. y Smith, S. A. (1979). Simple and rapid procedure for the analysis of reducing, total and individual sugars in potatoes (pp. 99-105): Potato Research.
- Crosa, M. J., Elichalt, M., Skerl, V., Cadenazzi, M., Olazábal, L., Silva, R., Suburú, G., Torres, M., Vilaró, F. y Estellano, G. (2014). Chips de papa, la fritura en vacío y beneficios para la salud. (Spanish). *Potatoes chips, vacuum frying and health profits. (English)*(9), 70-74.
- Cuesta, X., Castillo, C. y Monteros, C. (2005). Biodiversidad de las papas nativas. En C. Monteros, X. Cuesta, J. Jiménez y G. López (Eds.), *Las papas nativas en Ecuador* (pp. 9-10). Quito, Ecuador.
- Cuesta, X., Oyarzún, P., Andrade-Piedra, J., Kromann, P., Taipe, A., Montesdeoca, F., Montesdeoca, L., Rivadeneira, J., Monteros, C., Comina, P., Carrera, E. y Reinoso, I. (2015). INIAP-Libertad *Nueva variedad de papa con resistencia a la lanchar, precocidad y calidad* (Vol. 421). Quito, Ecuador.
- Cuesta, X., Rivadeneira, J., Monteros, C., Montesdeoca, F., Unda, J., Carrera, E., Yumisaca, F., Reinoso, I. y Yáñez, E. (2011). INIAP-Victoria. Quito, Ecuador: INIAP.
- Cuesta, X., Rivadeneira, J., Monteros, C., Yumisaca, F., Carrera, E. y Reinoso, I. (2015). INIAP-Josefina *Nueva variedad de papa con tolerancia a la sequía*: Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias.
- Cuesta, X., Rivadeneira, J., Reinoso, I. y Monar, C. (2011). INIAP-Natividad *Nueva variedad de papa con resistencia a la lanchar (Phytophthora infestans) para la Sierra Centro-Norte*. Quito, Ecuador: INIAP.
- Dale, M. y Mackay, G. (1994). Inheritance of table and processing quality.
- De Vleeschouwer, K., Van der Plancken, I., Van Loey, A. y Hendrickx, M. (2009). Role of precursors on the kinetics of acrylamide formation and elimination under low moisture conditions using a multiresponse approach-Part I: Effect of the type of sugar. *Food Chemistry*, 114, 116-126.
- Devaux, A., Ordinola, M., Hibon, A., Blajos, J. y Flores, R. (2010). Diagnóstico y análisis del sector papa en Ecuador. En Departamento de Comunicación y Difusión (CPAD) (Ed.), *El sector papa en la región andina Diagnóstico y elementos para una visión estratégica (Bolivia, Ecuador y Perú)* (pp. 197-269).

Lima-Perú.

- Dobarganes, C., Márquez-Ruiz, G. y Velasco, J. (2000). Interactions between fat and food during deep-frying. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 102(8-9), 521-528. doi: 10.1002/1438-9312(200009)102:8/9<521::AID-EJLT521>3.0.CO;2-A
- EFSA. (2009). Results on the monitoring of acrylamide levels in food (Vol. 7, pp. 1-26). Parma, Italy: European Food Safety Authority (EFSA)
- El Universo. (2004). El padre de la súper chola, un autodidacta. <http://www.eluniverso.com/2004/06/06/0001/1064/52DD32B8F84E48BF89A996BB250B8110.html>
- EPA, S. (1996). Method 8032A. Washington DC: U.S. Environmental Protection Agency.
- Erdreich, L. S. y Friedman, M. A. (2004). Epidemiologic evidence for assessing the carcinogenicity of acrylamide, *Regulatory Toxicology and Pharmacology* pp. 150-157.
- Eriksson, S. (2005). *Acrylamide in food products: Identification, formation and analytical methodology*. (Doctoral), Stockholm University, Stockholm.
- ESPAC. (2014). Encuesta e Superficie y Producción Agropecuaria Continua ESPAC.
- Esterbauer, H. (1993). Cytotoxicity and genotoxicity of lipid-oxidation products. *The American journal of clinical nutrition*, 57(5), 779S-785S.
- Fadwa, A.-T. (2012). Analysis of Acrylamide in French Fries using Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC kit and LC/MS/MS *Food Application*. USA: Agilent Technologies.
- FAO. (2014). Perspectivas de cosechas y situación alimentaria (Vol. 4). Roma-Italia: FAO.
- Fellows, P. J. (2000). *Food Processing Technology-Principles and Practice* (S. Edition Ed.). USA: Woodhead Publishing Limited
- Fillion, L. y Henry, C. J. K. (1998). Nutrient losses and gains during frying: a review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 49(2), 157-168. doi: 10.3109/09637489809089395
- Gravouelle, J. M. (1996). Utilización [de la patata] en la alimentación humana (E. M.-P. J. M. Mateo Box (versión española, Trans.). En R. Y. Rousselle P., Crosnier J. C. (Ed.), *La Patata*. Paris: INRA.
- Grison, C., Gravouelle, J. M. y Grolier, N. (1987). La pomme de terre, un produit de 4e gamme? *La Pomme de Terre Française*, 441(169-174).

