

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA



FUNCIONALIDAD DEL QUITOSANO PARA REDUCIR LA FORMACIÓN DE ACRILAMIDA EN SISTEMAS MODELO

MÁSTER EN GESTIÓN Y SEGURIDAD ALIMENTARIA

Realizado por: Miriam Gimeno Herreros

Directora: Dra. Ana M^a Andrés Grau

Codirectora: Dra. Ana Belén Heredia Gutiérrez

Directora experimental: Mariola Sansano Tomás

Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo

FUNCIONALIDAD DEL QUITOSANO PARA REDUCIR LA FORMACIÓN DE ACRILAMIDA EN SISTEMAS MODELO

Miriam Gimeno, Mariola Sansano, Ana Belén Heredia, Ana María Andrés.

Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Universitat Politècnica de València, C.P. 46022, Valencia

RESUMEN: A lo largo de los últimos años se han detectado contenidos altos de acrilamida, una sustancia potencialmente cancerígena, en una amplia gama de productos fritos y horneados. Por esta razón, las autoridades sanitarias recomiendan el desarrollo de estrategias orientadas a minimizar el contenido de acrilamida en alimentos. En este sentido, la utilización de quitosano podría resultar una alternativa óptima para alcanzar este objetivo en aquellos productos o procesos en los que pueda ser incluido, debido a que los grupos amino presentes en esta molécula interferirían en la reacción de Maillard que desencadena la formación de acrilamida. El objetivo principal de este trabajo fue evaluar, en sistemas modelo, el potencial del quitosano como nueva herramienta en la mitigación de la generación de acrilamida en procesos de fritura. Asimismo se evaluó la influencia del pH del medio, del tipo de azúcar o azúcares reductores (glucosa y fructosa) presentes en el sistema y la temperatura de fritura. Los resultados evidenciaron que el quitosano es capaz de inhibir la formación de acrilamida en sistemas modelo sometidos a temperaturas de fritura. Así es que se consiguió disminuir hasta un 70% y un 86% al utilizar quitosano al 0.5 y 1% respectivamente (con respecto a las muestras control), dependiendo de la temperatura de proceso y del tipo de azúcares presentes en el sistema estudiado.

PALABRAS CLAVE: Acrilamida, quitosano, azúcares reductores, sistemas modelo

RESUM: Al llarg dels últims anys s'han detectat continguts alts d'acrilamida, una substància potencialment cancerígena, en una àmplia gamma de productes fregits i fornejats. Per aquesta raó, les autoritats sanitàries recomanen el desenvolupament d'estratègies orientades a minimitzar el contingut d'acrilamida en aliments. En aquest sentit, la utilització de quitosà podria resultar una alternativa òptima per aconseguir aquest objectiu en aquells productes o processos en els que pugua ser inclòs, ja que seua riquesa en grups amino interferirien en la reacció de Maillard que desencadena la formació d'acrilamida. L'objectiu principal d'aquest treball va ser analitzar en sistemes model, la incorporació de diferents concentracions de quitosà com una nova eina en la mitigació de la generació d'acrilamida en el procés de fregit, així com avaluar la influència del pH, del sucre o sucres reductors (glucosa i fructosa) presents en el sistema i la temperatura de fregit. . Els

resultats van evidenciar que el quitosà és capaç d'inhibir la formació d'acrilamida en sistemes models sotmesos a temperatures de fregit. Així és que es va aconseguir disminuir fins a un 70% i un 86% a l'utilitzar quitosà al 0.5 i 1% respectivament (respecte a les mostres control), depenent de la temperatura a què es va sotmetre i al tipus de sucres presents en el sistema estudiat.

PARAULES CLAU: Acrilamida, quitosà, sucres reductors, sistemes model

ABSTRACT: Along recent years there have been high contents of acrylamide, a potentially carcinogenic substance, in a wide range of fried and baked foods. For this reason, the health authorities recommend carry out strategies to minimize the acrylamide contents in food. In this regard, the use of chitosan may be an excellent alternative for achieving this goal in those products or process that can be included, because its richness in amino groups would interfere with the Maillard reaction that unleashes the formation of acrylamide. The main aim of this study was to analyze in model systems, the addition of different concentrations of chitosan as a new tool in the mitigation of the generation of acrylamide during frying processes, as well as to evaluate the influence of the pH, the reducing sugars (glucose and fructose) present in the system and the frying temperature. The results showed that chitosan is capable to inhibit the acrylamide formation in model systems subjected to frying temperatures. So, it was achieved up to 70% and 86% reduction in acrylamide content when using 0.5 and 1% of chitosan respectively (compared to control systems), depending on the applied temperature and the type of reducing in the model system.

KEY WORDS: Acrylamide, chitosan, reducing sugars, model systems

INTRODUCCIÓN

La creciente preocupación actual de los consumidores por su salud ha desencadenado una demanda de productos alimenticios más saludables. En este sentido, las principales exigencias son alimentos con bajos contenidos en grasa, azúcar y sal, siendo a su vez creciente la preocupación por alimentos libres de potencialmente cancerígenos. La acrilamida (Figura 1) es un compuesto orgánico de tipo amida, de fórmula química $\text{CH}_2\text{CHCONH}_2$ y peso molecular 71.09 g/mol.

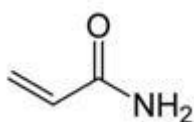


FIGURA 1. Estructura molecular de la acrilamida

En 1994, la IARC (International Agency of Research on Cancer) clasificó la acrilamida como compuesto potencialmente carcinógeno en humanos (Grupo 2A). La acrilamida es un producto derivado de las reacciones de Maillard, donde se generan además compuestos coloreados (melanoidinas) y aromáticos característicos de un producto frito u horneado. Este compuesto se forma por tanto, al someter los alimentos a temperaturas elevadas, generalmente superiores a 120 °C, y en condiciones de baja humedad (FAO/WHO, 2009). Los principales precursores de acrilamida son el aminoácido asparagina y los azúcares reductores (particularmente glucosa y fructosa) (FAO/WHO, 2006). Dada la toxicidad de este compuesto, la Unión Europea ha publicado en los últimos años recomendaciones para controlar el nivel de acrilamida en aquellos alimentos de los que se sabe que contienen altos niveles, o que contribuyen significativamente a la dieta diaria (2013/647/UE). Además, ha impulsado a los estados miembros, para que, junto con el sector industrial, sigan investigando con el fin de identificar en qué etapa de la producción y transformación de los alimentos se generan valores superiores de acrilamida a los establecidos en dichas recomendaciones y poder así reducirlos (CAC/RCP 67-2009). Se han desarrollado estrategias a nivel de prefritura, durante la fritura y después de la fritura, algunas de las cuales se enumeran a continuación:

