UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

DOCTORADO EN QUÍMICA

TESIS

DISEÑO DE ESTRATEGIAS PARA LA PREDICCIÓN Y DISMINUCIÓN DEL CONTENIDO DE ACRILAMIDA EN PRODUCTOS FRITOS

Para obtener el grado de

Doctora en Química

PRESENTA

M. en Q. Sandra Ramírez Montes

Director

Dr. José Antonio Rodríguez Ávila

Codirectora

Dra. Eva María Santos López

Comité tutorial

Dr. Julián Cruz Borbolla

Dr. Fernando Díaz Sánchez

Mineral de la Reforma, Hgo., México, agosto 2025

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo
Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería
School of Engineering and Basic Sciences
Área Académica de Química
Department of Chemistry

Número de control: ICBI-AAQ/2275/2025
Asunto: Autorización de impresión

Mtra. Ojuky del Rocío Islas Maldonado
Directora de Administración Escolar de la UAEH

El Comité Tutorial del trabajo de tesis titulado "**DISEÑO DE ESTRATEGIAS PARA LA PREDICCIÓN Y DISMINUCIÓN DEL CONTENIDO DE ACRILAMIDA EN PRODUCTOS FRITOS**", realizado por la sustentante **Sandra Ramírez Montes** con número de cuenta **297212** perteneciente al programa del **DOCTORADO EN QUÍMICA**, una vez que ha revisado, analizado y evaluado el documento recepcional de acuerdo con lo estipulado en el Artículo 110 del Reglamento de Estudios de Posgrado, tiene a bien extender la presente:

AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

Por lo que la sustentante deberá cumplir los requisitos del Reglamento de Estudios de Posgrado y con lo establecido en el proceso de grado vigente.

Atentamente
"Amor, Orden y Progreso"
Mineral de la Reforma, Hidalgo a 21 de agosto de 2025

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

Mtro. Gabriel Vergara Rodríguez
Director del ICBI

Dr. José Antonio Rodríguez Ávila
Director de tesis

Dra. Eva María Santos López
Codirectora de tesis

Dr. Julián Cruz Borbolla
Miembro del Comité Tutorial

Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería
Área Académica de Química

Dr. Fernando Díaz Sánchez
Miembro del Comité Tutorial

Ciudad del Conocimiento, Carretera Pachuca-Tulancingo Km. 4.5 Colonia Carboneras, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México. C.P. 42184
Teléfono: 52 (771) 71 720 00 Ext. 40088, 40087
aaq_icbi@uaeh.edu.mx, nandrade@uaeh.edu.mx

El presente trabajo se llevó a cabo en el laboratorio 1 del Área Académica de Química y en el laboratorio de equipos de uso común del edificio de Química de Alimentos del Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Este trabajo fue desarrollado gracias al financiamiento del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología ahora Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación proporcionando la beca N° 815449.

Para la realización de este trabajo se ha contado con el apoyo de la Empresa Fritos Totis, S.A. de C.V.

Parte de este trabajo fue presentado en:

XXXV Congreso Nacional de Química Analítica, con el trabajo titulado “Evaluación de la cinética de reacción de L-cisteína y L-glutatión con acrilamida mediante espectrofotometría UV-Vis”. en Puebla, Puebla México, del 18 al 22 de septiembre de 2023.

XXXVI Congreso Nacional de Química Analítica, con el trabajo titulado “Determinación indirecta de acrilamida mediante espectrofotometría UV-Vis”. en Toluca, Estado de México, México, del 12 al 16 de agosto de 2024.

8th World Congress on Food Science & Technology con el trabajo titulado “Prediction of acrylamide concentration in potato crisps from impedance data and chemometric analysis of tubercle raw material” en Londres, Inglaterra, del 14-15 de marzo de 2025.

Parte de este trabajo fue publicado:

Ramirez-Montes, S., Zárate-Hernández, L. A., Rodriguez, J. A., Santos, E. M., & Cruz-Borbolla, J. (2022). A DFT Study of the Reaction of Acrylamide with L-Cysteine and L-Glutathione. *Molecules*, *27*, 8220.

Ramirez-Montes, S., Santos, E. M., Cruz-Borbolla, J., Diaz-Sanchez, F., & Rodriguez, J. A. (2025). Deep Learning-Assisted Prediction of Acrylamide Concentration in Potato Crisps with Electrochemical Impedance Spectroscopy Data of Raw Tuber. *Electroanalysis*, *37*, e70008.

Agradecimientos

Al Dr. José Antonio Rodríguez Ávila por su apoyo en la dirección de la presente tesis.

A la Dra. Eva María Santos López por su asesoramiento en el proyecto.

Al comité tutorial por sus oportunas aportaciones en cada seminario.

A Angie, Bego, Enoch, Esme, Jessi, Jorge, Ray por su apoyo y amistad.

Dedicatoria

A Dios que siempre está conmigo y me da la fuerza de seguir adelante.

A mis padres por el apoyo que me han brindado.

A mi abuelita que con su cariño y afecto me motiva a dar lo mejor de mí.

A Lili, Vero, Monse, Ale, Getse, Juan, José por su amistad.

A mi familia por darme ánimo en cada etapa de mi vida.

A mi familia MAVD por estar en los momentos fundamentales.

A mi familia Florence por el apoyo brindado.

CONTENIDO

RESUMEN 1

1. ANTECEDENTES 3

1.1. Formación de acrilamida en los alimentos 3
1.2. Afectaciones a la salud por exposición a la acrilamida 5
1.3. Métodos de análisis de acrilamida en alimentos 7
1.4. Estrategias de disminución de acrilamida en alimentos 11

2. OBJETIVOS 15

2.1. Objetivo general 15
2.2. Objetivos específicos 15

3. PREDICCIÓN DEL CONTENIDO DE ACRILAMIDA EN PAPAS FRITAS TIPO HOJUELA COMO CONTROL DE CALIDAD 17

3.1. Antecedentes 17
3.2. Parte experimental 20
3.2.1. Muestras 20
3.2.2. Análisis por EIS 20
3.2.3. Determinación de acrilamida mediante HPLC 22
3.2.4. Análisis de aprendizaje profundo 22
3.3. Resultados y discusión 24
3.3.1. Análisis de papa cruda mediante espectroscopía de impedancia electroquímica 24
3.3.2. Monitoreo de la concentración de acrilamida durante el tiempo de almacenamiento 25
3.3.3. Aplicación del aprendizaje profundo en la predicción de la concentración de acrilamida 27
3.4. Conclusión 30

4. EVALUACIÓN DE LA DISMINUCIÓN DE ACRILAMIDA MEDIANTE REACCIONES CON TIOLES Y EL EFECTO TOXICOLÓGICO DE LOS PRODUCTOS OBTENIDOS 32

4.1. Antecedentes 32
4.1.1. Reacciones de tioles con acrilamida 32
4.1.2. Estudios toxicológicos de acrilamida 37
4.2. Parte experimental 40
4.2.1. Evaluación cinética de la reacción entre acrilamida con cisteína y glutatión 40
4.2.2. Estudios teóricos de la reacción entre acrilamida con cisteína y glutatión 41
4.2.3. Prueba de toxicidad 42
4.2.3.1. Síntesis de compuestos R-SH-acrilamida 42
4.2.3.2. Estudio de toxicidad de los compuestos R-SH-acrilamida en pez cebra 44
4.3. Resultados y discusión 45
4.3.1. Evaluación cinética de la reacción entre acrilamida con cisteína y glutatión 45
4.3.2. Estudio teórico de la reacción entre acrilamida con cisteína y glutatión 47
4.3.3. Estudio de toxicidad de los compuestos R-SH-acrilamida en pez cebra 52
4.4. Conclusión 56

5. APLICACIÓN DE EXTRACTOS DE AJO EN PROCESOS DE FRITURA DE PAPA TIPO HOJUELA 58

5.1. Antecedentes 58
5.1.1. Compuestos benéficos en frutas y hortalizas y su aplicación en la disminución de acrilamida 58

5.1.2. Compuestos organosulfurados en Allium sativum *61*
5.1.3. Elaboración de papas fritas tipo hojuela a nivel industrial *67*
5.2. PARTE EXPERIMENTAL 69
5.2.1. Evaluación de tioles en extractos de ajo en oleína de palma *69*
5.2.1.1. Extracción de compuestos organosulfurados (R-SH) del ajo en oleína de palma *69*
5.2.2. Proceso de freído de papas *70*
5.2.3. Determinación de acrilamida *70*
5.2.4. Determinaciones fisicoquímicas *71*
5.2.5. Pruebas organolépticas *72*
5.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 74
5.3.1. Evaluación de extractos de ajo en oleína de palma *74*
5.3.1.1. Análisis de extracto de ajo en polvo mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas *74*
5.3.2. Contenido de acrilamida *77*
5.3.3. Pruebas fisicoquímicas *79*
5.3.4. Pruebas organolépticas *80*
5.4. CONCLUSIONES 83
6. REFERENCIAS 85

Índice de Figuras

Figura 1. Formación de acrilamida en alimentos. 4
Figura 2. Metabolismo de la acrilamida en el organismo 6
Figura 3. Proceso de análisis de acrilamida en alimentos 7
Figura 4. Derivatización de acrilamida con Xantidrol (a) y bromuro de potasio (b).. 9
Figura 5. Estrategias para la disminución de acrilamida en papas fritas. 11
Figura 6. Esquema de la construcción de una red neuronal profunda utilizado para aplicar un modelo de aprendizaje profundo. 19
Figura 7. Sistema de electrodo de punción con conector de pines comerciales 21
Figura 8. (a) Diagrama de Nyquist y (b) Diagrama de Bode 25
Figura 9. Gráfico de cajas y bigotes de concentración de acrilamida (µg kg^{-1}) 26
Figura 10. Rendimiento del modelo de aprendizaje profundo. 28
Figura 11. Reacción entre acrilamida con tioles mediante la reacción de adición conjugada 1,4. 33
Figura 12, Reacción entre acrilonitrilo y homocisteína mediante la reacción de adición conjugada 1,4. 34
Figura 13. Energía mínima para la reacción de captopril (CapSH), Cisteína (Cys) y glutatión (GSH) con acrilamida en fase gaseosa y solución acuosa (DFT BVP86/TZVP/COSMO). 35
Figura 14. Tipos de modelos para estudios toxicológicos. 37
Figura 15. Reacciones de acrilamida con cisteína (a) y glutatión (b) mediante la reacción de adición conjugada 1,4. 40
Figura 16. Espectro de ^{1}H RMN del compuesto de L-Cys-acrilamida 43
Figura 17. Espectro de ^{1}H RMN del compuesto L-GSH-acrilamida. 44
Figura 18. Reacción entre DTNB y tioles. 45
Figura 19. Parámetros de la cinética de reacción. 46
Figura 20. (a) Orbitales moleculares frontera y (b) funciones de Fukui de los compuestos estudiados. 49
Figura 21. Gráficos orbitales SOMO para radicales libres en estado de transición modelados con isovalores de 0.10 y 0.15. 51
Figura 22. Anomalías en pez cebra en ensayos de toxicidad 52
Figura 23. Embrión de pez cebra 120 hpf en la placa L-Cys-acrilamida 53

Figura 24. Desarrollo de pez cebra a las 24 h. 53
Figura 25. Compuestos fitoquímicos presentes en frutas y hortalizas con propiedades benéficas. 59
Figura 26. Propiedades benéficas del ajo para el organismo. 62
Figura 27. Formación de compuestos organosulfurados en el ajo procesado 63
Figura 28. Principales compuestos organosulfurados presentes en el ajo con base a su procesamiento. 65
Figura 29. Ficha de escala hedónica de 7 puntos y preferencia. 73
Figura 30. Cromatograma del extracto de ajo en oleína de palma disuelto en hexano, inyección directa en GC-MS. 75
Figura 31. Cromatograma de la fracción volátil del extracto de ajo en oleína de palma. Análisis mediante HS-SPME-GC-MS. 75
Figura 32. Espectro de masas de los compuestos organosulfurados presentes en la fracción volátil del extracto de ajo en oleína de palma. 76
Figura 33. Cromatograma de la fracción polar del macerado de ajo en oleína de palma reconstituido en diclorometano. Inyección directa en GC-MS. 77
Figura 34. Cromatogramas de muestra de papa freída en oleína de palma (control) y en oleína de palma con R-SH (tratada). 78
Figura 35. Determinación de acrilamida en papa freída en oleína de palma (control) y en oleína de palma con R-SH $3.0x10^{-7}$ M 79

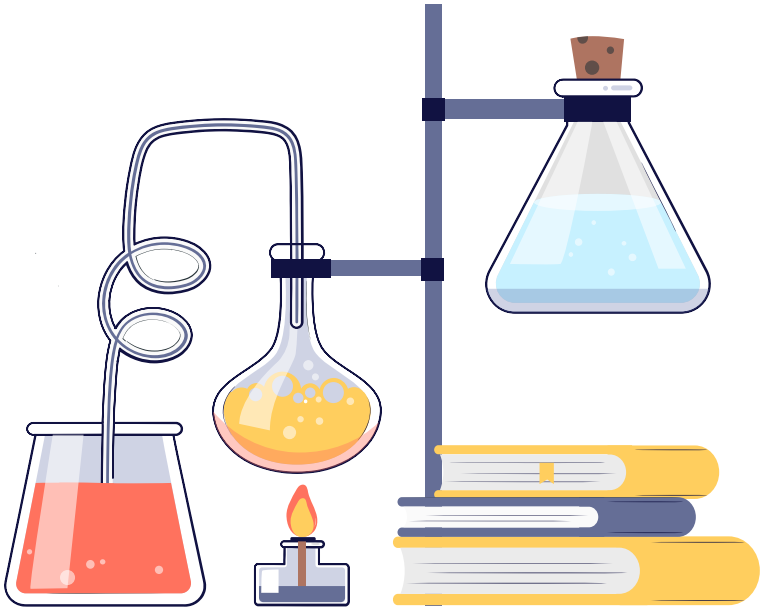
Resumen

El consumo frecuente de alimentos fritos, especialmente botanas comerciales, es un asunto de interés por las afectaciones a la salud como diabetes, hipertensión, enfermedades cardiovasculares, entre otras debido a su alto contenido en grasas saturadas, azúcares y sodio. Igualmente, es importante mencionar que en el proceso de freído se generan compuestos como la acrilamida que daña al organismo por su citotoxicidad, carcinogenicidad y respuesta mutagénica. Por lo que se han diseñado diversas estrategias para disminuir su contenido en los alimentos.

En este proyecto se proponen dos estrategias para reducir el contenido de acrilamida en papas fritas tipo hojuela. La primera de ellas se enfoca en la materia prima, es decir, en el análisis de papa cruda mediante espectroscopía de impedancia electroquímica y en combinación con la aplicación de un modelo de aprendizaje profundo predecir el contenido de acrilamida en la papa frita, de tal forma permita una mejor selección de la materia prima. La segunda estrategia se enfoca en el freído de las papas, en donde al aceite para el freído se le incorpora compuestos organosulfurados obtenidos de una fuente natural para que reaccionen con la acrilamida que se va formando en el freído de las papas. Para complementar la evaluación de estos compuestos se llevaron a cabo estudios teóricos para comprender mejor la reacción entre la acrilamida y los compuestos organosulfurados, así como estudios de toxicidad de los compuestos formados a partir de la reacción antes mencionada para asegurar que no hay riesgo hacia los consumidores. De igual forma, se realizaron análisis de los extractos naturales para identificar a los compuestos organosulfurados responsables de la disminución de acrilamida en las papas fritas. Las papas resultantes de este tratamiento se analizaron fisicoquímica y sensorialmente para evaluar su aceptabilidad por parte de los posibles consumidores.

Los resultados obtenidos en las dos estrategias permiten conseguir que las papas fritas tipo hojuela contengan acrilamida por debajo del nivel de referencia (750 μg kg^{-1}).

ANTECEDENTES



1. Antecedentes

El consumo de papas fritas es entre 20-21 g y 48-50 g por día en adolescentes y adultos, respectivamente (EFSA, 2015), por lo que es un asunto de interés por las afectaciones a la salud como diabetes, hipertensión, enfermedades cardiovasculares, entre otras debido a su alto contenido en grasas saturadas, azúcares y sodio (PROFECO, 2021). Además de estas afectaciones, en el proceso de freído se generan compuestos como la acrilamida que daña al organismo por su citotoxicidad, carcinogenicidad y respuesta mutagénica (Koszucka y Nowak, 2019; Maan *et al*., 2022).