- Habermann, C. E. (1991). Acrylamide. In J. J. Kroschwitz, M. Howe-Grant y E. Kirk-Othm (Eds.), *Encyclopedia of Chemical Technology* (4 ed., Vol. 1, pp. 251-266). New York.
- Harris, L. E. (1970). Compilación de datos analíticos y biológicos en la preparación de cuadros de composición de alimentos para uso en los trópicos de América Latina. In U. d. Florida (Ed.). Washington, D. C.
- Hernández, L. G. (2007). *Implementación de una tecnología analítica para la cuantificación de acrilamida en papas chips por HPLC MS/MS*. (Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas), Universidad de Chile, Santiago de Chile.
- Huáman, Z., A., G. y Amoros, W. (1997). The Potato. En D. Fucillo, L. Sears y P. Stapleton (Eds.), *Biodiversity in Trust. Conservation and Use of Plant Genetic Resources in CGIAR Centres* (pp. 21-28). New York, USA: Cambridge University Press.
- IARC. (1994). IARC monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans *Some Industrial Chemicals* (Vol. 60, pp. 389-433). Lyon-France: International Agency for Research on Cancer 1994.
- Jácome, P. (2008). *Estudio de Mercado de papa prefrita en las ciudades de Quito y Ambato 2007*. (Tesis de Ingeniería), Universidad Centra del Ecuador, Quito, Ecuador.
- Knol, J. J. (2008). *Kinetic Modeling of Acrylamide Formation in Aqueous Reaction Systems and Potato Crisps*. (PhD thesis), Wageningen University, Netherlands.
- Konings, E. J. M., Baars, A. J., van Klaveren, J. D., Spanjer, M. C., Rensen, P. M., Hiemstra, M., van Kooij, J. A. y Peters, P. W. J. (2003). Acrylamide exposure from foods of the Dutch population and an assessment of the consequent risks. *Food and Chemical Toxicology*, 41(11), 1569-1579. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0278-6915\(03\)00187-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0278-6915(03)00187-X)
- Koutsidis, G., Simons, S. P. J., H., T. Y., Haldoupis, Y., Mojica-Lazaro, J., Wedzicha, B. L. y Mottram, D. S. (2009). Investigations on the effect of amino acids on acrylamide, pyrazines, and Michael addition products in model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 9011-9015.
- Lingnert, H., Grivas, S., Jägerstad, M., Skog, K., Törnqvist, M. y Åman, P. (2002). ACRYLAMIDE IN FOOD-Mechanisms of formation and influencing factors during heating of foods. *Scandinavian Journal of Nutrition*, 46, 159-172.
- MAFF (1975). Energy allowances and Feeding Systems for Ruminants *Technical Bulletin n° 33*. Londres (R.U.): UK Ministry of Agriculture, Fisheries and Food.
- MAGAP. (2013). El cultivo de la papa en Ecuador y planes de mejora (pp. 1-11). Quito-Ecuador: Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca.
- Medeiros Vinci, R., Mestdagh, F. y De Meulenaer, B. (2012). Acrylamide formation

in fried potato products – Present and future, a critical review on mitigation strategies. *Food Chemistry*, 133(4), 1138-1154. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.001>