- Prefritura:

- Escaldado: reducción de entre 60-80 % por lixiviación de los precursores (Pedreschi et al., 2004; Mestdagh et al., 2008)
- Asparaginasa: hidrólisis de parte de la asparagina disminuyendo su disponibilidad para reaccionar con azúcares reductores, manteniendo las características sensoriales del producto (Amrein et al., 2007; Pedreschi et al. 2007).
- Reducción del pH: fomento de la protonación del α -amino de la asparagina impidiendo la reacción con el grupo carbonilo de los azúcares reductores (Becalski et al., 2011; Jung et al., 2003).
- Utilización de aminoácidos como la glicina o glutamina: competición con la asparagina para reaccionar con los azúcares reductores (Tae Kim et al., 2005).
- Cationes mono y divalentes tales como, el Na^+ , K^+ ó Ca^{2+} : bloqueo de etapas intermedias de la reacción de Maillard (Gökmen y Senyuva, 2007).
- Fermentación ácido láctica con *Lactobacillus plantarum*: reducción del contenido en azúcares reductores disponibles sin influir en la percepción sensorial (Baardseth et al., 2006; Anese et al., 2009).
- Utilización de hidrocoloides: reducción de hasta el 60% utilizando determinados aditivos (Zeng et al., 2010).

- Proceso de fritura:

- Aplicación de temperaturas de fritura más bajas: requerimiento de mayores tiempos de cocción estimulando así la absorción de grasa (Foot et al., 2007; Vleeschouwer et al., 2006).

- Fritura a vacío: reducción hasta el 94% respecto a la fritura convencional (Granda et al., 2004; Garayo y Moreira, 2002).
 - Fritura por microondas: reducción del contenido en acrilamida (hasta el 87%) así como del tiempo de fritura (Sahin et al., 2007).
- Post-fritura:
 - Aplicación de vacío y temperatura moderada: reducciones de acrilamida de hasta el 48% en galletas y el 18% en patatas fritas (Anese et al. 2010).

Anteriormente ha sido mencionado el empleo de hidrocoloides como estrategia para la reducción de acrilamida. En este sentido, el quitosano, polisacárido derivado de la quitina, que se obtiene a partir de los exoesqueletos de los crustáceos (Figura 2), no ha sido previamente testado a pesar de las múltiples propiedades que presenta. Debido a la riqueza en grupos amino que forman parte de su estructura, podría impedir la formación de acrilamida, ya que el grupo amino competiría con la asparagina en su unión con el grupo carbonilo de los azúcares reductores (Lindsay y Jang, 2005). Este compuesto, que se obtiene por desacetilación de la quitina, proceso que involucra la eliminación parcial de los grupos acetilo de las cadenas poliméricas, presenta diversas propiedades en función del grado de desacetilación.

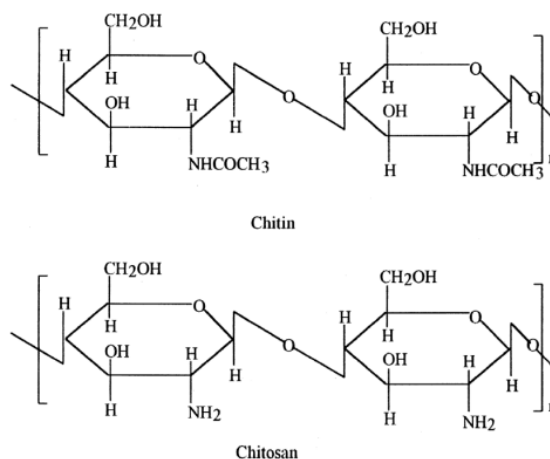


FIGURA 2. Estructuras de quitina y quitosano (Majeti y Kumar, 2000).

La funcionalidad del grupo amino da lugar a reacciones químicas tales como acetilación, cuaternización, reacciones con aldehídos y cetonas (para dar base de Schiff) de alquilación, la quelación de metales, para proporcionar una variedad de productos con propiedades tales como antibacterianas, anti-hongos, anti-virales, anti-ácidas y antiulcerosas siendo considerado un producto inocuo y no alergénico, biocompatible y biodegradable (Majeti y Kumar, 2000). Algunas aplicaciones actuales del quitosano son la formación de films antimicrobianos (Kong *et al.*, 2010), purificación de agua, clarificación de zumos de frutas, como hipocolesterolémico; como agente saciante (Qinna *et al.*, 2013), como tratamiento de antiosteoartritis y como protector del riñón (se supone que es capaz de ligar una serie de sustancias tóxicas, evitando su absorción intestinal) (Giraudo *et al.*, 2010). Este compuesto se utiliza como

suplemento en dietas para la reducción de peso, ya que se une a la grasa impidiendo su absorción intestinal y favoreciendo su excreción por heces, aunque no existe evidencia científica de que ocurra en el ser humano aunque sí en ratas e in vitro (Pittler y Ernst, 2005; Han et al. 1999; Muzzarelli et al., 2000).

El objetivo principal de este trabajo fue evaluar, en sistemas modelo, el potencial del quitosano como nueva herramienta en la mitigación de la generación de acrilamida en procesos de fritura. Asimismo se evaluó la influencia del pH del medio, del tipo de azúcar o azúcares reductores (glucosa y fructosa) presentes en el sistema y de la temperatura de fritura.