1.1. Formación de acrilamida en los alimentos

La acrilamida ($H_2C{=}CH{-}CO{-}NH_2$) es un compuesto volátil (amida *α,β*-insaturada) de bajo peso molecular (71.08 g mol^{-1}), está presente en alimentos térmicamente procesados (>120 °C) como productos a base de cereales (galletas, pan, cereales para el desayuno), café, cacao y papas fritas (Koszucka y Nowak, 2019).

En los alimentos existen dos rutas de reacción para la formación de la acrilamida: las reacciones de Maillard y a través de la acroleína. Las reacciones de Maillard involucran la reacción entre un aminoácido como asparagina y azúcares reductores que por la eliminación de agua del azúcar-proteína conjugado se forma la base de Schiff. El producto descarboxilado genera a la acrilamida mediante la eliminación de la imina o después de la hidrolización (Figura 1). El otro precursor de acrilamida es la acroleína que se forma en el calentamiento de aceites en los procesos de freído. A temperaturas superiores a 180 °C, el glicerol se degrada dando lugar a la acroleína, que al oxidarse forma ácido acrílico y este a su vez produce acrilamida (Maan *et al*., 2022).

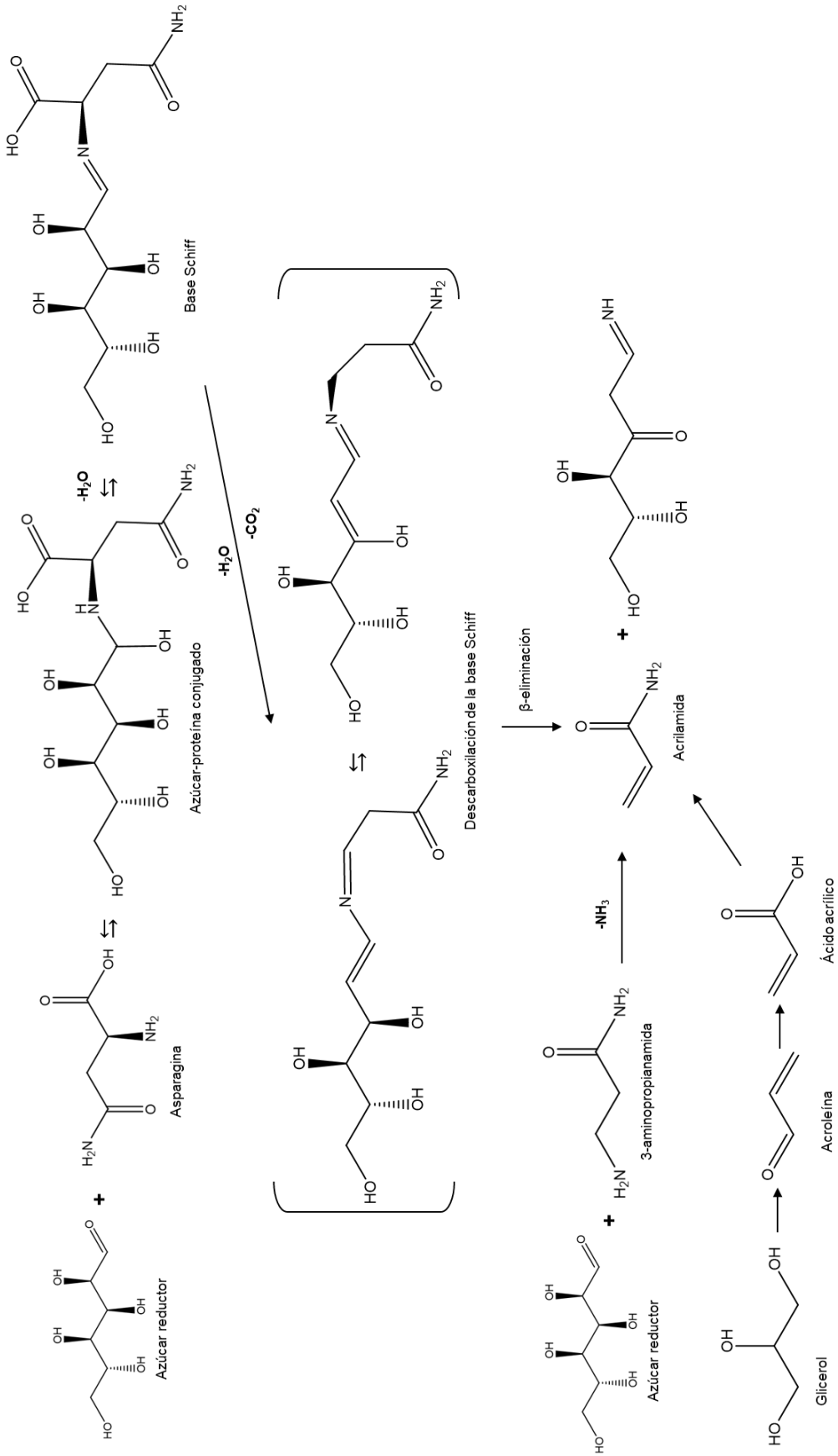


Figura 1. Formación de acrilamida en alimentos. Adaptado de Huber y BeMiller, 2017.

Durante el proceso de freído de papas, cuando la temperatura y otros factores son controlados, la formación de acrilamida está directamente relacionada al tiempo de freído. Por otro lado, se ha observado que la concentración de acrilamida es mayor cuando se utiliza oleína de palma en el freído debido a que contiene entre 6 a 8% de diglicéridos, que da a lugar a la formación de acroleína (precursor de acrilamida), mientras que al utilizar aceites como soya, girasol y maíz la concentración de acrilamida formada fue de aproximadamente 400 µg kg^{-1} (Mestdagh *et al*., 2005; Zhang, 2012).

1.2. Afectaciones a la salud por exposición a la acrilamida

La exposición de acrilamida por alimentos en la población se estima en 0.3-2.0 mg/kg de peso corporal/día, siendo las principales fuentes alimentarias papas fritas (16-30%), papas tipo hojuelas (6-46%), café (13-39%), galletas (10-20%) y pan (10-30%) y 10% por otros productos (Karimi y Rashedinia, 2014).

En las células, la acrilamida es metabolizada por la conjugación con glutatión por tres mecanismos diferentes: (1) no enzimática, (2) enzimática (glutatión-S-transferasa) y (3) reacción de epoxidación mediante el citocromo P-450 CYP2E1 (Figura 2). El metabolito de la reacción es glicidamida que en contraste con la acrilamida eleva la estabilidad de la formación de aductos con el ADN induciendo carcinogénesis (Koszucka y Nowak, 2019). La acrilamida es un compuesto *α,β*-insaturado, que actúa como un electrófilo débil reaccionando con los grupos tiol (R-SH) de aminoácidos, péptidos (cisteína, homocisteína y glutatión) y proteínas (kinesina o dineína). Mientras que la glicidamida es un compuesto electrofílico fuerte que reacciona con los centros nucleofílicos de adenina y guanina en el ADN. En general, la acrilamida provoca cambios en la estructura y función de las proteínas por oxidación, lo que ocasiona daño a las células nerviosas que, en dosis bajas, pero con exposición prolongada podrían causar enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer (Karimi y Rashedinia, 2014). La acrilamida ha sido clasificada en el grupo 2A como posible carcinogénico por la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC, 2025).

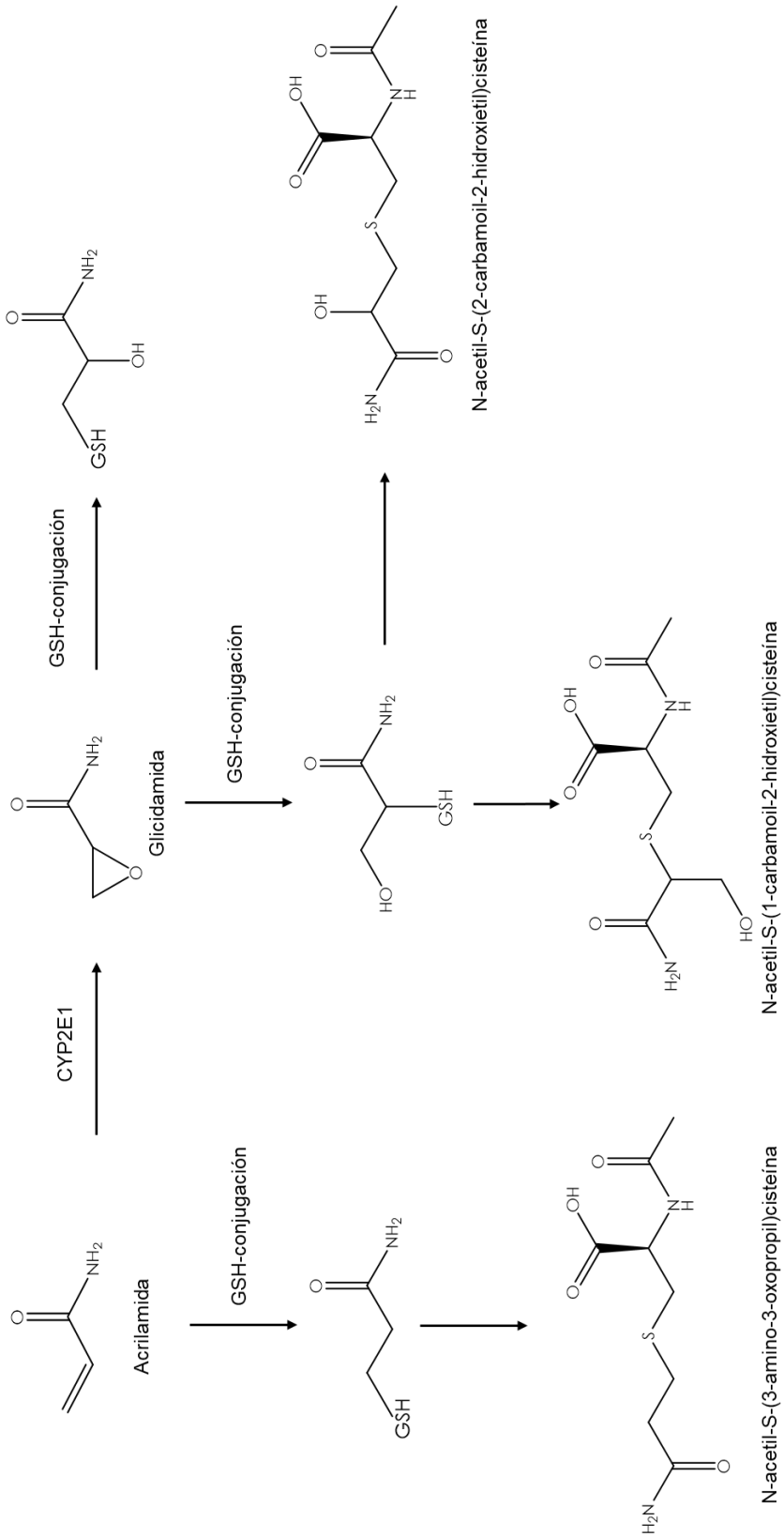


Figura 2. Metabolismo de la acrilamida en el organismo. Adaptado de Koszucka y Nowak, 2019.

Aunque la Autoridad de Seguridad Alimentaria Europea (EFSA) no ha establecido una ingesta diaria tolerable, ha estimado el intervalo en el que la acrilamida presenta efectos adversos: $BMDL_{10}$ de 0.17 mg/kg de peso corporal/día para efectos carcinogénicos y 0.43 mg/kg de peso corporal/día para otros efectos (EFSA, 2015). Derivado de lo anterior, la Unión Europea estableció un valor de referencia de 750 µg kg^{-1} de acrilamida en papas fritas (EU Regulation 2158/2017).

1.3. Métodos de análisis de acrilamida en alimentos

La identificación y cuantificación de acrilamida es compleja debido al su bajo peso molecular, elevada solubilidad en agua, alta reactividad, falta de un cromóforo en su estructura, además que en los alimentos se encuentra en bajas concentraciones (µg kg^{-1}) (EFSA, 2015). De forma general el proceso de determinación de acrilamida consiste en tres etapas (Figura 3): (1) limpieza de la muestra, (2) extracción y purificación y (3) identificación y cuantificación (Sebastià *et al*., 2023).

Figura 3. Proceso de análisis de acrilamida en alimentos. Microextraacción líquido-líquido dispersiva (DLLME), rápido, fácil, económico, eficaz, robusto y seguro (QuEChERS), extracción en fase solida (SPE).

En la etapa de limpieza se elimina los componentes interferentes del alimento, para esto el alimento se tritura o muele y se homogeneiza. El alimento triturado se mezcla con agua o en una solución de agua con un solvente orgánico como metanol. La grasa presente en algunos alimentos se elimina al adicionar hexano u otro solvente para removerla. Las proteínas se eliminan a través de su precipitación con acetonitrilo, metanol, etanol, cloruro de sodio o reactivos de Carrez (ferricianuro de potasio (II) y sulfato de zinc (II)) (Oracz *et al*., 2011; Sebastià *et al*., 2023).

En la etapa de extracción y purificación se han empleado técnicas como microextracción líquido-líquido dispersiva (DLLME), QuEChERS (rápido, fácil, económico, eficaz, robusto y seguro) y extracción en fase solida (SPE).

La DLLME está basada en la diferencia en la solubilidad del analito según las diferentes fases que implica tres fases líquidas: (1) la fase extractante, que es un solvente orgánico insoluble en agua y de alta densidad; (2) la fase dispersante, un solvente orgánico con alta miscibilidad tanto en la fase extractante como en la acuosa; y (3) la fase acuosa, donde se disuelve la acrilamida. La acrilamida es altamente soluble en agua ($3.71x10^2$ g L^{-1}), por lo que, para llevar a cabo la DLLME, la acrilamida es derivatizada previamente con xantidrol (Figura 4a) o compuestos bromados (Figura 4b). Entre los solventes empleados para la extracción se encuentran tetracloroetileno, tetracloruro de carbono, diclorometano y octanona, como solventes dispersantes metanol, etanol y acetonitrilo, y el analito disuelto en agua, soluciones de agua:metanol (80:20) y etanol:KOH (80:20) (Sebastià *et al*., 2023).

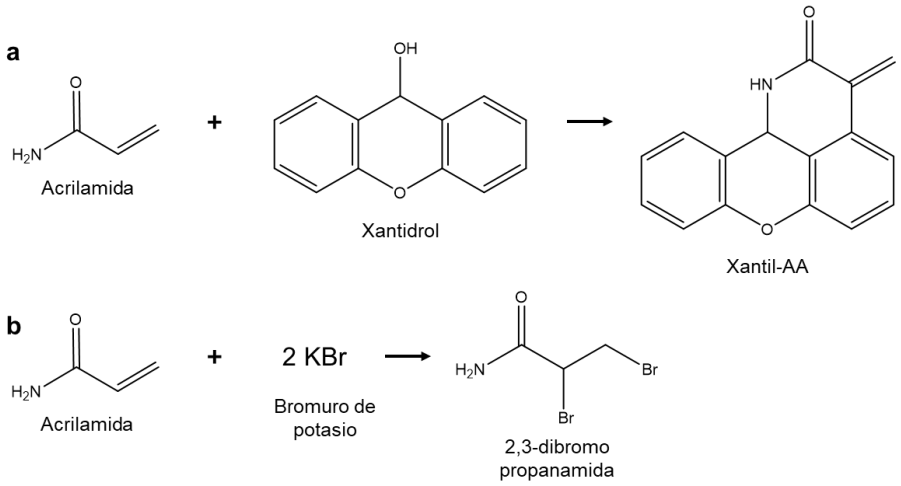


Figura 4. Derivatización de acrilamida con Xantidrol (a) y bromuro de potasio (b). (Molina-Garcia et al., 2015; Negoiță et al., 2020).