- 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(3), 1153-1159. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.025>
- Miller, G. L. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar *Anal. Chem.* (pp. 426-428).
- Monteros Guerrero, A. (2016). Rendimientos para papa en Ecuador Segundo Ciclo 2015 (junio-noviembre) (pp. 1-8). Quito, Ecuador: MAGAP.
- Moreira, R. G. (2001). Deep-Fat Frying of Foods. En J. Irudayaraj (Ed.), *Food Processing Operations Modeling-Desing and Analysis*. New York-Basel.
- Moreno, J. D. (2000a). Calidad de la papa para usos industriales. *Revista Papas Colombianas 2000*, 44-47.
- Moreno, J. D. (2000b). Variedades de papa cultivadas en Colombia. En C. Herrera y L. Fierro (Eds.), *Manejo integrado del cultivo papa Manual Técnico* (pp. 51-53): Corporacion Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).
- Mottram, D. S., Wedzicha, B. L. y Dodson, A. T. (2002). Food chemistry: Acrylamide is formed in the Maillard reaction. *Nature*, 419(6906), 448-449.
- Muñoz, C. (2015). *Mitigación de la formación de acrilamida en hojuelas de papas mediante el uso de fritura al vacío*. (Ingeniería), Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago Chile.
- NFSA. (2002). Risk assessment of acrylamide intake from foods with special emphasis on cancer risk; Report from the Scientific Committee of the Norwegian Food Control Authority, 6 June 2002. Oslo, Norway.
- Norris, M. V. (1967). Acrylamide. In F. D. S. C. L. Hilton (Ed.), *Encyclopedia of industrial chemical analysis* (Vol. 4, pp. 160-168). New York, US.
- Ñustez, C. (2010). Variedades Colombianas de Papa *Grupo de Investigación en papa*. Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia-Sede Bogotá.
- OMS. (2002). Consecuencias para la Salud de Acrilamida en los Alimentos: informe de la consulta de FAO/OMS. Ginebra, Suiza: FAO/OMS.
- Oviedo, A. (2005). *Estudio de las características físico-químicas en clones promisorios de papa*. Pontifica Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.
- Parkash Kochhar, S. y Gertz, C. (2004). New theoretical and practical aspects of the frying process. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106(11),