MATERIALES Y MÉTODOS

Reactivos

Los azúcares reductores (glucosa y fructosa), la asparagina, y el quitosano se obtuvieron de Sigma-Aldrich Company (St. Louis, MO, USA). El estándar de acrilamida ($\geq 99\%$) se obtuvo en Merck (Darmstadt, Germany), el metanol, de calidad HPLC, de Panreac (Barcelona, España) y el ácido fórmico (pureza de 99-100 %) fue adquirido en VWR-Prolabo (Leuven, Belgium). El agua bidestilada se obtuvo mediante un proceso de purificación del agua (Milli-Q, Millipore Corp., Bedford, MA).

Metodología experimental

Las reacciones de los sistemas modelo estudiadas se basaron en el método de Gokmen y Senyuva (2007) con ligeras modificaciones. Los sistemas modelo estudiados fueron: asparagina-glucosa, asparagina-fructosa y asparagina-glucosa-fructosa. Para llevar a cabo cada uno de los experimentos, se mezclaron 5 μmol de asparagina y 5 μmol del azúcar reductor correspondiente (glucosa, fructosa o mezcla equimolar de ambos, 2.5 μmol de cada) y a dicha mezcla se le adicionó quitosano al 0.5 y 1 % hasta un volumen final de 100 μL . Los experimentos se llevaron a cabo a pH 4 y 5 en tubos Pyrex de 25 mL (Pyrex con rosca). La elección de estos pHs se basó en la necesidad de trabajar a pH ácido y concretamente en el rango en el que el quitosano presente elevada solubilidad ($\text{pK}_a=6.5$). Los tubos se sometieron a dos temperaturas de fritura, 150 y 180 °C para evaluar así la influencia de la temperatura. Se llevó a cabo un control en cada caso sin adición de quitosano. A continuación se muestra una tabla donde se resumen todas las variables estudiadas (Tabla 1):

TABLA 1. Resumen de las condiciones ensayadas

Sistema	pH	Quitosano (%)	Temperatura (°C)	Tiempo de fritura (min)
Asparagina-glucosa	4, 5	0, 0.5, 1	150, 180	5, 10, 15, 20, 30
Asparagina-fructosa	4, 5	0, 0.5, 1	150, 180	5, 10, 15, 20, 30
Asparagina-fructosa +glucosa	4, 5	0, 0.5, 1	150, 180	5, 10, 15, 20, 30

El equipo utilizado para simular la fritura fue una freidora eléctrica de acero inoxidable de uso doméstico (Solac Ideal 2000) y se tomaron muestras, por triplicado, a los 5, 10, 15, 20 y 30 minutos. Durante el proceso de fritura sólo el fondo de los tubos quedaron cubiertos de aceite, tal como se observa en la Figura 3. Además, la parte superior de los tubos se mantuvo cubierta con una camisa de hielo para favorecer la condensación del vapor y así mantener un nivel de humedad constante durante toda la reacción (Figura 3). Una vez transcurrido el tiempo de fritura, los tubos se introdujeron en hielo durante 5 minutos y posteriormente se dejaron atemperar durante 5 minutos más. Al residuo obtenido se le añadió 2 mL de agua bidestilada y se agitaron los tubos en un vortex durante 1 minuto. El contenido del tubo se filtró (filtros de Nylon de 0.22 μm) y se transfirió a un vial para la siguiente determinación del contenido en acrilamida.

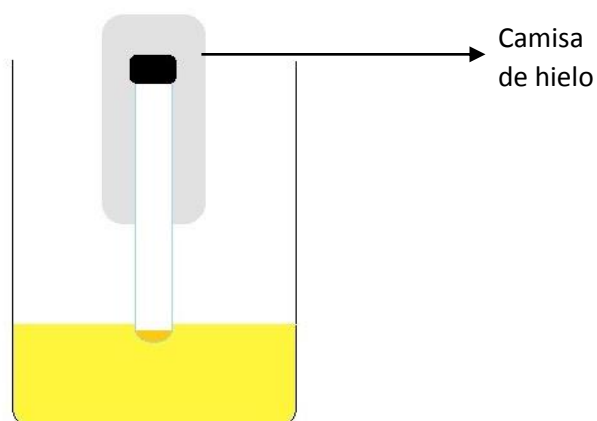


FIGURA 3. Montaje en el que se llevaron a cabo los experimentos de fritura en sistemas modelo

Determinaciones analíticas

DETERMINACIÓN DE ACRILAMIDA

El método llevado a cabo para la determinación de acrilamida en los sistemas modelo fue validado en estudios anteriores por el grupo investigador (Sansano *et al.*, 2011). El método presenta una linealidad > 0.99 y una recuperación del 82-109 %, y por tanto dentro de las exigencias de la Directiva Europea 96/23/CE. Así pues, para su determinación se utilizó un cromatógrafo 1200 Series (Agilent Technologies, Inc., CA; USA) acoplado a un espectrómetro de masas 6410 TripleQuad LC/MS de Agilent (Agilent Technologies Inc., CA; USA), con fuente de ionización tipo Electrospray, en modo positivo. La columna usada en el presente estudio fue una Zorbax Eclipse XDB C-18 (2.1 mmx50mm, 1.8 μ m). El gradiente de elución fue el siguiente: inicialmente la composición fue de 100 % de fase A (disolución de ácido fórmico en agua al 0,1 %, 2.5 % de methanol) y 0% de fase B (methanol), hasta el minuto 3. A partir del minuto 3.10 un 30 % de fase B hasta el minuto 3.5 y en el minuto 3.6 se ajusta al valor inicial: 0% de fase B, durante un minuto para estabilizar la columna. La temperatura del horno de columna se mantuvo constante a 30°C. El flujo empleado fue de 0.4 mL/minuto, y el volumen de inyección 10 μ L. Las condiciones usadas en la fuente de ionización fueron: T^a del gas de secado (N₂) de 350 °C a 12 L/min, presión del nebulizador de 40 psi y voltaje del capilar de 4000 voltios. El ión monitorizado para la acrilamida fue el m/z 72, sus los iones producto fueron 55.2 (cuantitativo) y el 26.7 (cualitativo). El contenido en acrilamida de las muestras se determinó por triplicado.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La influencia del contenido de quitosano en el medio, de los azúcares reductores utilizados, el pH, de la temperatura y del tiempo de fritura en la reducción de la formación de acrilamida en los sistemas modelo, se evaluó mediante un análisis multifactorial de la varianza (ANOVA multifactorial) con el programa de análisis estadístico Statgraphics CenturionXVI con un nivel de confianza del 95% (p -valor ≤ 0.05).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De forma previa a la cuantificación de la acrilamida, se estudió la linealidad de los patrones puros (0.1, 0.5, 1, 2.5, 5, 10 y 20 ppm) para verificar el método, obteniendo una R² de 0.990.