El método QuEChERS consiste dos pasos: (1) extracción de la acrilamida de la matriz alimentaria utilizando un disolvente orgánico como el acetonitrilo, en este paso se requiere sales como $MgSO_4$ y NaCl, o citrato disódico dihidratado y citrato trisódico dihidratado. El $MgSO_4$ retiene agua y mejora la recuperación del analito, mientras que el NaCl controla la polaridad entre el agua y la fase orgánica, mientras que las sales de citrato ajustan el pH; (2) limpieza de la muestra, este paso es necesario para eliminar interferentes de la matriz, así como el exceso de agua. Las sales y sorbentes utilizados en este paso son $MgSO_4$, que se utiliza para eliminar el exceso de agua; N-propiletilendiamina (amina primaria secundaria-PSA) que se emplea para eliminar ácidos orgánicos, ácidos grasos, azúcares y pigmentos de antocianina, y el sorbente C18 para eliminar grasas, esteroles y otras interferencias no polares. Por ejemplo, Bertuzzi *et al*. (2017) llevaron este método de la siguiente manera: mezclaron 2 g de muestra homogeneizada con 20.0 mL de agua, 5.0 mL de hexano y 1.0 mL tanto de la solución Carrez I y II. Después agregaron 10.0 g de $MgSO_4$, 1.0 g de NaCl y 10.0 mL de acetonitrilo, analizando el extracto purificado mediante cromatografía de líquidos acoplado a espectrometría de masas. Por otro lado, la extracción con el método QuEChERS conlleva problemas similares al de DLLME, la acrilamida se disuelve más en agua que en acetonitrilo o el metanol, incluso si se emplean como disolventes de extracción. Del mismo modo, las

diferentes sales utilizadas como fase dispersiva no limpian la muestra de otros compuestos polares.

La SPE se utiliza para aislar y concentrar analitos provenientes de medios gaseosos o líquidos mediante la transferencia y retención (sorción) en una fase sólida. Posteriormente, la fase sólida se aísla del medio y los analitos se recuperan mediante elución con un líquido o desorción térmica en la fase gaseosa. El muestreo también se puede realizar mediante la suspensión de un dispositivo SPE adecuado en una fase líquida o gaseosa en un determinado tiempo para alcanzar el equilibrio con la muestra. La SPE ayuda a preconcentrar el analito, limpiar la muestra y a transferir de la matriz de la muestra a un disolvente diferente o a la fase gaseosa (Poole, 2002). La SPE se utiliza en la extracción de acrilamida debido a que ofrece ventajas como cantidades menores de disolvente, tiempo corto de extracción, así como el aislamiento, concentración y purificación del analito (Negoiță *et al*., 2021). El primer paso es mezclar la muestra con un solvente orgánico, agua o la combinación de ambos. La fracción liquida que queda después de centrifugar la mezcla es colocada en los cartuchos de SPE. Agua o metanol son utilizados como eluyentes, mientras que la selección del solvente dispersante o solvente de elución es de acuerdo con el tipo de cartucho. Algunos de los cartuchos empleados en la extracción de acrilamida son ISOLUTE® Multimode (combinación de C18, SO_3^-, $-NR_3^+$), ISOLUTE® ENV^+ (copolímero de poliestireno-divinilbenceno hidroxilado hiperreticulado) (Negoiță *et al*., 2021), cartucho oasis HLB (copolímero de divinilbenceno y N-vinilpirrolidona) (FDA, 2003; Jung *et al*., 2021).

La identificación y cuantificación de acrilamida se lleva usualmente en cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) o cromatografía de gases (GC) acoplado a espectrometría de masas (MS). La principal ventaja de la detección por espectrometría de masas es la selectividad sobre el analito. Sin embargo, por ser técnicas costosas se han utilizado HPLC con detección de arreglo de diodos (DAD), ultravioleta (UV) o GC con detección de captura de electrones (ECD) o ionización de llama (FID) que permiten determinar acrilamida, aunque la sensibilidad sea más baja comparadas con la detección con espectrometría de masas. De igual forma, se han descrito trabajos con electroforesis capilar de

zona (CZE) y cromatografía electrocinética micelar (MEKC), pruebas enzimáticas y recientemente biosensores electroquímicos (EFSA, 2015, Sebastià *et al*., 2023).

Por otro lado, la espectrometría de infrarrojo cercano (NIR) y el análisis de imágenes se utiliza para monitorear los niveles de acrilamida en la producción de alimentos debido a que se ha encontrado relación entre la coloración café y la cantidad de acrilamida en papas fritas y en sistemas modelo (CX/CF 24/17/12; EFSA, 2015).

1.4. Estrategias de disminución de acrilamida en alimentos

Debido a los posibles efectos adversos a la salud de la acrilamida se han desarrollado diversas estrategias para su disminución en alimentos. En caso específico de papa fritas, se incluyen las siguientes estrategias (Figura 5):

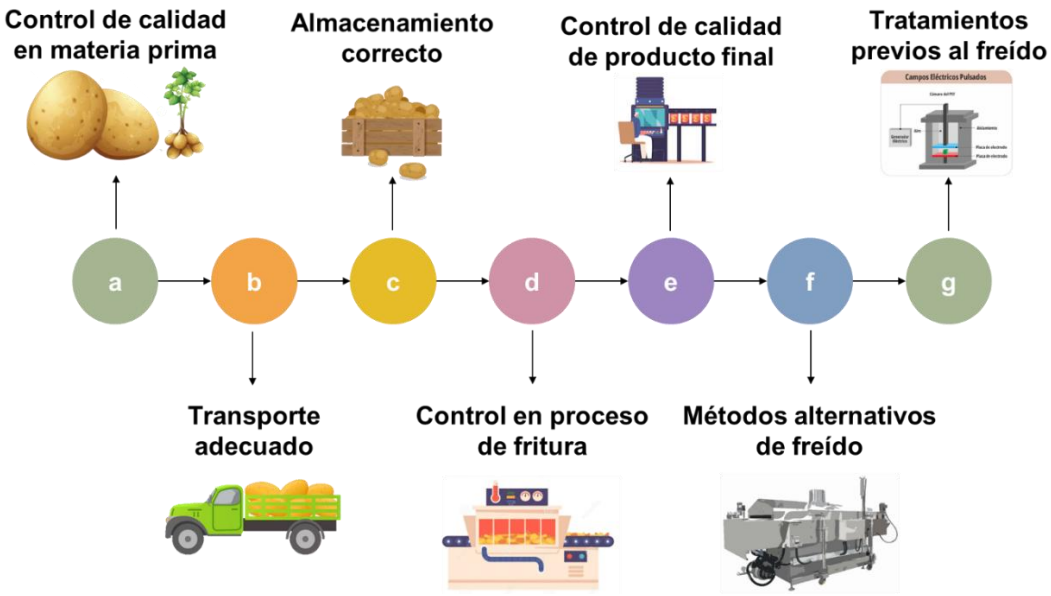


Figura 5. Estrategias para la disminución de acrilamida en papas fritas.

El control de calidad de la materia prima es importante debido a que las variedades de papas, prácticas de cultivo, cosecha y madurez son factores que afectan los niveles de azúcares reductores que están relacionados con la generación de acrilamida. En México las variedades que se utilizan en la

industria alimentaria son Atlantic, FL, Fianna, Snowden y Lady Rosetta (Luque Sainz, 2014). Una vez cosechadas, el transporte de las papas crudas hacia el lugar de producción no debe de ser menor a 6°C para evitar el aumento de los azúcares reductores (FDA, 2016). Asimismo, el almacenamiento de las papas (comúnmente durante otoño e invierno) debe ser a temperaturas entre 6-10 °C, humedad controlada y ventilación (EU Regulation 2158/2017; FDA, 2016).

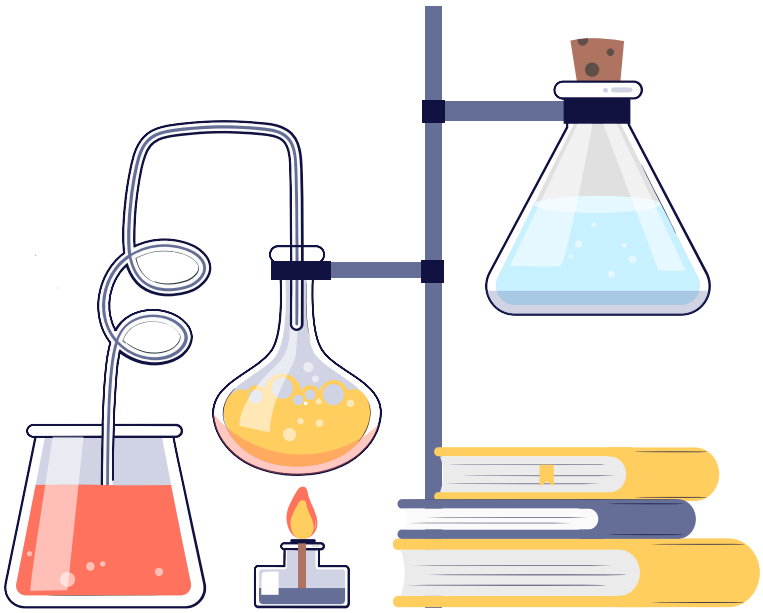
Respecto al control en el proceso de fritura, el espesor de la papa, el lavado previo al freído, la temperatura y el tiempo de freído son variables que pueden controlar la formación de acrilamida (Martinez *et al*., 2019). El freído de las papas debe realizarse entre 160-175 °C por corto tiempo. De igual forma, no saturar el contenedor de la freidora (EU Regulation 2158/2017; FDA, 2016). Posteriormente, se realiza el control de calidad del producto final, es decir, clasificar por color las papas fritas, ya que es un indicador del nivel de acrilamida (FDA, 2016). Algunos métodos alternativos de freído y calentamiento que han sido descritos son: freído al vacío (ej. 0.013 bar, 118 °C, 8 min; reducción del 90%) (Granda *et al*., 2004), precocción por microondas (ej. 850 W, 30 s; seguido de freído a 190 °C por 1.5 min; reducción del 60%) (Belgin Erdoğdu *et al*., 2007), calentamiento por radiofrecuencia (ej. 2 kW, 27.12 MHz, 5 min; reducción del 25%) (Koklamaz *et al*., 2014).

Además de la aplicación de tratamientos previos al freído como campos eléctricos pulsados (ej. 1.5 kV cm^{-1}, duración de pulso 10 µs, tiempo total de tratamiento 10 ms, frecuencia de pulso 100 Hz; reducción del 30%) (Genovese *et al*., 2019; Schouten *et al*., 2020), ultrasonido (ej. 42 °C, 30 min, 35 kHz, 95.2 W kg^{-1}; reducción del 83%) (Antunes-Rohling *et al*., 2018) proceso de escaldado (ej. 70°C, 2 min; reducción del 42%) (Ledbetter *et al*., 2021), y uso de aditivos, por ejemplo, L-asparaginasa (300 U) obtenida de *Fusarium culmorum* redujo en un 78% el contenido de acrilamida (Meghavarnam y Janakiraman, 2018) mientras que obtenida de *Aureobasidum pullulans* ($1x10^8$ células mL^{-1}, 30 min, 25 °C) redujo un 87% (Di Francesco *et al*., 2019), alginato de sodio (1.34%; reducción del 77%) (Liu *et al*., 2020), L-prolina (2%; reducción del 99%) (Bose y Bhattacharjee, 2023), galotaninos (1.25-7.5 mg mL^{-1}; reducción del 33-90%)

(Campo *et al*., 2024), aminoácidos azufrados como cisteína, glutatión, N-acetilcisteína (2%; reducción del 62-70%) (Cerit y Demirkol, 2021).

En este sentido, este proyecto se enfoca en la evaluación de estrategias de control de calidad y tecnológicas en la disminución del contenido de acrilamida en papas fritas tipo hojuela.

OBJETIVOS



2. Objetivos

2.1. Objetivo general

Diseñar estrategias para predecir y disminuir el contenido de acrilamida en papas fritas mediante estudios electroquímicos, teóricos y tecnológicos para el desarrollo de productos de mejor calidad.

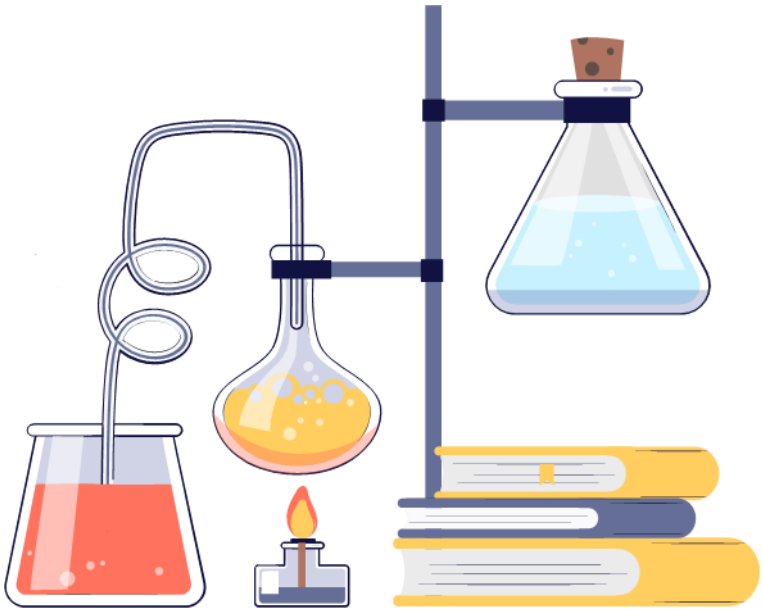
2.2. Objetivos específicos

I. Evaluar la materia prima mediante la combinación de espectroscopia de impedancia electroquímica e inteligencia artificial en la predicción del contenido de acrilamida en papas fritas.

II. Estudiar la reacción entre acrilamida con L-cisteína y L-glutatión como moléculas modelo de tioles a nivel cinético y toxicológico para conocer el fundamento y riesgos de la aplicación de tioles en procesos alimentarios.

III. Evaluar la adición de compuestos organosulfurados extraídos del ajo en procesos de freído de papas para la disminución del contenido de acrilamida.

PREDICCIÓN DE ACRILAMIDA EN PAPAS FRITAS TIPO HOJUELA COMO CONTROL DE CALIDAD



3. Predicción del contenido de acrilamida en papas fritas tipo hojuela como control de calidad

3.1. Antecedentes

La selección de materia prima es primordial en la industria alimentaria. En caso particular del proceso de fritura de papas, la materia prima con la que se trabaja debe tener bajo contenido en precursores de aminoácidos y azúcares reductores para evitar el oscurecimiento de la papa frita que está relacionada con el contenido de acrilamida. Además, la aceptación de la materia prima ha estado evolucionando desde la automatización hasta captura, medición, procesamiento de imágenes, así como el cálculo de superficies de áreas sanas y maltratadas (Pedreschi *et al*., 2012). La composición química de la papa cruda depende del cultivar, zona del cultivo, prácticas agrícolas, madurez en la cosecha y condiciones de almacenamiento. La papa se compone en un 75-80% de agua. El almidón comprende entre el 65-80% (21% amilosa, 75% amilopectina) del contenido de materia seca de la papa. El contenido de azúcares reductores está directamente relacionado con el color final de las papas fritas, influyendo en su contenido las condiciones de almacenamiento y la variedad (Saran y Chhabra, 2014). Las papas con contenido de sólidos entre 20-22% son las preferidas para freír porque se obtiene en una mejor textura, mayores rendimientos y menor absorción de aceite en el producto terminado. Generalmente, papas que contienen más del 0.3% de azúcares reductores no se utilizan para freír, ya que generan coloraciones oscuras durante el proceso de freído que está relacionado con la cantidad de acrilamida (Pedreschi *et al*., 2012).

Diferentes técnicas han sido desarrolladas para la determinación de acrilamida en papas fritas, por ejemplo, HPLC acopladas a espectrometría de masas (Bertuzzi *et al*., 2017; Ferrer-Aguirre *et al*., 2016; Oellig *et al*., 2022), HPLC con detección ultravioleta (Albishri *et al*., 2014; Champrasert *et al*., 2021; Ghalebi *et al*., 2019), HPLC con detección de fluorescencia (Liu *et al*., 2014; Martínez *et al*., 2017); GC acoplado a espectrometría de masas (Kang *et al*., 2020; Molina-Garcia *et al*., 2015), GC con detector de ionización de llama (Ghiasvand *et al*., 2016). De igual forma se ha utilizado espectroscopia de fluorescencia (Hu *et al*.,

2015; Muñoz *et al*., 2022; Rong *et al*., 2021; Wei *et al*., 2020), así como biosensores electroquímicos (Oracz *et al*., 2011).