722-727. doi: 10.1002/ejlt.200400996

- Pumisacho, M. y Velásques, J. (2009). Manual del cultivo de papa para pequeños productores (pp. 98). Quito-Ecuador: INIAP. COSUDE.
- Rivera, C. y Rodríguez, M. R. (2010). Uso de la ecuación de Horwitz en Laboratorios de Ensayos NMX-EC-17025-IMC-2006. Chihuahua-México: Centro Nacional de Metrología.
- Rivera, J. E., Herrera, A. y Rodríguez, L. E. (2003). Procesamiento de papa criolla precocida y congelada mediante la técnica de congelación Individual (IQF), en seis genotipos promisorios de papa criolla (*Solanum phureja*). *Agronomía Colombiana*, 21(2357-3732), 95-101.
- Rodríguez, G. (2000). Almacenamiento de papa para consumo directo e industrial. *Manejo integrado del cultivo de la papa*.
- Romero, A., Bastida, S. y Sánchez-Muniz, F. J. (2006). Cyclic fatty acid monomer formation in domestic frying of frozen foods in sunflower oil and high oleic acid sunflower oil without oil replenishment. *Food and Chemical Toxicology*, 44(10), 1674-1681. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2006.05.003>
- Saguay, I. S. y Dana, D. (2003). Integrated approach to deep fat frying: engineering, nutrition, health and consumer aspects. *Journal of Food Engineering*, 56(2-3), 143-152. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0260-8774\(02\)00243-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0260-8774(02)00243-1)
- SCF. (2002). Opinion on new Findings Regarding the Presence of Acrylamide in Food: European Commission Scientific Committee on Food.
- Sharma, S. K., Mulvaney, S. J. y Rizvi, S. S. H. (2003). *Ingeniería de Alimentos: Operaciones Unitarias y Prácticas de Laboratorio*. México: Limusa Wiley.
- Shyu, S. y Hwang, L. (2001). Effects of processing conditions on the quality of vacuum-fried apple chips. *Journal of Food Research International*, 34, 133-142.
- Smith, E. A. y Oehme, F. W. (1991). Acrylamide and polyacrylamide: a review of production, use, environmental fate and neurotoxicity. *Rev Environ Health*, 9(4), 215-228.
- Stadler, R. H., Blank, I., Varga, N., Robert, F., Hau, J., A., G. P., Robert, M. y Riediker, S. (2002). Acrylamide from Maillard reaction products. *Nature*, 419, 449-450.
- Stadler, R. H., Robert, F., Riediker, S., Varga, N., Davidek, T., Devaud, S., Goldmann, T., Hau, J. y Blank, I. (2004). In-Depth Mechanistic Study on the Formation of Acrylamide and Other Vinylogous Compounds by the Maillard Reaction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 550-558.
- Sutaerna Hurtado, A. (2008). La fritura de los alimentos, pérdida y ganancia de los nutrientes en los alimentos fritos. *Perspectivas en Nutrición Humana*, 10, 77-88.

- Sutaerna Hurtado, A. (2009). La fritura de los alimentos: el aceite de fritura. *Perspectivas en Nutrición Humana*, 11, 39-53.
- 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. doi: 10.1021/jf020302f
- Tekeľ, J., Farkaš, P. y Kováč, M. (1989). Determination of acrylamide in sugar by capillary GLC with alkali flame-ionization detection. *Food Additives & Contaminants*, 6(3), 377-381.
- Tirado, D., Acevedo, D. y Guzmán, L. (2012). Freido por Inmersión de los Alimentos. *Revista ReCiTeLA*.
- Torres, L., Cuesta, X., Monteros, C. y Rivadeneira, J. (2011). Variedades mejoradas. Quito, Ecuador.
- Recomendación de la comisión de 8 de noviembre de 2013 relativa a la investigación de los niveles de acrilamida en los alimentos (Texto pertinente a efectos del EEE) (2013/647/UE) (2013).
- Untuña, P. (2013). *Estudio del efecto de la fritura al vacío sobre los atributos de calidad de chips de papa nativa*. (Tesis de Ingeniería), Unirsidad Tecnología Equinoccial, Quito.
- Valenzuela, R. y Ronco, A. M. (2007). Acrilamida en los alimentos. *Revista chilena de nutrición*, 34, 8-16.
- Varela Mosquera, G., Bender, A. E. y Morton, I. D. (1988). *Frying of food : principles, changes, new approaches*. Weinheim, Federal Republic of Germany; Chichester, England; New York, NY, USA: VCH ; E. Horwood ; Distribution, USA and Canada, VCH Publishers.

ANEXO 1

PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACION DE ACRILAMIDA

El método seleccionado está basado en la utilización de los principios QuEChERS (acrónimo inglés de Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe, rápido, fácil, económico, eficaz, sólido y seguro), proceso que se desarrolló en dos fases: la primera consiste en la extracción de la acrilamida en fase sólida por dispersión y la segunda en la limpieza y purificación del analito. Posteriormente los extractos purificados se analizaron en un sistema HPLC, utilizando para la separación una columna NUCLEOSHELL HILIC de 50 x 4 mm. y tamaño de partícula de 2,7µm.

La cuantificación se realizó mediante comparación de áreas de las muestras sobre una curva de calibración realizada con un estándar de Acrilamida de pureza > 99 % (Sigma A3553)

A. PREPARACIÓN DE REACTIVOS

- QuEChERS 1: Pesar 4gr de MgSO₄ y 0,5gr de NaCl
- QuEChERS 2: Pesar 150mg de MgSO₄, 50mgr de Columnas SPE para purificación y 150 mg de PSA
- Solución de Extracción: Acetonitrilo grado HPLC pureza 99,9%.
- Solución fase móvil. Acetonitrilo 100% v/v.