Las Figuras 4.A y 4.B muestran el contenido en acrilamida generado en los distintos sistemas modelo (comparando la influencia de distintos azúcares reductores y su mezcla) a pH 4 y 5 respectivamente, en función del porcentaje de quitosano, y a cada una de las temperaturas y tiempo de fritura estudiados. Los valores mostrados corresponden a las medias y la desviación estándar de los valores experimentales obtenidos para cada condición y para evaluar la influencia significativa de los distintos factores estudiados se llevó a cabo un ANOVA multifactorial.

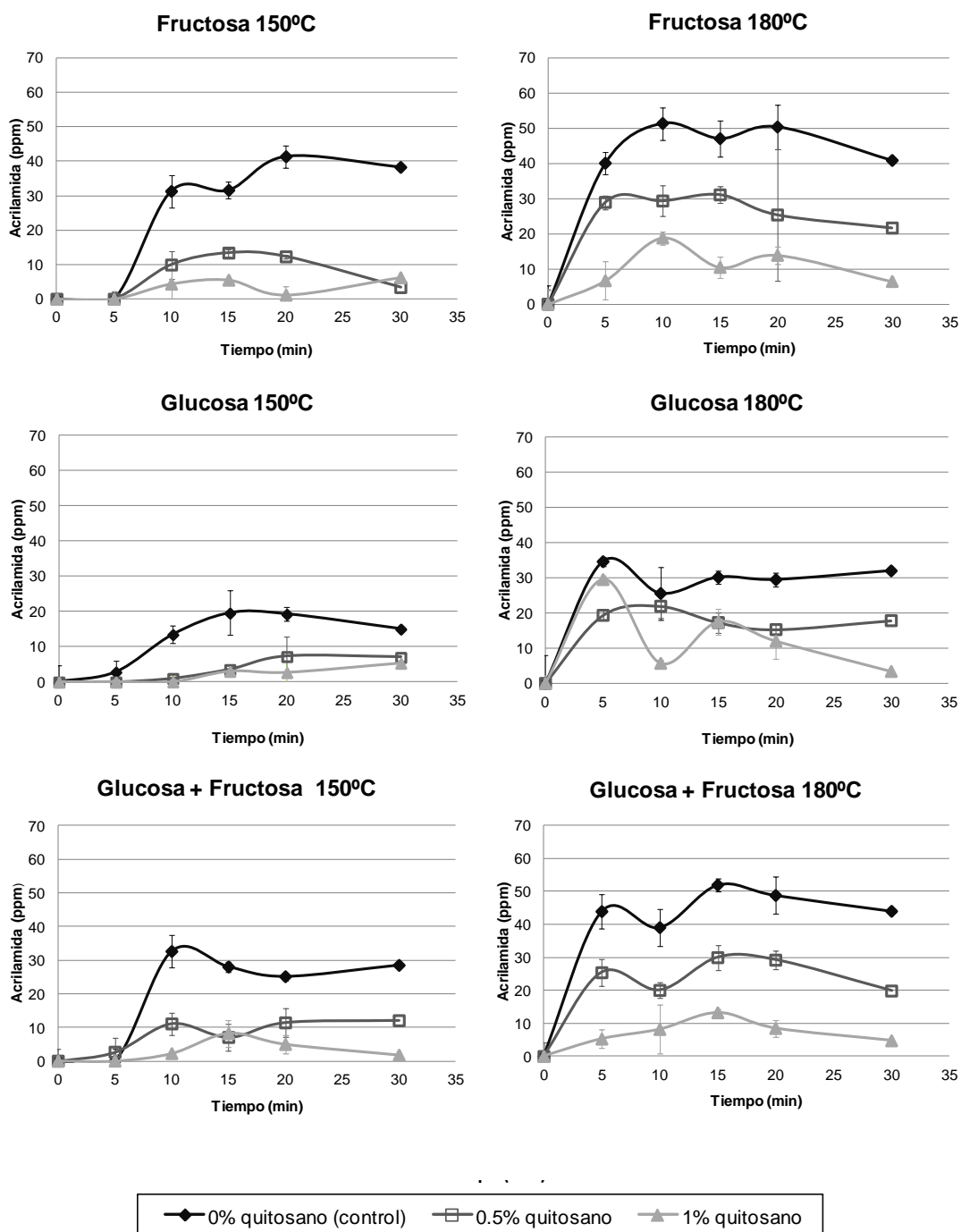


FIGURA 4.A. Evolución del contenido en acrilamida (ppm) a partir de asparagina (5 μ mol) y azúcares reductores (5 μ mol glucosa, 5 μ mol fructosa y 5 μ mol glucosa+fructosa), respecto a la presencia o ausencia de quitosano (0 (control), 0.5 y 1 %) sometidos a 150 y 180 °C a pH 4. Las barras de error representan las desviaciones estándar (n=3).