Además, la acrilamida puede estimarse a partir del contenido de azúcares reductores y aminoácidos durante el almacenamiento, dependiendo del tipo de papa y factores ambientales. Algunos estudios han descrito coeficientes de determinación (R^2) de 0.622 a 0.956 en la correlación entre azúcares reductores y acrilamida, mientras que R^2 de 0.842 en la correlación entre asparagina y acrilamida (De Wilde *et al*., 2005; Halford *et al*., 2012; Olsson *et al*., 2004; Zhu *et al*., 2010).

La espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS) es un método que permite evaluar procesos complejos en una muestra (Chang, 2023) basándose en la excitación de un sistema electroquímico mediante sinusoides eléctricos, registrando la salida del sistema en estado estacionario. Esta técnica se utiliza en el control del procesamiento de alimentos y presenta la ventaja de ser no destructiva y reducir el tiempo de procedimiento (Pershina *et al*., 2013; Soares *et al*., 2020).

La combinación de EIS y quimiometría podría utilizarse para mejorar el monitoreo de la acrilamida durante el proceso de fritura. Las redes neuronales artificiales (ANN) son una herramienta de modelado estadístico no lineal que se ha utilizado para predecir parámetros a partir de diferentes bases de datos en diversas áreas, como la industria alimentaria, la biotecnología y la medicina (Erdős *et al*., 2018). Las ANN se construyen a partir de neuronas distribuidas en capas de entrada, capa ocultas y capa de salida, conectadas entre sí (Gobal *et al*., 2008; Namuduri *et al*., 2020). Si se emplea más de una capa oculta, se denomina red neuronal profunda (DNN) como lo muestra la Figura 6, siendo el aprendizaje profundo (*Deep learning*) una rama del aprendizaje automático (*Machine learning*) que incluye una topología multicapa (profunda) para analizar las relaciones entre las variables de entrada y la variable de respuesta (Montesinos *et al*., 2022a). Por ejemplo, se han aplicado ANN a partir de datos de EIS para identificar y cuantificar azúcares fermentables en la producción de bioetanol a partir de residuos de piña (Conesa *et al*. 2015).

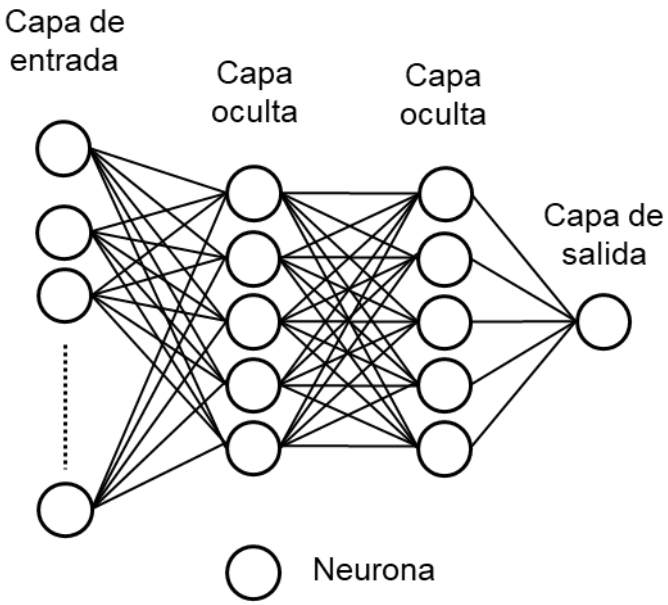


Figura 6. Esquema de la construcción de una red neuronal profunda utilizado para aplicar un modelo de aprendizaje profundo.

Por lo que, en este trabajo se desarrolló una metodología para predecir la concentración de acrilamida a partir del análisis de papas crudas mediante espectroscopia de impedancia electroquímica utilizando un modelo de aprendizaje profundo.

3.2. Parte experimental

3.2.1. Muestras

Diferentes tipos de papas crudas se adquirieron en tiendas locales de la ciudad de Pachuca, Hidalgo, México. Lotes de dieciséis papas diferentes se almacenaron a temperatura ambiente durante cinco semanas (octubre-noviembre de 2024). Cada semana se analizó un lote, por lo que el estudio completo abarcó 80 muestras. Primero, cada muestra se analizó mediante EIS. Después, se frieron 50 g de rodajas de papa (grosor = 1.0-2.0 mm) en 500 mL de oleína de palma a 180 °C durante 7 min. Posteriormente, se determinó el contenido de acrilamida en las papas fritas mediante HPLC-DAD. El análisis se realizó por triplicado. Los datos de EIS obtenidos de papa cruda y las concentraciones de acrilamida en papas fritas se utilizaron para construir un modelo mediante aprendizaje profundo con el fin de predecir la concentración de acrilamida en papas fritas a partir del análisis de papa cruda por EIS.

3.2.2. Análisis por EIS

La EIS y la voltamperometría se han aplicado para analizar muestras de carne utilizando acero inoxidable como electrodos de punción mediante un sistema de dos electrodos: uno como electrodo de trabajo y el segundo como contraelectrodo/electrodo de referencia (De Jesús *et al*., 2014; Labrador *et al*., 2010). En este sentido, en este trabajo se propuso el uso de un conector macho de níquel con cabezal desprendible recto de 2.54 mm de paso (11.0 x 1.0 x 1.0 mm) de Berg Electronics, separados por una distancia de 2.0 mm entre ellos por un material no conductor (Figura 7a). Se utilizó un cable codificador con conectores de un solo pin para conectar el electrodo de punción a un potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT302N (Metrohm, FL, EUA) controlado con Nova 2.1 (Figura 7b). El electrodo de punción se insertó en la papa cruda a una profundidad de 3.0 mm (Figura 7c-7d). La EIS se realizó en un intervalo de frecuencia de 10^1 a 10^5 Hz (registrando 25 puntos en gráfico de Nyquist y en el gráfico de Bode), con una amplitud de modulación de 5.0 mV y un potencial de 0.0 V.

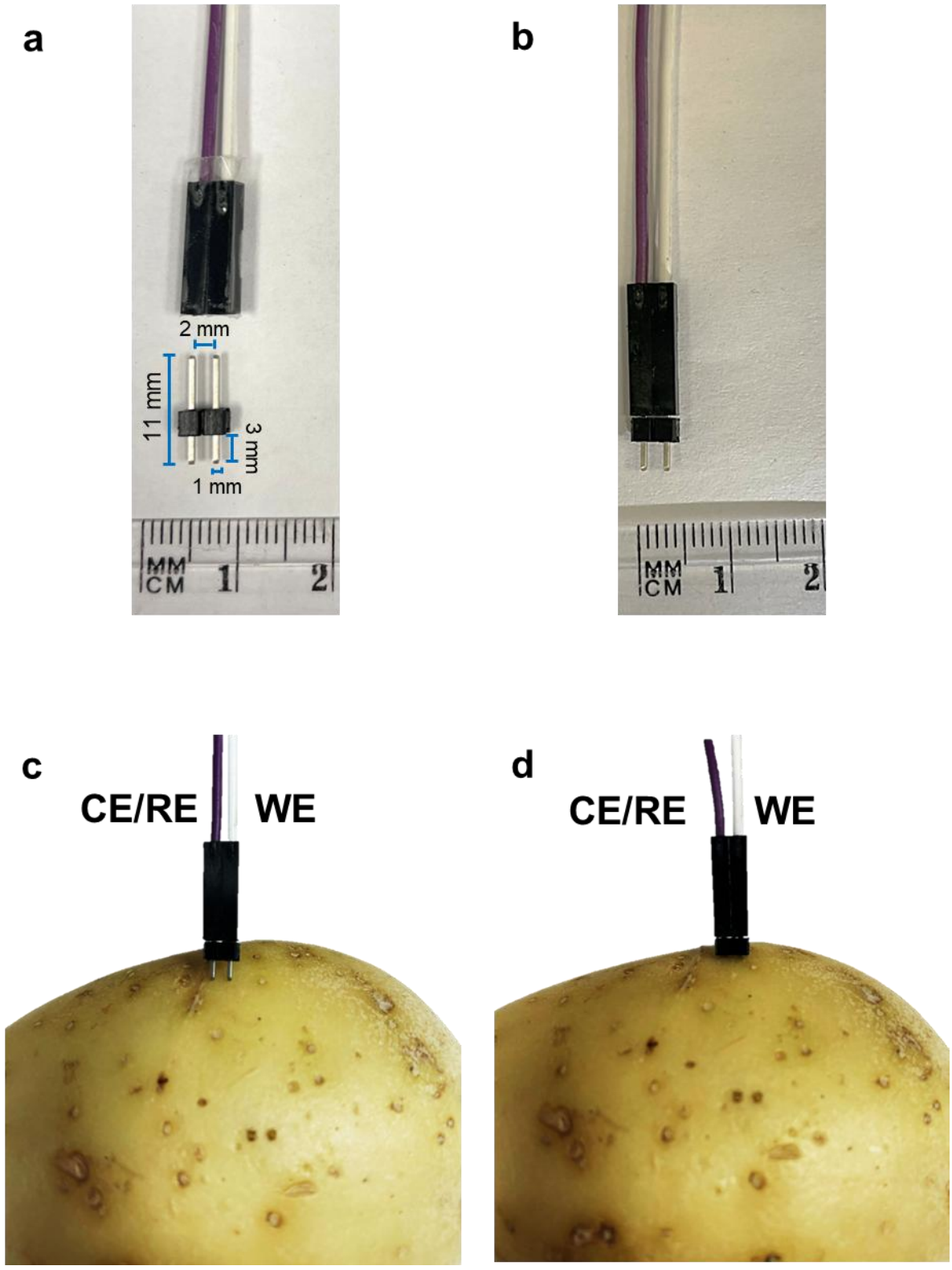


Figura 7. Sistema de electrodo de punción con conector de pines comerciales (a, b). Dos pines se insertaron en la papa cruda (c, d) para el análisis por EIS. Electrodo de trabajo (WE) y contraelectrodo/electrodo de referencia (CE/RE).

3.2.3. Determinación de acrilamida mediante HPLC

El análisis se realizó a través de cromatografía líquida de alta resolución con detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD), Agilent Technologies 1260 Infinity (DE, Alemania) equipado con una columna Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 de 4.6 x 150 mm, 5 µm. Detección ultravioleta ajustada a una longitud de onda de 200 nm. La fase móvil consistió en H_2SO_4 8.0 mM, con un flujo de 0.8 mL min^{-1}. El volumen de inyección fue de 20.0 µL. El equipo fue controlado por el software Agilent Open LAB (Agilent Technologies).

Para la preparación de la muestra, 1.5 g de papa triturada se mezcló con 5.0 mL de metanol, se agitó en vortex por 5 min, posteriormente se centrifugó a 2500 rpm por 15 min. El sobrenadante se evaporó empleando corriente de aire. El residuo obtenido se redisolvió en 1.0 mL de H_2SO_4 8.0 mM. Las soluciones se filtraron a través de membranas de Nylon de 45 µm previo a su inyección en el equipo de cromatografía. Una curva de calibración de estándares de acrilamida se preparó en un intervalo de 250.0-2500.0 µg kg^{-1}.

3.2.4. Análisis de aprendizaje profundo

Los datos obtenidos del análisis por EIS de papa cruda se procesaron mediante un modelo de aprendizaje profundo para predecir la concentración de acrilamida en papas fritas. Cada análisis independiente consistió en 25 observaciones de impedancia a diferentes frecuencias, construyendo el diagrama de Bode (impedancia (Z) *vs*. frecuencia (f)). La impedancia a cada frecuencia se tomó como variable de entrada, mientras que la concentración de acrilamida resultante del análisis por HPLC se consideró como variable de salida. Los datos experimentales se utilizaron para construir la matriz (Tabla 1) aplicada en el modelo de aprendizaje profundo. Se construyó una matriz de 72 x 25 para el conjunto de entrenamiento y una matriz de 8 x 25 para el conjunto de prueba para la evaluación del aprendizaje profundo. El modelo de aprendizaje profundo se desarrolló en el software R, versión 4.3.2, con el paquete *H_2O*. Su arquitectura es la siguiente: función de activación *Rectifier*, dos capas ocultas con cinco neuronas y 180 épocas. Los datos de EIS se estandarizaron previamente con el método de estandarización de mínimos y máximos (Montesinos *et al*., 2022b). El

desempeño del modelo se evaluó mediante el valor del error cuadrático medio logarítmico (RMSLE),

$$\text{RMSLE}=\sqrt{\frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}\left(\log\left(\hat{y}_i+1\right)-\log\left(y_i+1\right)\right)^2}$$

donde *n* es el número total de observaciones, *y* es el valor real y *ŷ* es el valor predicho por el modelo (Bhattacharya *et al*., 2021; Panda *et al*., 2023).

Tabla 1. Matriz de datos de EIS y HPLC utilizados para construir el modelo de aprendizaje profundo.

	Variables de entrada (EIS, papa cruda) Log frecuencia (Hz)					**Variable de salida (HPLC, papa frita)** [AA] (μg kg^{-1})
Muestra	*ƒ*1	*ƒ*2	*ƒ*3	…	*ƒ*i	$[AA]_{HPLC}$
M1	*Z*11	*Z*21	*Z*31	…	*Z*i1	[AA]1
M2	*Z*12	*Z*22	*Z*32	...	*Z*i2	[AA]2
M3	*Z*13	*Z*23	*Z*33	...	*Z*i3	[AA]3
.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.
Mj	*Z*1j	*Z*2j	*Z*3j	...	*Z*ij	[AA]ij

M=muestra, *ƒ*=frecuencia (Hz), *Z*=impedancia (Ω), [AA]=concentración de acrilamida.

3.3. Resultados y discusión

3.3.1. Análisis de papa cruda mediante espectroscopía de impedancia electroquímica

La evaluación de la EIS se realizó directamente en papa cruda mediante el sistema de electrodo de punción de níquel. Este sistema electroquímico permitió el análisis sin necesidad de alterar la muestra. Asimismo, la EIS fue un análisis rápido (5 min por cada muestra) lo cual supone una ventaja en la industria alimentaria, ya que la recepción de la materia prima es una etapa importante en la producción de papas fritas. En el diagrama de Nyquist (Figura 8a) se observó una disminución de la resistencia a la transferencia de carga con el tiempo de almacenamiento. Esto se confirmó en el diagrama de Bode (Figura 8b) a bajas frecuencias. En este caso, la dispersión del sistema electroquímico se observó entre 10^2 y 10^4 Hz. La conductividad eléctrica a través de la papa cruda está asociada a iones como K^+ o PO_4^{3-}, proteínas y ácido ascórbico (Abdalla y Al-Ghamdi, 2011). La aplicación de un campo eléctrico provoca el movimiento de estos iones. A bajas frecuencias, la corriente eléctrica fluye a través del agua extracelular, que presenta un comportamiento eléctrico resistivo. Por el contrario, a altas frecuencias, la corriente eléctrica fluye a través del agua intracelular (menos resistiva). Este fenómeno se conoce como dispersión *β*. En general, la membrana celular impide el flujo de iones, actuando como aislante. Por lo tanto, una papa fresca presenta un valor de resistencia mayor que una papa almacenada debido al daño de la membrana celular y a la maduración (Ando *et al*., 2014; Zelmat *et al*., 2017).