B. MOLIENDA Y PESAJE DE LA MUESTRA

- a) Moler 100gr. de muestra de chips de papa en el molino de café, hasta obtener un tamaño de partículas de 1mm.
- b) Colocar la muestra en un frasco de plástico hermético de 250 mL, con número de identificación.
- c) Pesar 1 gramo de muestra previamente homogenizada en un tubo de ensayo de borosilicato con tapa rosca de 16 mL.
- d) Adicionar el QuEChERS 1
- e) Llevar el tubo de ensayo con la muestra hacia el lugar de extracción.

C. EXTRACCIÓN DE LA MUESTRA

- a) Adicionar 5 mL de Hexano grado HPLC y 10 mL de Acetonitrilo grado HPLC a cada tubo.
- b) Agitar el tubo en vortex, a alta velocidad por 15 minutos.
- c) Agitar en un baño ultrasonido durante 5 minutos.
- d) Centrifugar el contenido del tubo durante 15 minutos a 3500 rpm
- e) Separar la fase superior (hexano) utilizando una pipeta Pasteur.
- f) Separar la fase inferior (acetonitrilo) de la parte sólida, con la ayuda de una pipeta Pasteur y colocar en un tubo de vidrio de punta cónica de 15 mL.
- g) Concentrar la muestra a sequedad en un baño maría a temperatura de 40°C, con corriente de nitrógeno.

D. PURIFICACIÓN DE LA MUESTRA.

- a) Redissolver el extracto con 1 mL de acetonitrilo grado HPLC
- b) Adicionar el QuEChERS 2 y agitar en vortex durante 5 minutos
- c) Agitar el tubo en Ultrasonido durante 5 minutos.
- d) Centrifugar las muestras por 5 minutos a 3500rpm.
- e) Adaptar una jeringa de polipropileno de 5 mL a una Membrana HV (Durapore) EM PVDF, de 0,22 μm de poro.
- f) Transferir cuantitativamente el contenido de la muestra a la jeringa, y aplicar presión por medio del embolo.
- g) Colocar el extracto purificado en un vial, tapar y llevar al equipo HPLC para su análisis.

E. CUANTIFICACIÓN POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC) ACOPLADA A DETECTOR DE ARREGLO DE DIODOS (DAD)

Inyectar 15 μL en el HPLC (Agilent 1200) bajo las siguientes condiciones:

- Columna: NUCLEOSHELL[®] HILIC (50 x 4 mm), tamaño de partícula de 2,7 μm
- Temperatura de Columna: 35 °C
- Detector DAD: Longitud de Onda de 200 nm
- Fase móvil: Acetonitrilo (100% v/v)
- Flujo: 0,7mL /minuto

F. CÁLCULOS Y EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

La cuantificación se realiza utilizando una curva de calibración realizada previamente en el equipo y utilizando la siguiente fórmula:

Ec.2.1

$$\text{Acrilamida} \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}} \right) = \left(\frac{ABC}{D} \right)$$

Dónde:

A = lectura de la concentración en la curva de calibración ($\mu\text{g}/\text{mL}$)

B = volumen total de extracto (mL)

C= factor de transformación de unidades (1000)

D = peso de muestra (g)

ANEXO 2

CURVA DE CALIBRACION PARA DETERMINACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES MEDIANTE MÉTODO DE ACIDO PÍCRICO

Tabla 43.- Concentraciones empleadas para la curva de calibración de azúcares reductores método de ácido pícrico

Concentración (mg/ml)	Absorbancia
0	0
0,1	0,075
0,2	0,209
0,3	0,382
0,6	0,72
0,8	0,919
1	1,1