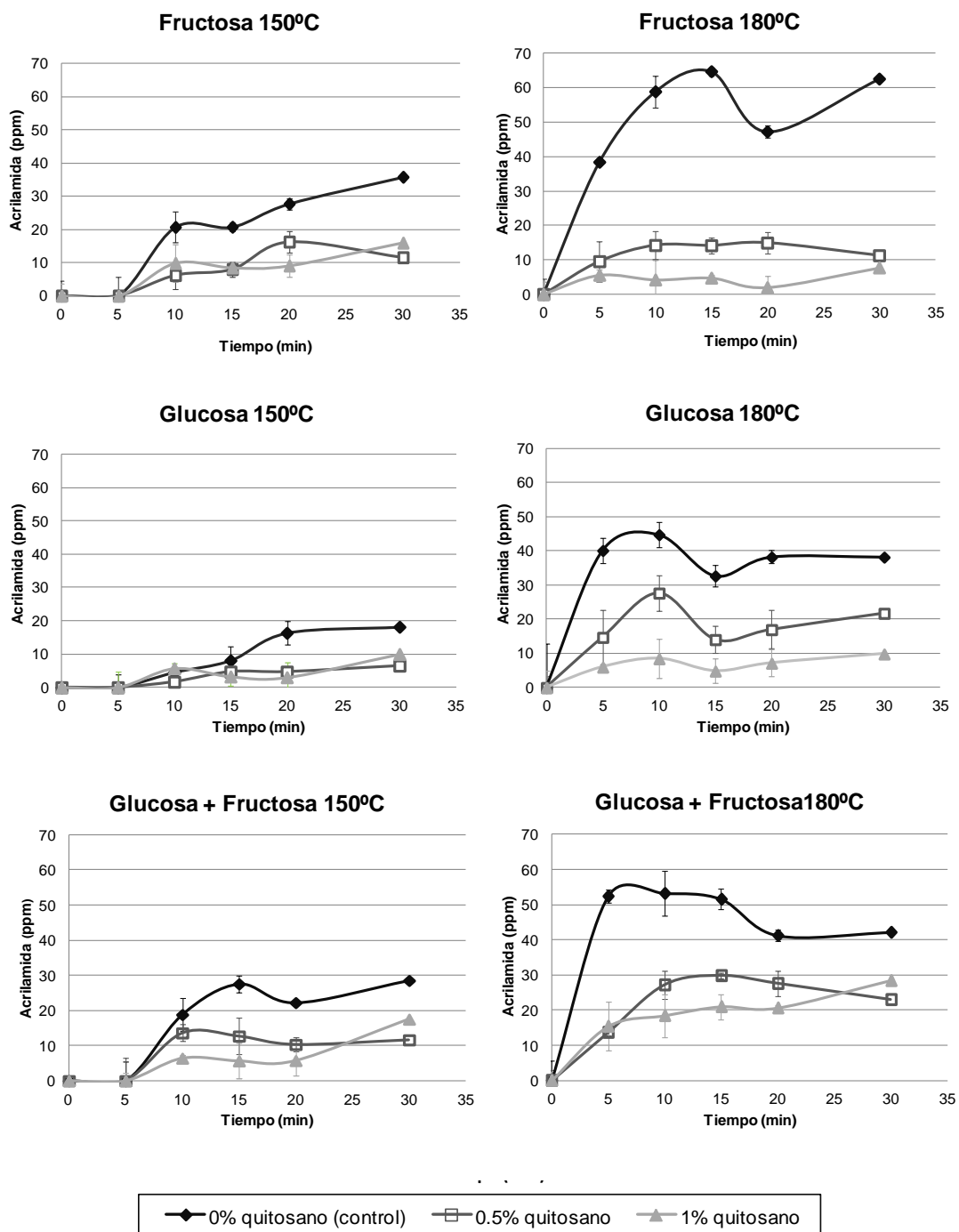


FIGURA 4.B. Evolución del contenido en acrilamida (ppm) a partir de asparagina (5 μ mol) y azúcares reductores (5 μ mol glucosa, 5 μ mol fructosa y 5 μ mol glucosa+fructosa), respecto a la presencia o ausencia de quitosano (0 (control), 0.5 y 1 %) sometidos a 150 y 180 °C a pH 5. Las barras de error representan las desviaciones estándar (n=3)

De los 5 factores analizados, el pH del medio fue el único factor para el que el análisis estadístico no encontró influencia significativa en la generación de acrilamida (Tabla 2). Si bien se generó un contenido ligeramente superior de acrilamida a pH 4 en los sistemas modelo con fructosa solo (Figura 4.A).

TABLA 2. Análisis de la varianza multifactorial (ANOVA multifactor) para el contenido en acrilamida de las variables estudiadas y sus interacciones.

VARIABLES	F-Ratio	INTERACCIONES	F-Ratio
pH	0.13 NS	pH-Azúcar	6.0**
Azúcar reductor	54.9**	pH-Tiempo	4.2**
Tiempo (min)	175.0**	pH-Quitosano	4.4**
Quitosano (%)	618.5**	pH-Temperatura	1.4 NS
Temperatura (°C)	624.6**	Azúcar-Tiempo	5.3**
		Azúcar-Quitosano	17.6**
		Azúcar-Temperatura	2.6*
		Tiempo-Quitosano	19.8**
		Tiempo-Temperatura	41.3**
		Quitosano-Temperatura	77.7**

**Estadísticamente significativo $\geq 99\%$ (p-valor ≤ 0.01); * Estadísticamente significativo $\geq 95\%$ (p-valor ≤ 0.05); NS No estadísticamente significativo (p-valor > 0.05)

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Jung (2003) en un estudio de la influencia del pH en sistemas modelo sin quitosano, en el que no se encontraron diferencias entre pH 4 y 5 respecto a los niveles de acrilamida obtenidos a pH 7 y 8. Si bien la estrategia de la acidificación del medio ha sido utilizada en muchos trabajos para reducir la formación de acrilamida, su aplicación práctica está limitada en muchos de los casos por los cambios sensoriales que implica la incorporación de ácidos (Jung, 2003; Friedman y Levin, 2008; Mestdahg *et al.*, 2008). Sin embargo, la incorporación de quitosano como estrategia para reducir la formación de acrilamida exige trabajar a pH ácidos para lograr su adecuada disolución, de manera que la repercusión sensorial deberá tenerse en cuenta cuando se desarrollen futuras aplicaciones. En el caso de los sistemas modelo analizados, los resultados obtenidos son consecuencia del efecto combinado, presencia de quitosano y acidificación, de ahí que los sistemas de referencia o control (0% quitosano) hayan sido formulados a los dos pH evaluados, y poder así analizar el efecto debido únicamente a la incorporación de quitosano.

En cuanto a los otros factores evaluados, si bien el tiempo de fritura y el tipo de azúcar en el sistema influyen significativamente, la temperatura de fritura y el porcentaje de quitosano, parecen ser los más importantes a juzgar por los valores obtenidos para el F-Ratio (Tabla 2).