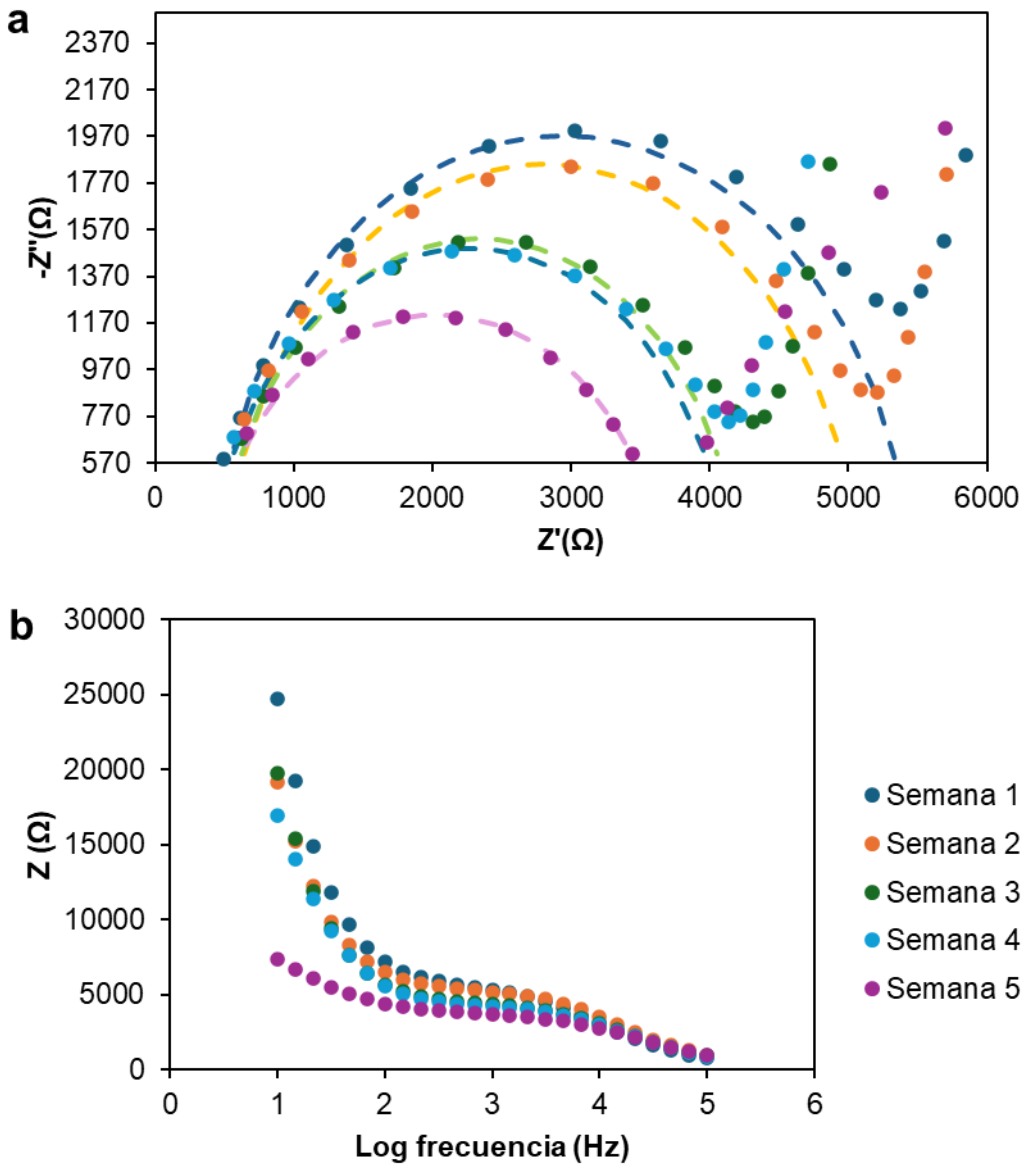


Figura 8. (a) Diagrama de Nyquist y (b) Diagrama de Bode registrados de 10^1 a 10^5 Hz en papas crudas evaluadas durante cinco semanas.

3.3.2. Monitoreo de la concentración de acrilamida durante el tiempo de almacenamiento

La acrilamida en papas fritas se analizó mediante HPLC-DAD, encontrando concentraciones de 327 a 1222 µg kg^{-1} en toda la evaluación (Figura 9). El contenido de acrilamida, así como la dispersión de los datos, aumentó en las papas fritas a lo largo del tiempo de almacenamiento, principalmente en la quinta

semana. Este fenómeno se atribuye al aumento de azúcares reductores durante el almacenamiento y, por lo tanto, al aumento de la formación de acrilamida. Durante el almacenamiento, la papa sufre diferentes procesos (procesos metabólicos, transpiración y respiración), que afectan a su peso. La respiración de la papa aumenta al iniciar la germinación debido a la actividad metabólica y al crecimiento, lo que resulta en pérdida de agua (Wustman y Struik, 2007). Durante la fase de germinación, se produce una escisión de las cadenas de almidón debido a la acción de enzimas (Halford *et al*., 2011), lo que aumenta el contenido de azúcares reductores. El contenido de azúcares reductores en la papa cruda es relevante debido a su implicación en las reacciones de Maillard, que produce acrilamida (Kumar *et al*., 2004).

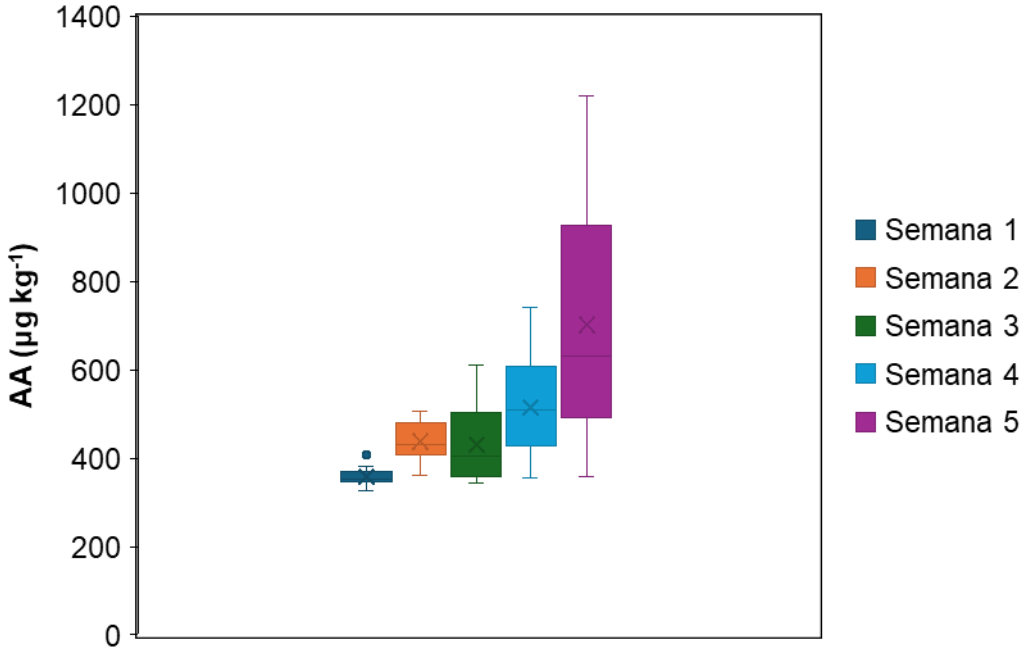


Figura 9. Gráfico de cajas y bigotes de concentración de acrilamida (µg kg^{-1}) en papas fritas durante el tiempo de almacenamiento (evaluación de lotes de dieciséis papas diferentes durante cinco semanas).

Estudios del efecto del almacenamiento sobre el contenido de acrilamida se han llevado a cabo, por ejemplo, Cummins *et al*. (2008) describieron que conforme el tiempo transcurría el contenido de acrilamida incrementó 28 veces cuando las papas crudas se almacenaron durante 15 días a 4 °C. A su vez, De Wilde *et al*. (2005) mencionaron que esta correlación no se observa cuando las papas son

almacenadas a 8 °C (correlación de acrilamida y azúcares reductores =0.84, n=160 a 4 °C). En otro estudio la correlación entre acrilamida y azúcares reductores fue de 0.69 (n=9) (Viklund *et al*., 2010).

3.3.3. Aplicación del aprendizaje profundo en la predicción de la concentración de acrilamida

En este trabajo, se emplearon datos de EIS obtenidos del análisis de papa cruda para generar un modelo que predice la concentración de acrilamida en papas fritas.

Para construir una mejor arquitectura para el modelo de aprendizaje profundo, se exploraron (1) número de épocas, (2) tipos de funciones de activación y (3) número de neuronas con los datos del conjunto de entrenamiento, considerando el valor de RMSLE obtenido como su desempeño. Como primer paso, la función de activación *Rectifier* (como función predeterminada) y dos capas ocultas de cinco neuronas se fijaron y el número de épocas se evaluó. A continuación, 180 épocas y dos capas ocultas de cinco neuronas se fijaron y los tipos de función de activación se evaluaron. Después, 180 épocas y la función *Rectifier* como función de activación se fijaron y se probó el número de neuronas en las capas ocultas. Este procedimiento se realizó de esta forma ya que no hay una guía clara para determinar el número de capas ocultas o el número óptimo de neuronas, el método más común es "prueba y error" (Choldun *et al*., 2020). En todas las evaluaciones, la capa de entrada contenía 25 neuronas (25 variables obtenidas del análisis de EIS). El mejor desempeño se logró con la función *Rectifier* como función de activación, dos capas ocultas de cinco neuronas y 180 épocas (Tabla 2). La función de activación de unidad lineal rectificadora se utiliza para aproximar funciones no lineales arbitrarias, con una constante por debajo del umbral (generalmente cero) y luego un comportamiento lineal ($g_{(z)}$ = máx. (0, z)) (Montesinos *et al*., 2022a).

Tabla 2. Evaluación de la construcción de la arquitectura del modelo de aprendizaje profundo.

Primera evaluación (a)		**Segunda evaluación (b)**		**Tercera evaluación (c)**	
Épocas	RMSLE	Función de activación	RMSLE	Capas ocultas	RMSLE
100	0.043	*Tanh*	0.062	**(5,5)**	**0.050**
120	0.034	*Tanh with dropout*	0.098	(6,6)	0.072
140	0.044	***Rectifier***	**0.060**	(7,7)	0.065
160	0.068	*Rectifier with dropout*	0.100	(8,8)	0.063
180	**0.031**	*Maxout*	0.071	(9,9)	0.065
200	0.042	*Maxout with dropout*	0.182	(10,10)	0.060

Valores fijados: (a) función de activación=*Rectifier*, capas ocultas=(5,5). (b) épocas=180, capas ocultas=(5,5). (c) épocas=180, función de activación= *Rectifier*.

Por otro lado, en la Figura 10 se observa un buen desempeño del modelo de aprendizaje profundo en la predicción de acrilamida a concentraciones menores a 700 µg kg^{-1}. La validación interna del modelo se realizó con el conjunto de prueba. Con la arquitectura desarrollada, la predicción de la concentración de acrilamida se obtuvo en un intervalo de 300 a 700 µg kg^{-1} (t obs. 0.97 < t crit. 2.36, R^2 = 0.96, RMSLE = 0.044). Estos valores están por debajo del nivel de referencia (750 µg kg^{-1}) recomendado por la Unión Europea para papas tipo hojuela, lo que permite un rápido monitoreo de las papas crudas y, al mismo tiempo, previene altos niveles de acrilamida en el producto final.

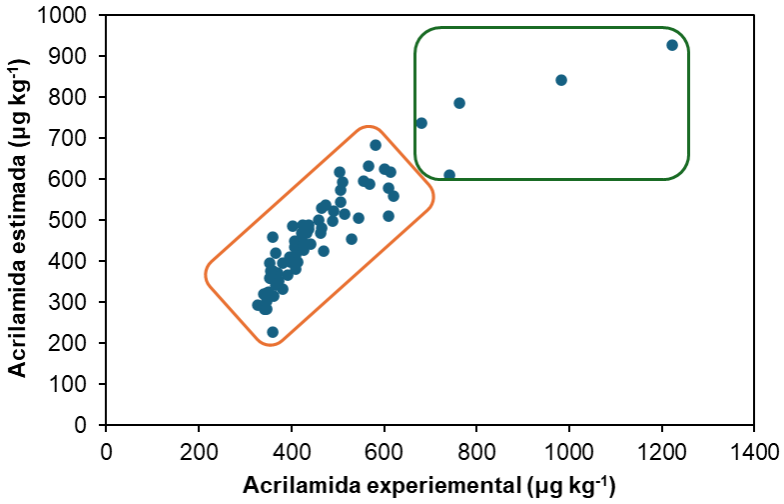


Figura 10. Desempeño del modelo de aprendizaje profundo (comparación de la concentración experimental de acrilamida con la concentración estimada de acrilamida).

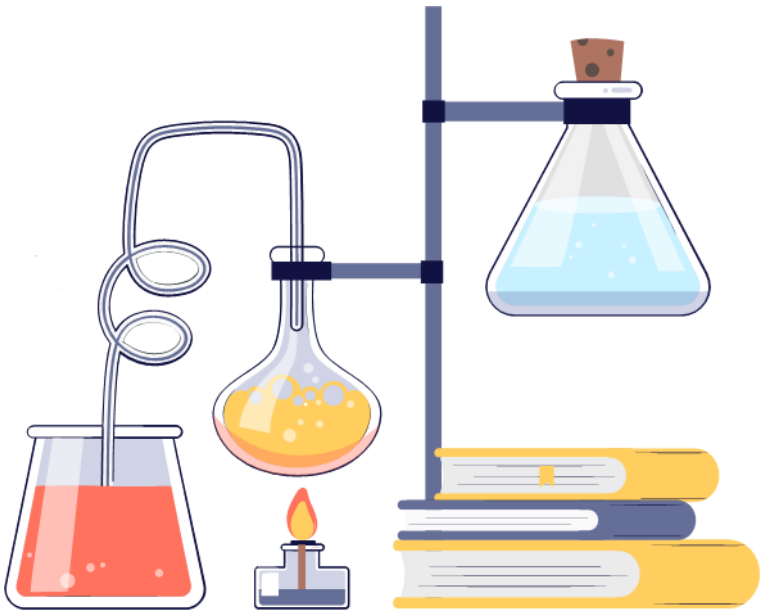
Diferentes estrategias electroanalíticas se han descrito para la determinación de acrilamida en papas fritas, como el análisis voltamperométrico utilizando un electrodo de grafito con nanopartículas de hemoglobina (Aafria y Sharma, 2024), un electrodo de Au con nanopartículas de hemoglobina (Yadav *et al*., 2018), logrando límites de detección (LOD) a niveles de nM. Por otro lado, las redes neuronales convolucionales en combinación con análisis de imágenes y aprendizaje automático combinado con espectroscopia de reflectancia han sido utilizados para clasificar papas fritas de acuerdo con el contenido de acrilamida (Garg y Singla, 2025; Maurya *et al*., 2021; Smeesters *et al*., 2021). Por otra parte, las redes neuronales artificiales de retropropagación se aplicaron para predecir el contenido de acrilamida (14-71 μg kg^{-1}) en masa frita a partir del valor de acidez, color y temperatura del aceite utilizado en el proceso de fritura (Wu *et al*., 2024).

Si bien los electrodos modificados antes mencionados obtienen valores de LOD más bajos para la determinación de acrilamida, la evaluación se realizó en el producto final (papas fritas), mismo caso para el estudio en donde se aplicó el aprendizaje automático. En cambio, la propuesta de este trabajo se centró en la evaluación de la materia prima no sólo para garantizar la calidad de las papas fritas, sino también para ayudar a los fabricantes a tomar decisiones sobre la selección de materias primas.

3.4. Conclusión

En este trabajo se desarrolló un sistema electroquímico para analizar papas crudas mediante EIS. Combinado con un modelo de aprendizaje profundo se logró predecir la concentración de acrilamida en papas fritas en un intervalo de 300 a 700 µg kg^{-1}. A pesar de que el intervalo es limitado, el sistema es capaz de predecir concentraciones de acrilamida por debajo del nivel de referencia (750 µg kg-1) recomendado por la Unión Europea para papas fritas. Aunque las concentraciones estimadas por arriba de 750 µg kg^{-1} fueron inexactas, es posible estimar la concentración de acrilamida superior al valor recomendado. Además, el sistema tiene la ventaja de ser rápido, sencillo, de bajo costo y no requiere tratamiento de la muestra, lo que permite su aplicación en el control de calidad de la materia prima.