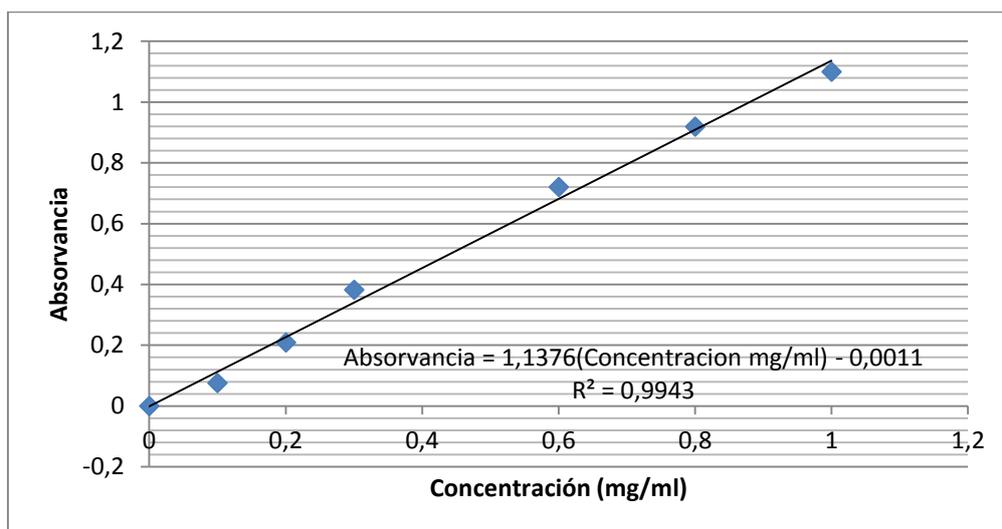


Figura 43.- Curva de calibración de azúcares reductores, método de ácido pícrico.

ANEXO 3

CURVA DE CALIBRACION PARA DETERMINACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES MEDIANTE MÉTODO DE DNS

Tabla 44.- Concentraciones empleadas para la curva de calibración de azúcares reductores método de DNS

Concentración (mg/L)	Absorbancia
0	0
5	0,176
10	0,41
15	0,69
20	0,932

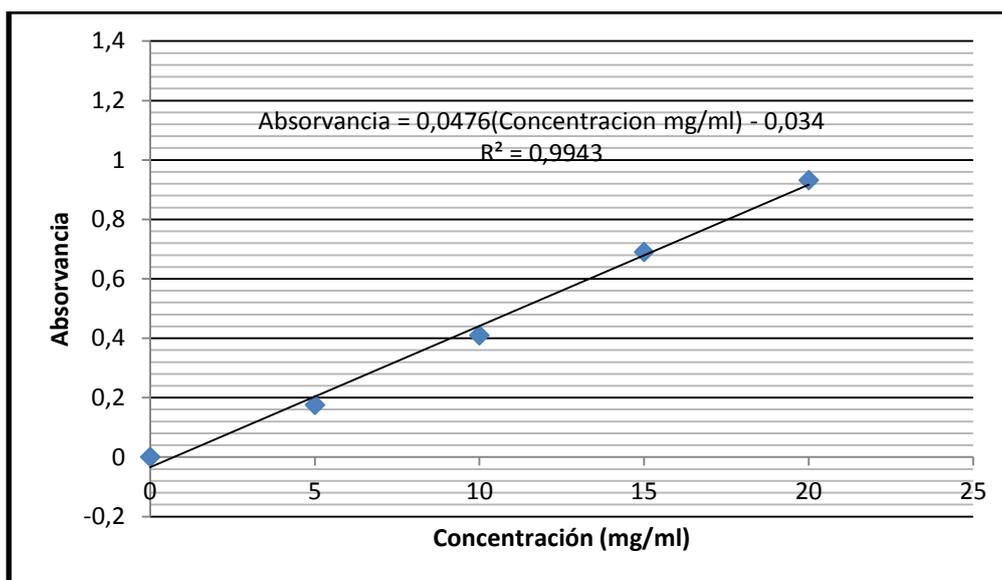


Figura 44.- Curva de calibración de azúcares reductores, método DNS.