La Figura 5 ilustra la influencia que el tipo de azúcar presente en el sistema tiene sobre la generación de acrilamida. Coherentemente con los resultados obtenidos por otros autores (Rydberg *et al.*, 2003; Robert *et al.*, 2004), la fructosa conduce a mayores niveles de acrilamida en comparación con la glucosa.

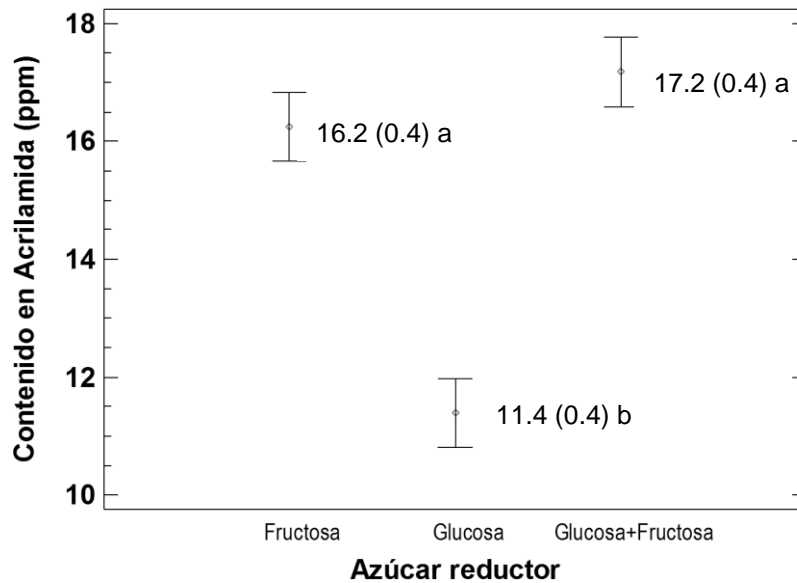


FIGURA 5. Contenido medio de acrilamida (ppm) y 95% LSD en función del azúcar utilizado (glucosa, fructosa o glucosa+fructosa).^{ab} Diferencias significativas entre los distintos sistemas analizados (p-valor < 0.05).

Estas diferencias parecen estar relacionadas con las distintas temperaturas de fusión de ambos azúcares siendo de 126°C para la fructosa y de 157°C para la glucosa (Robert *et al.*, 2004). Por otro lado, la cinética de formación de acrilamida es muy dependiente de la temperatura de proceso tal y como se muestra en la Figura 6, donde se observa que en la fritura a 180°C la generación de acrilamida tiene lugar prácticamente durante los primeros 5 minutos mientras que cuando el proceso se lleva a cabo a 150°C, la acrilamida se genera más lentamente manteniéndose a concentraciones mucho más bajas que en el proceso a 180°C incluso después de 30 minutos de tratamiento.

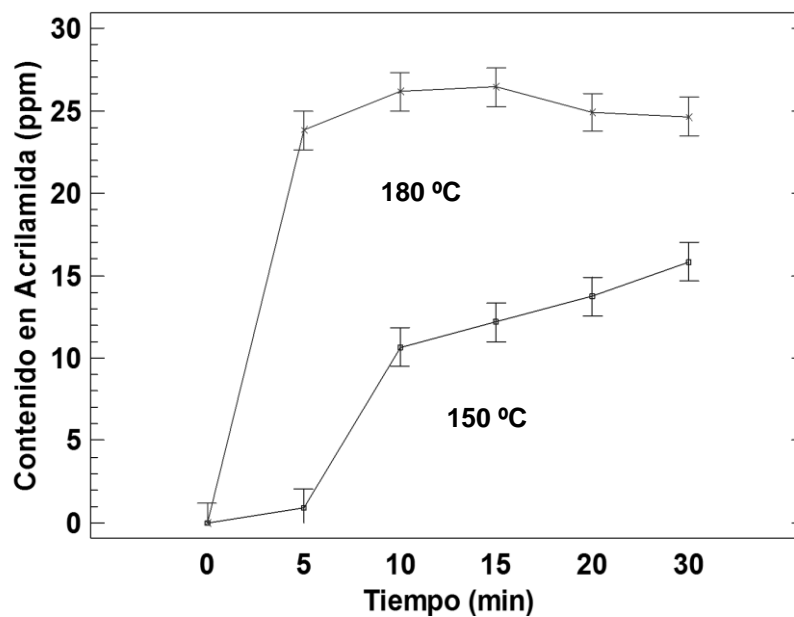


FIGURA 6. Evolución del contenido en acrilamida (ppm) respecto a la temperatura de tratamiento térmico.

La influencia de la temperatura de fritura en la formación de acrilamida ha sido ampliamente estudiada tanto en sistemas reales (Matthaus *et al.* 2004; Pedreschi *et al.* 2005) como en sistemas modelo (Mottram *et al.*, 2002; Stadler *et al.*, 2002), por lo que en este trabajo se ha analizado el efecto de esta variable en sistemas con quitosano. Los resultados obtenidos del análisis estadístico (Tabla 2) indican que de las interacciones entre factores, la más importante es la interacción Temperatura - % de quitosano (F-Ratio: 77.7). Al observar el gráfico de medias e intervalos LSD del contenido en acrilamida (Figura 7) se constata que la presencia de quitosano en los sistemas analizados reduce las diferencias observadas como consecuencia del aumento de temperatura, pasando de una diferencia de 19.7 ppm en muestras sin quitosano, a una de 11.7 ppm en sistemas con un 0.5% de quitosano y 4.9 ppm en sistemas con un 1% de quitosano.