EVALUACIÓN DE LA DISMINUCIÓN DE ACRILAMIDA MEDIANTE REACCIONES CON TIOLES Y EL EFECTO TOXICOLÓGICO DE LOS PRODUCTOS



4. Evaluación de la disminución de acrilamida mediante reacciones con tioles y el efecto toxicológico de los productos obtenidos

4.1. Antecedentes

Como se mencionó anteriormente, una de las estrategias para la disminución de acrilamida es la adición de aditivos como aminoácidos con azufre en su estructura. En este sentido, es importante estudiar la reacción de compuestos organosulfurados con acrilamida y los efectos toxicológicos que pudieran presentar en el organismo.

4.1.1. Reacciones de tioles con acrilamida

Los tioles (R-SH), referidos como grupo mercapto, son compuestos que contienen el grupo sulfhidrilo (-SH), análogos de los alcoholes. Los tioles tienen propiedades ácido-base con valores de pKa en el intervalo de 6 a 11, que en medio básico se genera el ion tiolato (Danehy y Parameswaran, 1968). Debido a que los electrones de valencia del azufre están más alejados del núcleo, los compuestos de azufre son más nucleófilos que sus análogos de oxígeno y a su vez son 100 a 300 veces más reactivos que el grupo amino (Claeys *et al*., 2005). En sistemas biológicos y alimentarios, los átomos de azufre son los principales nucleófilos (Augustine y Bent, 2022), por lo que, aminoácidos y péptidos que contienen azufre como cisteína (L-Cys), glutatión (L-γ-glutamil-L-cisteinil-glicina, GSH) y N-acetilcisteína han sido estudiados en modelos glucosa-asparagina para la disminución de acrilamida, debido a que estos aminoácidos pueden reaccionar la acrilamida (Figura 11) mediante la reacción de adición conjugada conocida como adición de Michael formando S-*β*-propionamida (Augustine y Bent, 2022; Cerit *et al*., 2021; Hidalgo *et al*., 2011; Rong *et al*., 2021).

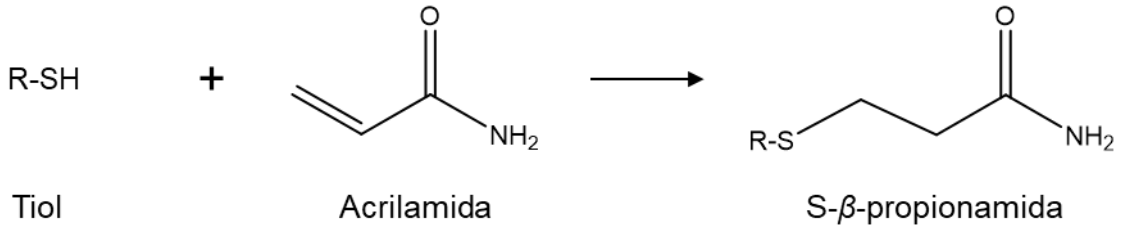
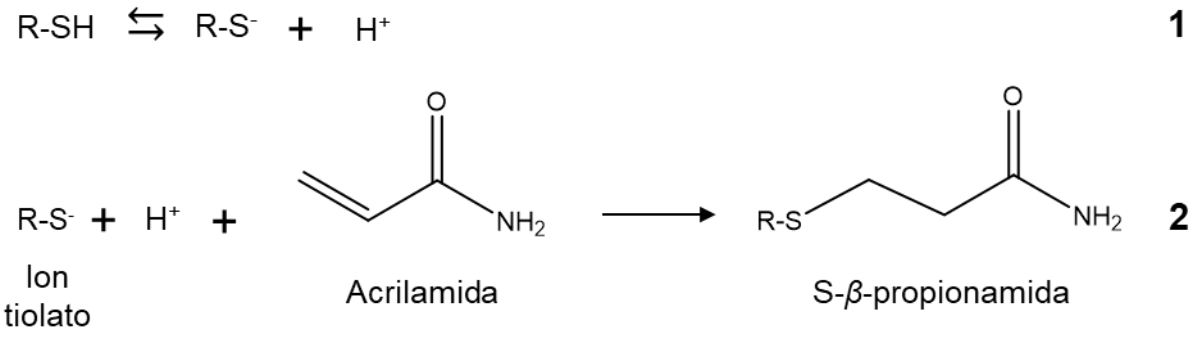


Figura 11. Reacción entre acrilamida con tioles mediante la reacción de adición conjugada 1,4.

En la adición de Michael un ion enolato estabilizado es adicionado al doble enlace de un compuesto *α,β*-insaturado. El carbono *β* es electrofílico debido a que comparte la carga parcialmente positiva del carbono del grupo carbonilo mediante resonancia. Un nucleófilo puede atacar a un compuesto carbonílico *α,β*-insaturado sobre el grupo carbonilo o en la posición *β*. Cuando el ataque es sobre el grupo carbonilo, la protonación del oxígeno da lugar al producto de adición 1,2, añadiéndose el nucleófilo y el protón a átomos adyacentes. Cuando el ataque se produce en la posición *β* resulta en la adición 1,4, es decir, la adición del nucleófilo y un átomo de hidrógeno al doble enlace conjugado con el grupo carbonilo, por lo que la conjugación 1,4 también se denomina adición conjugada (Wade, 2004).

En general la reacción de tioles con acrilamida se basa en dos reacciones como se ha mencionado anteriormente, la primera reacción es la desprotonación del tiol, seguido de la reacción del ion tiolato con la acrilamida (Tong *et al*., 2004):



En la vía de reacción de adición de Michael en medio básico, en donde la base abstrae un protón del tiol generando el ion tiolato, la cinética de la reacción, así

como el rendimiento del producto final, dependen de factores como el valor de pKa del tiol, la accesibilidad estérica del tiol, la electrofilicidad del vinilo, la polaridad y el pH del medio de reacción (Nair *et al*., 2014; Sun *et al*., 2018).

En estudios cinéticos realizados por Friedman (1965) se evaluaron las velocidades de reacción entre tioles (penicilamina, *β*-mercapto-isoleucina, cisteína y glutatión) y compuestos *α,β*-insaturados (acrilonitrilo, acrilato de metilo y acrilamida) a 30 °C en función del pH, el pKa y los entornos estéricos de los grupos funcionales. Al evaluar la velocidad de reacción entre homocisteína y acrilonitrilo (Figura 12) se observó que en exceso del compuesto vinílico el comportamiento correspondía a una cinética de pseudo primer orden respecto a la concentración de acrilonitrilo. En relación con el efecto de la fuerza iónica, entre mayor sea, la velocidad de reacción aumenta. En cuanto al pH, la velocidad aumenta rápidamente con el pH hasta que excede el valor de pKa, donde el comportamiento es asintótico.

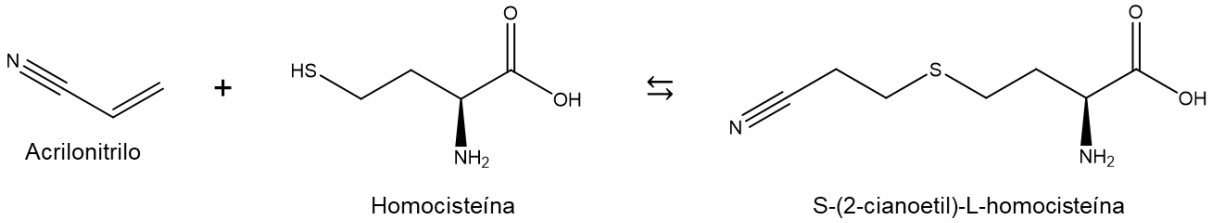


Figura 12, Reacción entre acrilonitrilo y homocisteína mediante la reacción de adición conjugada 1,4.

De forma similar, Kobayashi *et al*. (2014) evaluaron las reacciones entre acrilamida y lisina o cisteína en una concentración de 0.2 mM y 10.0 mM, respectivamente a 60, 80, 100 y 120 °C durante 180 min siguiendo una cinética de primer orden respecto a la concentración del tiol en el intervalo de temperatura evaluado.

Los estudios cinéticos han sido complementados con estudios teóricos para fundamentar el comportamiento de la reacción. Por ejemplo, Bent *et al*. (2015) utilizaron el funcional de intercambio y correlación DFT BVP862 y el conjunto de bases TZVP de Ahlrichs del programa PQS para optimizar las geometrías y energías de la fase gaseosa a 1 atm, mientras que, en fase acuosa se utilizó el

modelo de apantallamiento electrostático COSMO (Figura 13) así como el programa ADF para los cálculos COSMO-RS a dilución infinita y el método Hirshfeld-átomo en molécula para el cálculo de las cargas atómicas en las reacciones de tioles con acrilamida sugiriendo que el grado de formación del anión tiolato es variable y no solo depende de pKa si no que las interacciones del disolvente y los enlaces de hidrógeno pueden ser importantes debido a que es probable que los enlaces de hidrógeno intermoleculares e intramoleculares que estabilizan un estado de transición gaseoso se vean alterados por las moléculas de agua en solución, lo que se suma al aumento relativo de la energía de activación.

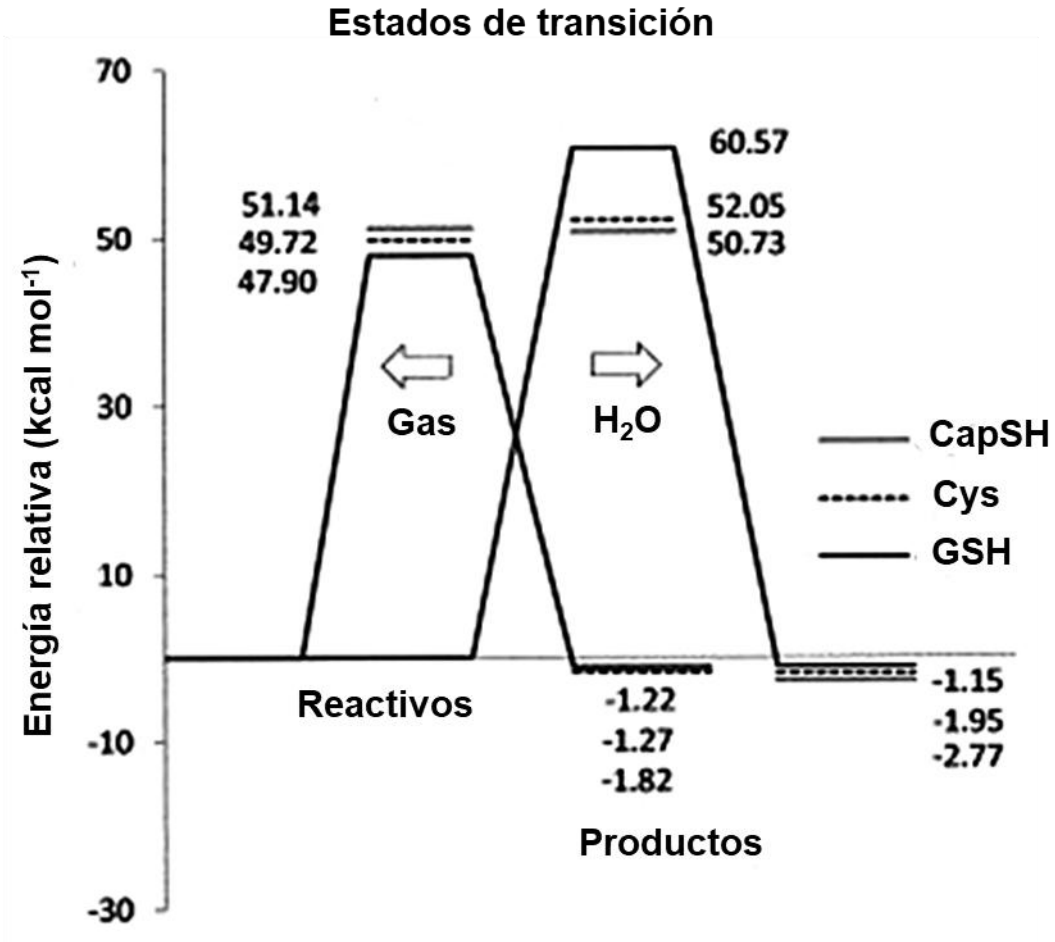


Figura 13. Energía mínima para la reacción de captopril (CapSH), Cisteína (Cys) y glutatión (GSH) con acrilamida en fase gaseosa y solución acuosa (DFT BVP86/TZVP/COSMO). Adaptación de Bent *et al*. (2015).

Estudios de modelos de estados de transición mostraron que tanto los grupos amino como los tioles tienen que aproximarse al doble enlace del compuesto *α,β*-insaturado casi en ángulos recto con el plano de la molécula y que el grupo amino tiene que asumir una orientación más restringida que el anión tiolato en el curso de la formación de los estados de transición. El mecanismo de formación de los dos estados de transición difiere en varias características que energéticamente favorecen el estado de transición del anión tiolato sobre el del grupo amino. A medida que el par de electrones del nitrógeno se acerca al doble enlace, se genera una redistribución energéticamente desfavorable de electrones ya que el doble enlace se está rompiendo. Los orbitales vacíos de antienlace del doble enlace, que están en proceso de asumir una geometría tetraédrica, pueden superponerse con los orbitales del nitrógeno. El anión tiolato tiene dos pares de electrones solitarios después de que se inicia el enlace y el átomo de azufre tiene orbitales 3d vacíos. Si la energía es favorable, los orbitales 3d pueden estabilizar los electrones de alta energía del doble enlace polarizado hacia el átomo de carbono central del compuesto *α,β*-insaturado durante la formación del estado de transición (Friedman *et al*., 1965).

Como se ha mencionado las reacciones entre tioles y acrilamida han sido estudiados ya sea en exceso de acrilamida o en exceso de tioles en sistemas modelo (Augustine y Bent, 2022; Cerit *et al*., 2021; Hidalgo *et al*., 2011; Rong *et al*., 2021). Por otro lado, al ser la acrilamida una amida *α,β*-insaturada (electrófilo débil) reacciona mediante la adición de Michael con los grupos R-SH de las moléculas bioactivas y proteínas (ej. cisteína, homocisteína, glutatión, quinesina, dineína), mientras que la glicidamida (electrófilo fuerte) reacciona con dianas biomoleculares nucleófilas en el ADN (bases nitrogenadas, especialmente la guanina), provocando cambios en la estructura de las proteínas y la función por oxidación, dañando las células nerviosas. (Dearfield *et al*., 1991; Karimi y Rashedinia, 2014). Debido a esto es necesario evaluar la posible toxicidad de los compuestos formados a partir de la reacción entre los tioles y acrilamida fuera del organismo.

4.1.2. Estudios toxicológicos de acrilamida

Por sus efectos nocivos para la salud, la acrilamida ha sido estudiada en diversos modelos ya sea *in vivo*, *in vitro* o recientemente *in silico* (Figura 13).

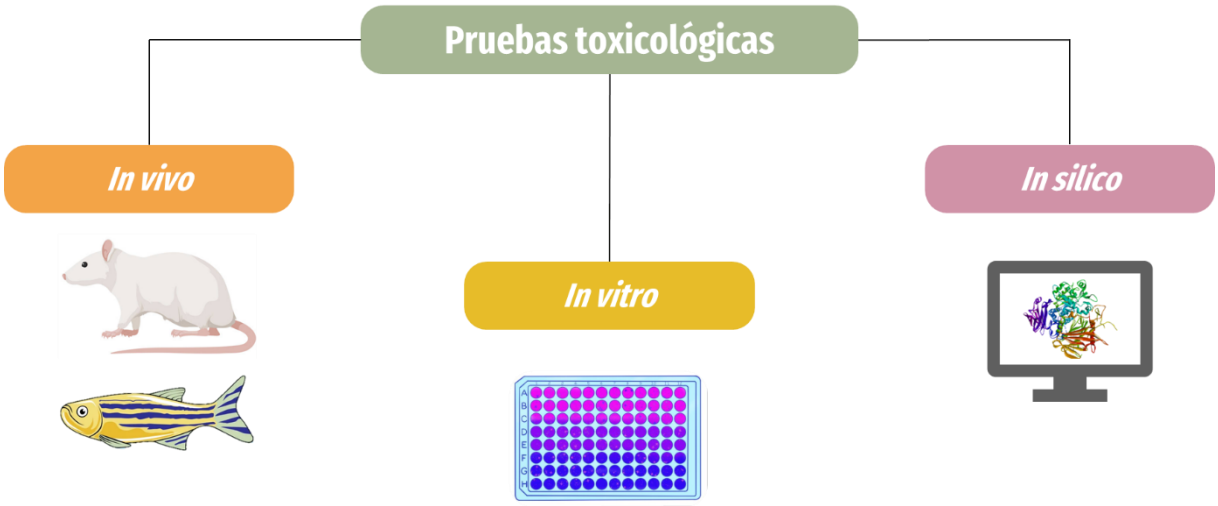


Figura 14. Tipos de modelos para estudios toxicológicos.