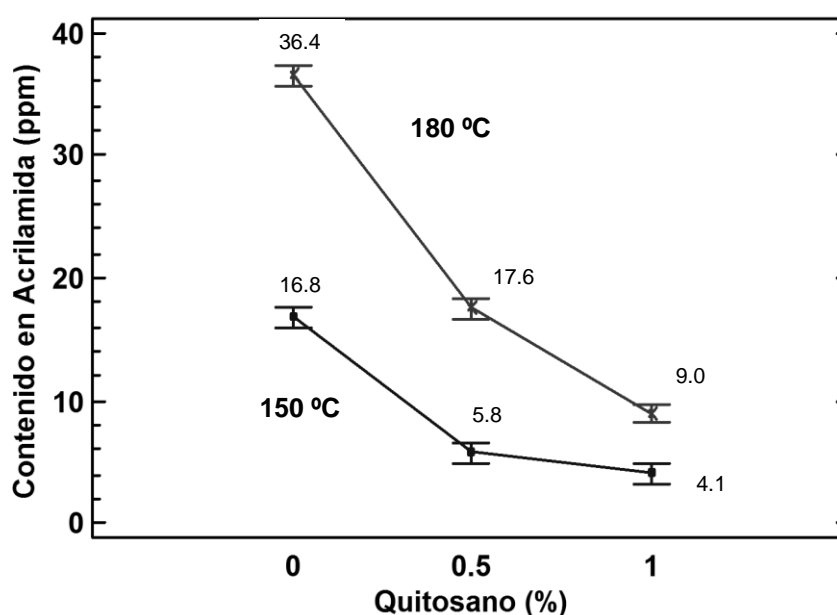


FIGURA 7. Contenido en acrilamida (ppm) respecto a la temperatura y porcentaje de quitosano.

La capacidad inhibitoria de formación de acrilamida que presenta el quitosano es coherente con los resultados obtenidos por Zeng *et al.*, 2010 quienes evaluaron la capacidad de inhibir la formación de acrilamida de otros hidrocoloides (agar, ácido alginico, carragenato, goma de garrofin, gelatina, pectina y goma xantana), obteniendo buenos resultados tanto en sistemas modelos como en sistemas reales. El mecanismo de inhibición de la formación de acrilamida del quitosano se basa en la afinidad de su grupo amino por el grupo carbonilo de los azúcares reductores, compitiendo con la asparagina en la reacción con los azúcares reductores para la generación de acrilamida. Se trata por tanto de una estrategia de inhibición competitiva que puede utilizarse para disminuir la formación de acrilamida en alimentos reales en los que el quitosano ha demostrado tener otro tipo de funcionalidades debido por ejemplo a su actividad antimicrobiana (Kong *et al.*, 2010).

Por último y a modo de resumen, la Tabla 3 recoge la reducción relativa de acrilamida (%), con respecto al contenido medio generado en los sistemas

modelo con 0% de quitosano y en las mismas condiciones de temperatura y tipo de azúcar presente en el sistema, con independencia del pH, a los 15 minutos de fritura. Como es posible observar, aplicando un 1% de quitosano se consigue una reducción de entre 53-95 %, mientras que con un 0.5% la reducción media oscila entre el 36 y 79 % dependiendo de la temperatura y tipo de azúcar/es presente/s en el sistema.

TABLA 3. Reducción de formación de acrilamida (%) en función del porcentaje de quitosano, temperatura y azúcares reductores respecto a las muestras control (0% quitosano) a los 15 minutos de fritura con independencia del pH del medio.

Quitosano (%)	Temperatura (°C)	Azúcar reductor	Reducción acrilamida (%) \pm SD
0.5	150	Glucosa	50 \pm 11
		Fructosa	58 \pm 19
		Glucosa+fructosa	42 \pm 6
	180	Glucosa	70 \pm 9
		Fructosa	59 \pm 15
		Glucosa+fructosa	64 \pm 15
1	150	Glucosa	74 \pm 26
		Fructosa	86 \pm 9
		Glucosa+fructosa	67 \pm 14
	180	Glucosa	77 \pm 9
		Fructosa	73 \pm 15
		Glucosa+fructosa	75 \pm 5

CONCLUSIONES

A excepción del pH, todos los factores analizados fueron estadísticamente significativos resultando los de mayor influencia la temperatura de proceso y el porcentaje de quitosano, seguidos del tiempo de tratamiento y el tipo de azúcar reductor presente en el sistema.

En cuanto a las interacciones entre los factores estudiados, la que más parece influir sobre el contenido de acrilamida (mayor F-ratio) es la combinación temperatura de proceso - % de quitosano, observándose que cuanto mayor es la concentración de quitosano menos se incrementa la formación de acrilamida por aumento de la temperatura de fritura. No obstante, la funcionalidad del quitosano para reducir la formación de acrilamida debe validarse para cada uno de los sistemas reales en los que este compuesto pueda tener aplicación, dado que el efecto de la matriz alimentaria podría influir de forma considerable en este sentido y en aspectos sensoriales y de calidad del producto.