Los estudios *in vivo* comúnmente se realizan en ratas Wistar. Por ejemplo, Gupta *et al*. (2024) evaluaron el efecto inhibidor del ácido cafeico sobre la acrilamida en el que tres grupos (6 ratas por cada grupo) se utilizaron para el estudio. El primer grupo fue el control en donde solo se administró solución salina, al segundo grupo se le administró una dosis de acrilamida de 19.13 mg kg^{-1} por 28 días. Mientras que, al tercer grupo se le administró la misma dosis de acrilamida que el segundo grupo más 20 mg kg^{-1} de ácido cafeico por 7 días después de los 28 días de exposición a la acrilamida. Los resultados mostraron que las variables hematológicas como el porcentaje de hemoglobina o hematocritos en las ratas disminuye al estar expuestas a la acrilamida, pero al agregar al tratamiento ácido cafeico se recupera el contenido hasta un 97% del valor encontrado en el grupo control. En las pruebas serológicas, la acrilamida provocó que los niveles de lactato deshidrogenasa y colesterol aumentaran en un 174 y 360% respecto al valor encontrado en el grupo control, respectivamente. En el grupo tres, los valores son cercanos al grupo control. Este comportamiento se observó en el análisis de la acetilcolinesterasa y en el ciclo de glutatión en hígado, riñón y cerebro.

En busca cumplir con los principios de reemplazo, refinamiento y reducción (3R) (Russell *et al*., 1959) se han optado por realizar las pruebas de toxicidad en otros modelos como pez cebra y ranas. Los peces cebra comparten una alta homología con vertebrados a nivel bioquímico y fisiológico (70% con el gen humano), en etapas embrionarias, juveniles y adultas. El pez cebra (*Danio rerio*) presenta la ventaja de tener alto rendimiento por la alta fecundidad, rápido desarrollo larvario (48-72 h), costo mínimo de mantenimiento, y la transparencia de los embriones que permite la visualización no invasiva de las partes internas y sus alteraciones. A su vez, *Xenopus tropicalis* y *Xenopus laevis* son las especies de rana que más se usan en estudios toxicológicos, debido a que presentan homología genética con organismos vertebrados superiores en embriogénesis, organogénesis y fisiología (79% con el gen humano) (Kue y Kumar, 2024).

Como alternativa a realizar pruebas *in vivo* también se han realizado estudios de forma *in vitro*, analizando células para citotoxicidad mediante ensayos de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT), lactato deshidrogenasa, captación de rojo neutro, azul de alamar, formación de colonias, exclusión de colorantes, tinción de proteína sulforodamina B, así como ensayos de genotoxicidad a través de pruebas de Ames, mutación genética o cometa alcalino. Para el caso de evaluación de toxicidad de acrilamida, Pernice *et al*. (2009) cultivaron células Caco-2 (línea celular epitelial humana Caco-2) en medio de Eagle modificado por Dulbecco evaluando 2.5 mM de acrilamida de 24 a 96 h, así como concentraciones de 0.65 a 5.0 mM de acrilamida duran 24 h para observar la dosis-respuesta. Los resultados mostraron que conforme aumentaba el tiempo la acrilamida provocaba una disminución en la actividad de la enzima glutatión-S-transferasa en el ciclo de GSH. Asimismo, 0.1 mM de acrilamida fue la concentración que más afectaba a la actividad enzimática.

Las pruebas de toxicidad *in silico* se llevan a cabo en sistemas computacionales para analizar, simular y predecir la toxicidad de las sustancias químicas. Este método se utiliza para disminuir las pruebas en animales. Algunos de las herramientas que se utilizan son alertas estructurales, aprendizaje automático, relación cuantitativa estructura-actividad (QSAR), extrapolación, estudios

farmacocinéticos y farmacodinámicos, respuestas dosis-respuesta, y vías de resultados adversos (Kue y Kumar, 2024). Atta *et al*. (2025) evaluó el efecto del uso nanopartículas de quercetina para inhibir hepatotoxicidad provocada por acrilamida mediante acoplamiento molecular. Para esto, un análisis de red fue realizado para determinar las interacciones entre los genes y proteínas estudiadas utilizando la base de datos STRING añadiendo la lista de genes objetivo y "rata" como organismo. Los ajustes predeterminados se utilizaron para validar las interacciones basándose en la evidencia de experimentos directos y la coexpresión génica. Los estudios de modelado molecular se llevaron a cabo en UCSF Chimera para la visualización y AutoDock Vina para las simulaciones de acoplamiento. Las estructuras de las proteínas objetivo y la quercetina se prepararon y optimizaron utilizando el paquete de software *Schrodinger's* Maestro. Los sitios activos de las proteínas se identificaron mediante la demarcación de recuadros alrededor de los ligandos cocristalizados para definir los parámetros de acoplamiento. La quercetina se acopló computacionalmente con las estructuras proteicas MAPK (PDB ID: 1A9U) y NLRP3 (PDB ID: 7ALV) mediante el programa AutoDock Vina. Los resultados del acoplamiento molecular se expresaron en función de la energía de enlace y las interacciones específicas entre el ligando y el receptor. El software UCSF Chimera se empleó para visualizar las conformaciones e interacciones del acoplamiento. En el acoplamiento molecular se observó fuertes interacciones entre la quercetina y proteínas de la vía inflamatoria (MAPK, NF-κB, NLRP3), por lo que, las nanopartículas de quercetina contrarrestan la hepatotoxicidad inducida por acrilamida al atenuar el estrés oxidativo, la inflamación y la apoptosis.

Derivado de lo anterior, es importante evaluar la velocidad de reacción entre tioles modelo (cisteína y glutatión) y la acrilamida para valorar la factibilidad de la aplicación de tioles en el freído de papas. De igual forma, estudiar la toxicidad de los compuestos formados a partir de la reacción de adición de Michael fuera del organismo.

4.2. Parte experimental

4.2.1. Evaluación cinética de la reacción entre acrilamida con cisteína y glutatión

La evaluación cinética consistió en dos reacciones diferentes: acrilamida con cisteína (L-Cys-acrilamida) y con glutatión (L-GSH-acrilamida) (Figura 15). Los compuestos tiolados se evaluaron en una concentración de $6.4x10^{-4}$ M (25.0 mL), mientras que la acrilamida se evaluó en una concentración de $1.054x10^{-4}$ M (25.0 mL), ambas preparadas en solución amortiguadora de fosfatos 60.0 mM pH 7.3 (PBS). En un matraz de fondo redondo de dos bocas (125 mL) se mezclaron ambas soluciones, se ajustó la temperatura de reacción (70, 80 y 90 °C) durante 60 min tomando alícuotas de 0.1 mL cada 5 minutos. Cada alícuota se mezcló con 4.0 mL de PBS y 0.5 mL de ácido 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzoico) 5.0 mM (DTNB, preparado en PBS). La mezcla se analizó a una longitud de onda de 412 nm en un espectrómetro Perkin Elmer Lambda 40 (Waltham, MA, EUA) utilizando el software Perkin Elmer WinLab. La constante de velocidad de pseudo primer orden (k_{obs}) se calculó de acuerdo con Tong *et al*. (2004):

$$\ln\left(\frac{[SH]}{[SH]_0}\right) = -k_{obs}t$$

donde [SH] es la concentración de tiol (mol L^{-1}) en cada tiempo y $[SH]_0$ es la concentración inicial de tioles (mol L^{-1}). La concentración de cada tiol para cada tiempo se determinó mediante interpolación en la línea de calibrado para L-Cys y de L-GSH construida en el intervalo de concentraciones de 0.8-20.0 µM.

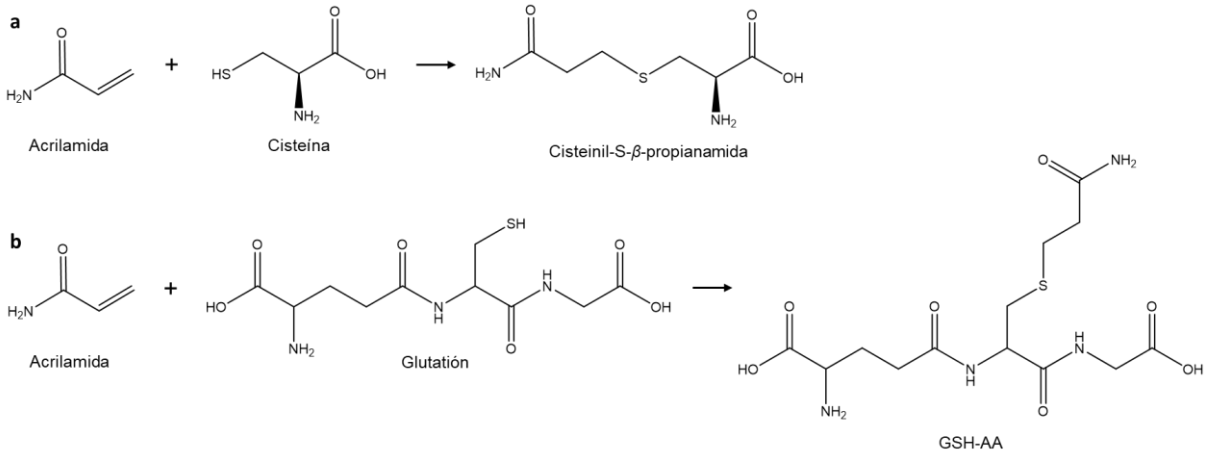


Figura 15. Reacciones de acrilamida con cisteína (a) y glutatión (b) mediante la reacción de adición conjugada 1,4.

4.2.2. Estudios teóricos de la reacción entre acrilamida con cisteína y glutatión

El cálculo de geometrías de reactivos, productos y estados de transición se realizó utilizando los funcionales ωB97XD y PBE (Chai y Head-Gordon, 2008; Perdew *et al*., 1997) con el conjunto de bases 6-311+G** (Francl *et al*., 1982; Krishnan *et al*., 1980; McLean y Chandler, 1980; Spitznagel *et al*., 1987) para ambos funcionales mediante el programa Gaussian16. Todos los cálculos se realizaron en fase gas y con solvente; el solvente se simuló de manera implícita utilizando el método SMD (Marenich *et al*., 2009). Las propiedades estructurales y electrónicas se analizaron mediante potencial de ionización (*I*), afinidad electrónica (*A*), dureza (η) y potencial químico (μ) utilizando las siguientes ecuaciones:

$$I = E^{N-1} - E^{N}$$

$$A = E^{N} - E^{N+1}$$

$$\eta = \frac{I - A}{2}$$

$$\mu = -\frac{I + A}{2}$$

Donde E^{N-1}, E^{N} y E^{N+1} son catión, neutral y anión para cada compuesto, respectivamente, y *N* igual a número de electrones.

Para todos los sistemas, el cálculo de la segunda derivada se realizó para corroborar que los reactivos y productos correspondan a un estado mínimo de energía (estado basal). Para los estados de transición se verificó la presencia de una frecuencia imaginaria que confirma la naturaleza del estado de transición. La visualización de los resultados se realizó con GaussView.

Las estructuras, energías y frecuencias de reactivos, productos y los dos posibles estados de transición se optimizaron y calcularon: el primero correspondiente a un mecanismo radicalario y el segundo a un mecanismo iónico. Los cálculos de los reactivos y productos neutros se realizaron con configuración de capa cerrada (multiplicidad singlete), mientras que los estados de transición del mecanismo radicalario se calcularon con configuración de capa

abierta y multiplicidad doblete. Para obtener valores comparativos de energía, se calculó la energía de estabilización del aducto para ambos mecanismos: radicalario e iónico tras la formación del aducto tiol-acrilamida.

4.2.3. Prueba de toxicidad

4.2.3.1. Síntesis de compuestos R-SH-acrilamida

Síntesis de L-Cys-acrilamida

Para la síntesis de L-Cys-acrilamida, 1.74 g (0.01 mol) de cisteína se mezclaron con 0.78 g (0.011 mol) de acrilamida en 20.0 mL de agua desionizada, ajustándose a un pH de 8.0 con NH_4OH. La mezcla se dejó en agitación por 48 h a temperatura ambiente. El producto de reacción se precipitó mediante la adición de 100.0 mL de acetona, seguido de una centrifugación a 2500 rpm durante 5 min. El sobrenadante se eliminó y se adicionó metanol, posteriormente el metanol se evaporó por aireación, dando un rendimiento del 90 %. Para la identificación del compuesto L-Cys-acrilamida se compararon las señales obtenidas por resonancia magnética nuclear de protón (RMN ^1H) en un espectrómetro Bruker de 400 MHz (Figura 16) con lo descrito en literatura: RMN ^1H δ 2.6 ppm (2 H, t, SCH_2CH_2, C2), 2.8 ppm (2 H, t, CH_2S, C3), 3.05 ppm (1 H, dd, Cys β, C4), 3.15 ppm (1 H, dd, Cys β', C4) y 3.9 ppm (1 H, dd, Cys α, C5) (Calleman *et al*., 1990; Chiari *et al*., 1990).

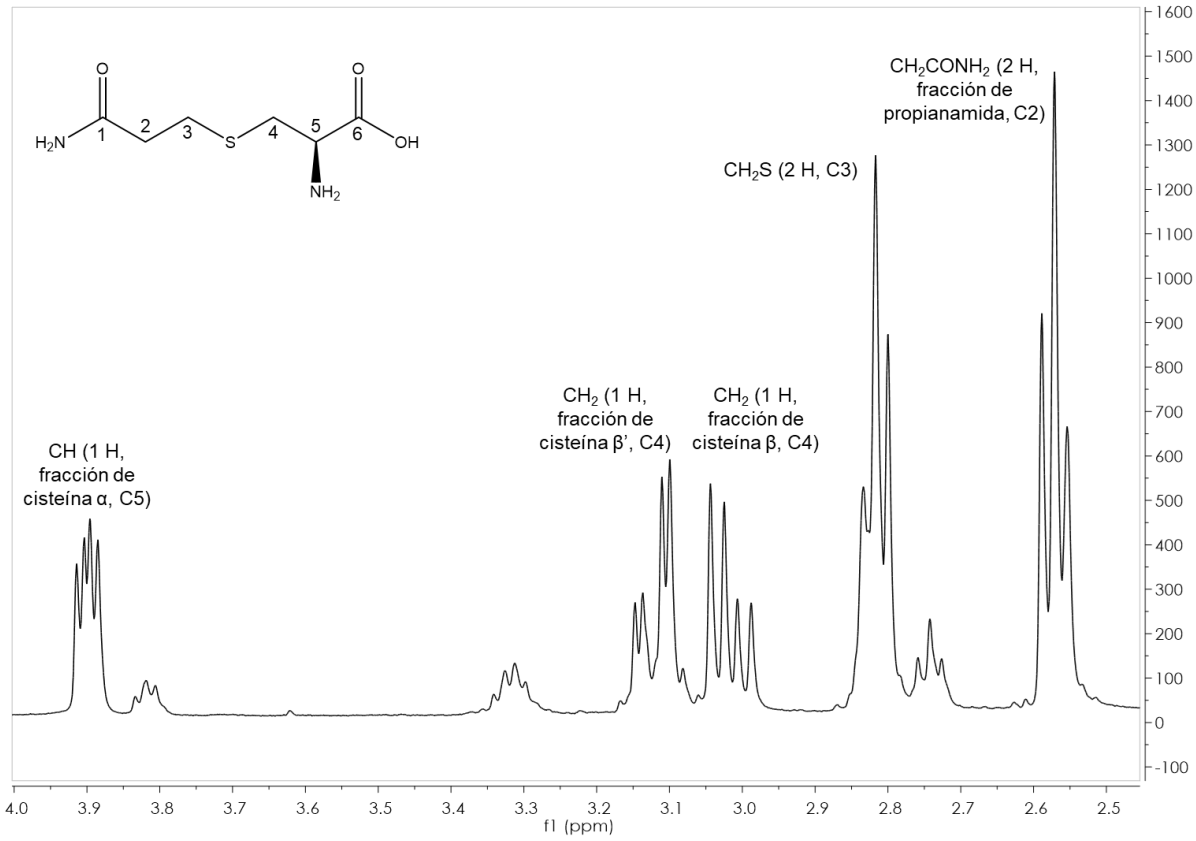


Figura 16. Espectro de ^{1}H RMN del compuesto de L-Cys-acrilamida.