REFERENCIAS

- Amrein, T., Limacher, A., Conde-Petit, B. Amadó, R., & Escher, F. (2006). Influence of thermal processing conditions on acrylamide generation and browning in a potato model system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54, 5910-5916.
- Anese, M., Bortolomeazzi, R., Manzocco, L., Manzano, M., Giusto, C., & Nicoli, M. C. (2009). Effect of chemical and biological dipping on acrylamide formation and sensory properties in deep-fried potatoes. *Food Research International*, 42, 142–147.
- Anese, M., Suman, M., & Nicoli, M. C. (2010). Acrylamide removal from heated foods. *Food Chemistry* 119, 791–794.
- Baardseth, P., Blom, H., Skrede, G., Mydland, L. T., Skrede, A., & Slinde, E. (2006). Lactic acid fermentation reduces acrylamide formation and other Maillard reactions in French fries. *Journal of Food Science*, 71, C28–C33.
- Becalski, A., Brady, B., Feng, S., Gauthier, B. R., & Zhao, T. (2011). Formation of acrylamide at temperatures lower than 100°C: the case of prunes and a model study. *Food Additives and Contaminants*, Vol. 28, No. 6, June 2011, 726–730.
- CODEX ALIMENTARIUS. Código de prácticas para reducir el contenido de acrilamida en los alimentos. CAC/RCP 67-2009. 2009.
- Comisión Europea. (2013) 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 de EEE (2013/647/UE).
- FAO/WHO (2006) Aditivos alimentarios y contaminantes de los alimentos. Consulta Conjunta de FAO/OMS. 24 – 28 de abril de 2006, La Haya, Países Bajos.
- FAO/WHO (2009). 3ª reunión del Comité del Codex sobre Contaminantes de los Alimentos (ALINORM 09/32/41). Informe de la Consulta Conjunta de FAO/OMS. 23-27 Marzo 2009, Róterdam, Países Bajos.
- Food Drink Europe Acrylamide Toolbox 2011. FoodDrinkEurope – 30 September 2011. http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/ciaa_acrylamide_toolbox09.pdf.
- Foot, R. J., Haase, N. U., Grob, K., & Gondé, P. (2007). Acrylamide in fried and roasted potato products: A review on progress in mitigation. *Food Additives and Contaminants*, 24, 37–46.
- Friedman, M. & Levin, C.E. (2008). Review of Methods for the Reduction of Dietary Content and Toxicity of Acrylamide. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56 (15), 6113–6140.
- Garayo, J. & Moreira, R. (2002). Vacuum frying of potato chips. *Journal of Food Engineering* 55, 181-191.
- Giraudó, M., Ugarte M., Scollo D., Nonzioli A. & Sánchez Tuero H. (2010). Carbohidratos en los alimentos funcionales. Quitosano como suplemento dietario, aditivo y nutraceutico. Universidad Nacional de Lanus, Carrera de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, 318-319.
- Gökmen, V. & Senyuva, H.Z. (2007). Acrylamide formation is prevented by divalent cations during the Maillard reaction. *Food Chemistry* 103, 196–203.
- Granda, C. Moreira, R. & Tichy, S. (2004). Reduction of Acrylamide Formation in Potato Chips by Low-temperature Vacuum Frying. *Journal of Food Science*. 69(8).
- Han, L.K., Kimura, K. & Okuda, H. (1999) Reduction in fat storage during chitin-chitosan treatment in mice fed a high-fat diet. *International Journal of Obesity*, 23, 174-179
- Jung, M.Y., Choi, D.S., & Ju, J.W. (2003). A novel technique for limitation of acrylamide formation in fried and baked corn chips and in french fries. *Journal of Food Science*. 68(4), 1287-1290.
- Kong, M., Chen, X.G., Xing, K. & Park, H.J. (2010). Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. *International Journal of Food Microbiology* 144 (1), 51-63.
- Lindsay, R. C. & Jang, S. (2005). Chemical intervention strategies for substantial suppression of acrylamide formation in fried potato products. *Chemistry and safety of Acrylamide in Food*; Friedman, M. & Mottram, D. S., Eds.; Springer: New York, 2005; pp 393-404.

- Majeti, N.V. & Kumar, R. (2000) A review of chitin and chitosan applications. *Reactive & Functional Polymers* 46, 1–27.
- Matthaus B, Haase N & Vosmann K. (2004). Factors affecting the concentration of acrylamide during deep-fat frying of potatoes. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 106, 793–801.
- Mestdagh, F., De Wilde, T., Fraselle, S., Govaert, Y., Ooghe, W., Degroodt, J., Verhé, R., Van Peteghem, C., & De Meulenaer, B. (2008). Optimization of the blanching process to reduce acrylamide in fried potatoes. *Food Science and Technology*. 41(9), 1648-1654.
- Mottram, D. S., Wedzicha, B. L., & Dodson, A. T. (2002) Acrylamide is formed in the Maillard reaction. *Nature*, 419, 448-9.
- Muzzarelli, R.A.A, Frega, N., Miliani, M., Muzzarelli, C. & Cartolari, M. (2000). Interactions of chitin, chitosan, N-lauryl chitosan and N-dimethylaminopropyl chitosan with olive oil. *Carbohydrate Polymers*, 43, 263-268.
- Pedreschi, F., Kaack, K & Granby, K. (2004). Reduction of acrylamide formation in potato slices during frying. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*. 37, 679–685.
- Pedreschi, F., Moyano, P., Kaack, K. & Granby, K. (2005). Colour changes and acrylamide formation in fried potato slices. *Food Research International*, 38, 1-9.
- Pedreschi, F., Kaack, K & Granby, K (2007). The effect of asparaginase on acrylamide formation in French fries. *Food Chemistry* 109 (2008) 386–392.
- Pittler, M.H. & Ernst, E. (2005) Complementary therapies for reducing body weight: a systematic review. *International Journal of Obesity*, 29, 1030–1038.
- Qinna NA, Akayleh FT, Al-Remawi MM, Kamona BS, Taha H & Badwan AA.. (2013). Evaluation of a functional food preparation based on chitosan as a meal replacement diet. *Journal of functional foods* 5, 1125 –1134.
- Robert, F., Vuataz, G., Pollien, P., Saucy, F., Alonso, M.I., Bauwens, I. & Blank, I. (2004). Acrylamide Formation from Asparagine under Low-Moisture Maillard Reaction Conditions. Physical and Chemical Aspects in Crystalline Model Systems. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52, 6837-6842
- Rydberg, P., Erikson, S., Tareke, E., Karlsson, P., Ehrenberg, L. & Törnqvist, T. (2003). Investigations of Factors That Influence the Acrylamide Content of Heated Foodstuffs. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 51, 7012-7018
- Sansano, M., Andrés, A. and Heredia, A. (2011). Estudio de la influencia del tipo de pre-tratamiento sobre la reducción de la generación de acrilamida durante la fritura de patatas en aceite. Trabajo Final de Máster. Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo. Universidad Politécnica de Valencia.
- Stadler, R. H., Robert, F., Riediker, S., Varga, N., Davidek, T., Devaud, S., et al. (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, 5550–5558.
- Tae Kim, C., Hwang, E., & Joo Lee, H. (2005). Reducing acrylamide in fried snack products by adding amino acids. *Journal of Food Science*. 70(5), 354-358.
- Vleeschouwer, K.D., Plancken, I.V., Loey, A V., & Hendrickx, M.E. (2006) Impact of pH on the Kinetics of Acrylamide Formation/ Elimination Reactions in Model Systems. *J. Agric. Food Chem.* 2006, 54, 7847-7855
- Zeng, X., Cheng, K., Du, Y., Kong, R., Lo, C., Chu, K., Chen, F. & Wang, M. (2010) Activities of hydrocolloids as inhibitors of acrylamide formation in model systems and fried potato strips. *Food Chemistry*, 121, 424–428.