Síntesis L-GSH-acrilamida

Para la síntesis de L-GSH-acrilamida, 1.0 g (0.003 mol) de L-GSH se mezcló con 0.2317 g (0.003 mol) de acrilamida en 20 mL de agua desionizada, ajustándose a un pH de 10.0 con $NaHCO_3$. La mezcla se dejó en agitación por 24 h a 45 °C. El producto de reacción se precipitó mediante la adición de 100.0 mL de acetona, seguido de una centrifugación a 2500 rpm durante 5 min. El sobrenadante se eliminó y se adicionó acetonitrilo, posteriormente el acetonitrilo se evaporó por aireación. Dando un rendimiento del 70 %. Para la identificación del compuesto L-GSH-acrilamida se compararon las señales obtenidas por RMN ^{1}H en un espectrómetro Bruker de 400 MHz (Figura 17) con lo descrito en literatura: RMN ^{1}H δ 2.23 ppm [m, 2H, CH, C(3)], δ 2.58 ppm [m, 4H, 2xCH, C(4) y C(12)], δ 2.82 ppm [t, 2H, CH, C(11)], δ 2.89 ppm y 3.06 ppm [2xdd, 2H, CH, C(10)], δ 4.01 ppm

[s, 2H, CH, C(8)], δ 4.08 ppm [t, 1H, CH, C(2)], δ 4.58 ppm [t, 1H, CH, C(6)] (Luo *et al*., 2015; Pernice *et al*., 2009).

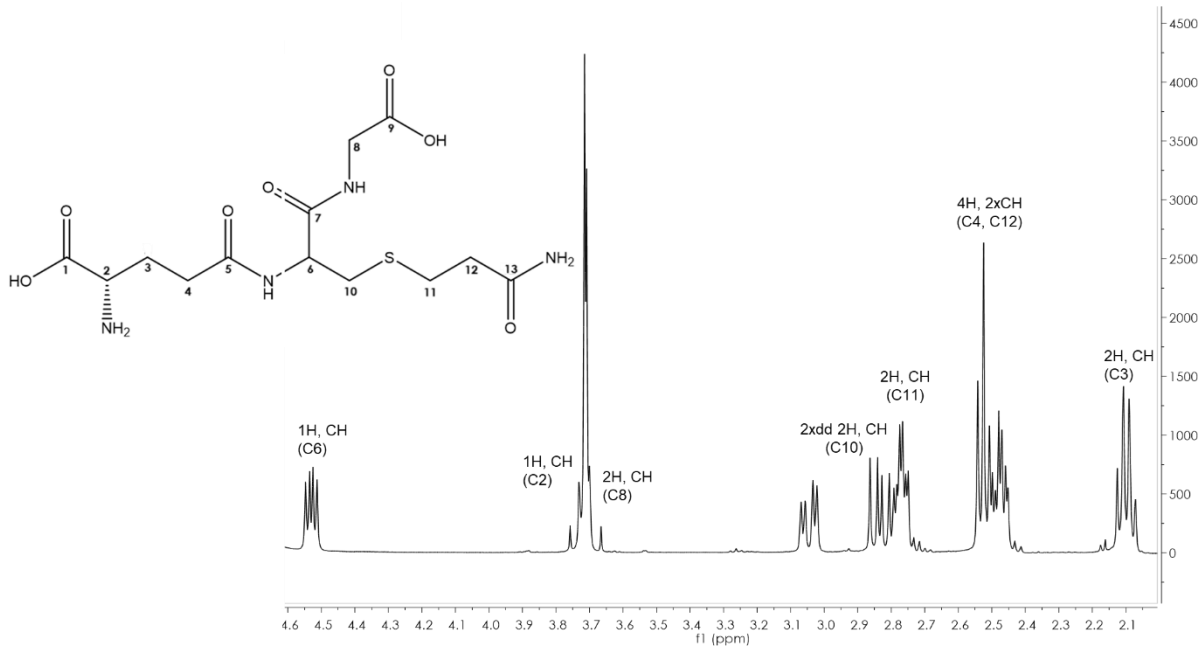


Figura 17. Espectro de ^{1}H RMN del compuesto L-GSH-acrilamida.

4.2.3.2. Estudio de toxicidad de los compuestos R-SH-acrilamida en pez cebra

La prueba de toxicidad se llevó a cabo en embriones de pez cebra (*Danio rerio*) entre 1-2 horas post fertilización (hpf). Las concentraciones analizadas fueron 0.2, 0.4, 0.5, 0.7, 0.9 y 1.0 g L^{-1} de R-SH-acrilamida. La prueba se realizó en una placa de 96 pocillos de material inerte con fondo transparente. 12 pocillos por concentración con un embrión por cada pocillo, asimismo, se dispuso de 12 pocillos control en un volumen de 200 µL. Las soluciones se prepararon en agua esterilizada por osmosis, ajustando su salinidad a 686 µS y pH 7.05. La placa se mantuvo a una temperatura controlada de 28.5 °C con un fotoperiodo de 10 horas de oscuridad/14 horas de luz.

4.3. Resultados y discusión

4.3.1. Evaluación cinética de la reacción entre acrilamida con cisteína y glutatión

La determinación de compuestos tiolados se basa frecuentemente en el uso de ácido 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzoico) (DTNB). La reacción entre el compuesto tiol y el DTNB forma al ácido 5-tio-2-nitrobenzoico (TNB) de color amarillo (Figura 18), medible a λ=412 nm (Mansor *et al*., 2016; Sahoo *et al*., 2017). Por lo que, conforme avanza la reacción R-SH-acrilamida el color amarillo se desvanece.

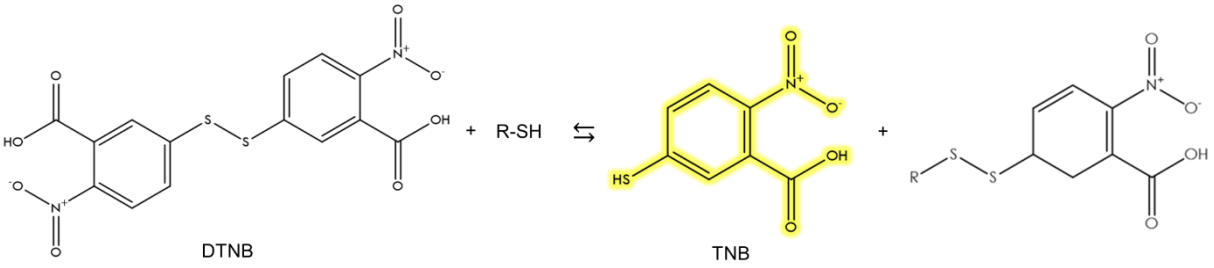


Figura 18. Reacción entre DTNB y tioles.

Las reacciones L-Cys-acrilamida y L-GSH-acrilamida se analizaron experimentalmente a diferentes temperaturas y a un pH de 7.3 (Figura 19). Los datos se ajustaron a una reacción de pseudo primer orden ($R^2 > 0.9542$), es decir, dependiente de la concentración de tioles presente en la reacción, se ha descrito un comportamiento similar con respecto a acrilamida en este tipo de reacción (Bent *et al*., 2015). A partir de esta información, se calcularon las constantes de velocidad de reacción, obteniendo constantes de reacción mayores con L-GSH que con L-Cys (Tabla 3). Estos valores se encuentran dentro de lo observado por otros estudios ya que dependen tanto de la concentración del compuesto tiol como de la temperatura. Las constantes de velocidad de estas reacciones son afectadas por el valor de pH, a medida que el pH aumenta, el grupo tiol se ioniza progresivamente, por lo que la concentración del anión tiolato incrementa (Bent *et al*., 2015; Tong *et al*., 2004), en este caso la cisteína tiene un pKa de 8.1-8.3 (Gálvez Mariscal *et al*., 2006; Damodaran, 2017), mientras que el pKa del glutatión está en 8.56 (Danehy y Parameswaran, 1968). La alta reactividad del anión tiolato resultante da lugar a una reacción rápida, incluso en presencia de trazas de especies próticas, como el agua (Nair *et al*., 2014).

Asimismo, conforme la temperatura aumenta así también el valor de la constante. Además, la energía de activación (Ea), calculada mediante la ecuación de Arrhenius, fue de 62.19 y 30.05 kJ mol^{-1} para las reacciones L-Cys-acrilamida y L-GSH-acrilamida, respectivamente. La Ea de las reacciones acrilamida con cisteína y glutatión está determinada no solo por la presencia simultánea de grupos amino y tiol en la misma molécula, sino también por la distancia entre ellos, cuanto más cercanos estén los grupos, mayor será la interacción entre ellos, lo que facilita la eliminación de la acrilamida. En este caso, el glutatión reacciona más rápido con la acrilamida que la cisteína debido a que existe una disminución de los enlaces de hidrógeno intramoleculares en glutatión-acrilamida debido a un mayor número de interacciones intermoleculares con las moléculas polares del disolvente agua (Bent *et al.*, 2015).

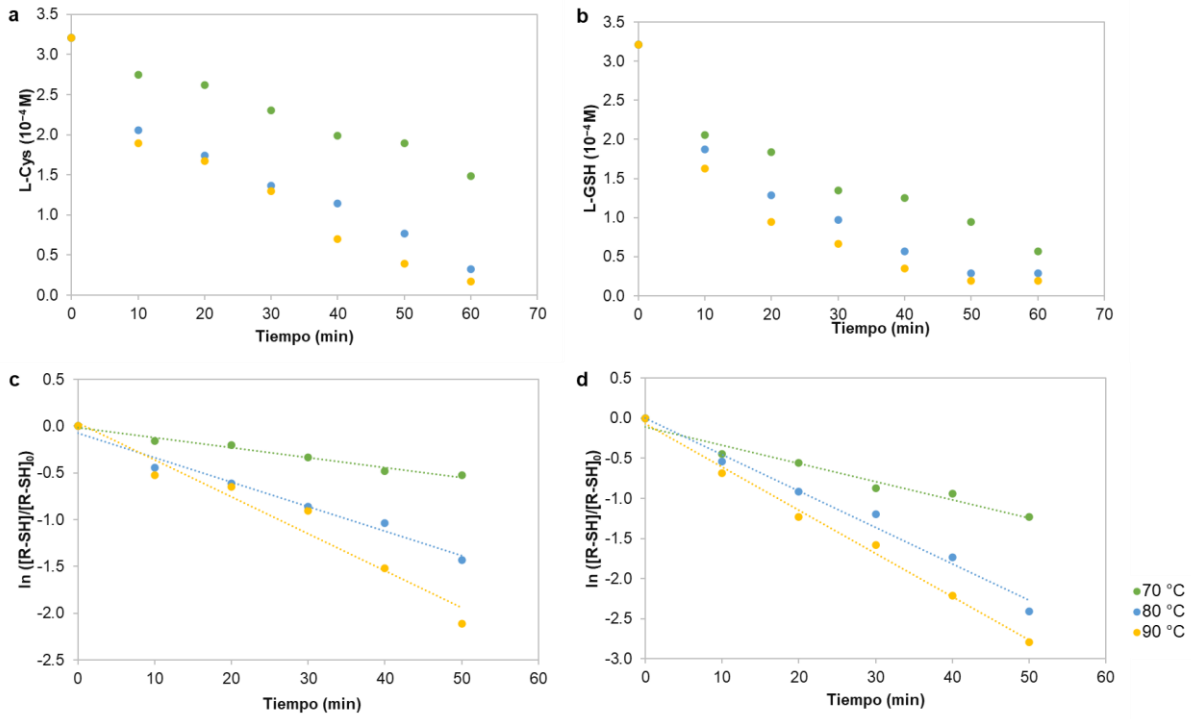


Figura 19. Parámetros de la cinética de reacción de (a) L-Cys y (b) L-GSH con acrilamida a pH 7.3 y diferentes temperaturas. Las constantes de velocidad de pseudo primer orden (k_{obs}) se determinaron con los gráficos ln ([R-SH]/[R-SH]$_0$) vs. tiempo para L-Cys (c) y L-GSH (d).

Tabla 3. Constantes de velocidad de pseudo primer orden (10^{-4} s^{-1}) para las reacciones de L-Cys y L-GSH 6.4x10^{-4} M con acrilamida 1.054x10^{-4} M a diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	L-Cys	L-GSH
70	1.98 ± 0.37	4.33 ± 0.11
80	4.37 ± 0.21	5.84 ± 0.67
90	6.57 ± 0.26	7.73 ± 0.46

4.3.2. Estudio teórico de la reacción entre acrilamida con cisteína y glutatión

Los estudios computacionales se llevaron a cabo con el fin de verificar el mecanismo de reacción entre acrilamida y tioles. La reactividad global se evaluó a través de los descriptores: potencial de ionización (*I*), afinidad electrónica (*A*), dureza (η) y potencial químico (μ). El compuesto con el menor valor de *I* fue L-GSH con 9.2 eV, lo que indica que este compuesto es el más fácil de oxidar, seguido de L-Cys con 9.4 eV. La acrilamida presentó el mayor valor de *A* (-0.8 eV), lo que indica su capacidad para aceptar electrones. Estos resultados sugieren que en la reacción propuesta acrilamida-tiol, la acrilamida actúa como aceptor de electrones, mientras que L-Cys y L-GSH actúan como donantes de electrones. Según la teoría de Pearson (2005), los reactivos necesitan tener valores similares de η para reaccionar entre sí. En este caso, los valores de dureza de estos compuestos muestran una diferencia de 0.1-0.3 eV entre los reactivos (Tabla 4).

Tabla 4. Descriptores de reactividad DFT global en eV.

Compuesto	*I*	*A*	η	μ
Acrilamida	9.9	-0.8	5.3	-4.5
Glutatión	9.2	-0.9	5.0	-4.1
Cisteína	9.4	-1.3	5.4	-4.1

La reactividad local se analizó a través de los orbitales moleculares y las funciones de Fukui f^+, f^- y f^0. La Figura 20a muestra los gráficos de orbitales frontera de los reactivos involucrados en las reacciones estudiadas. Los orbitales más relevantes fueron el orbital LUMO de la acrilamida ubicado a lo largo de los orbitales π deslocalizados o grupo vinilo y los orbitales HOMO de L-Cys y L-GSH

ubicados en el átomo de azufre del grupo tiol. Estos resultados son consistentes con el mecanismo propuesto de un ataque nucleofílico inicial del tiol sobre el grupo vinilo (Augustine *et al*., 2021). Por otro lado, las funciones de Fukui permiten identificar áreas locales susceptibles a ataques electrofílicos (f^-), nucleofílicos (f^+) y de radicales libres (f^0). En la Figura 20b, las funciones de Fukui se muestran en colores verde y azul para las partes positiva y negativa de la función, respectivamente. En el caso de la acrilamida, la mayor parte de la función de Fukui f^- se encontraba sobre el átomo de oxígeno, lo que indica que el oxígeno es susceptible a ataques electrofílicos. Sin embargo, en las moléculas de L-Cys y L-GSH, las superficies de Fukui estaban dispersas sobre la molécula, por lo que no se visualizó una zona susceptible específica a ataques nucleofílicos. Por otro lado, La función f^+ de la acrilamida se ubicó sobre el carbono β, mientras que las funciones de Fukui f^- para L-Cys y L-GSH se ubicaron sobre el azufre, lo que sugiere la capacidad de estas moléculas para reaccionar como nucleófilos con átomos de carbono β de la acrilamida. Las funciones de Fukui f^0 mostraron la superficie ubicada en los átomos de azufre de L-Cys y L-GSH, siendo susceptibles a ataques de radicales libres. Mientras que, en la acrilamida, la función de Fukui indicó que los radicales libres se dispersaron alrededor de la molécula.

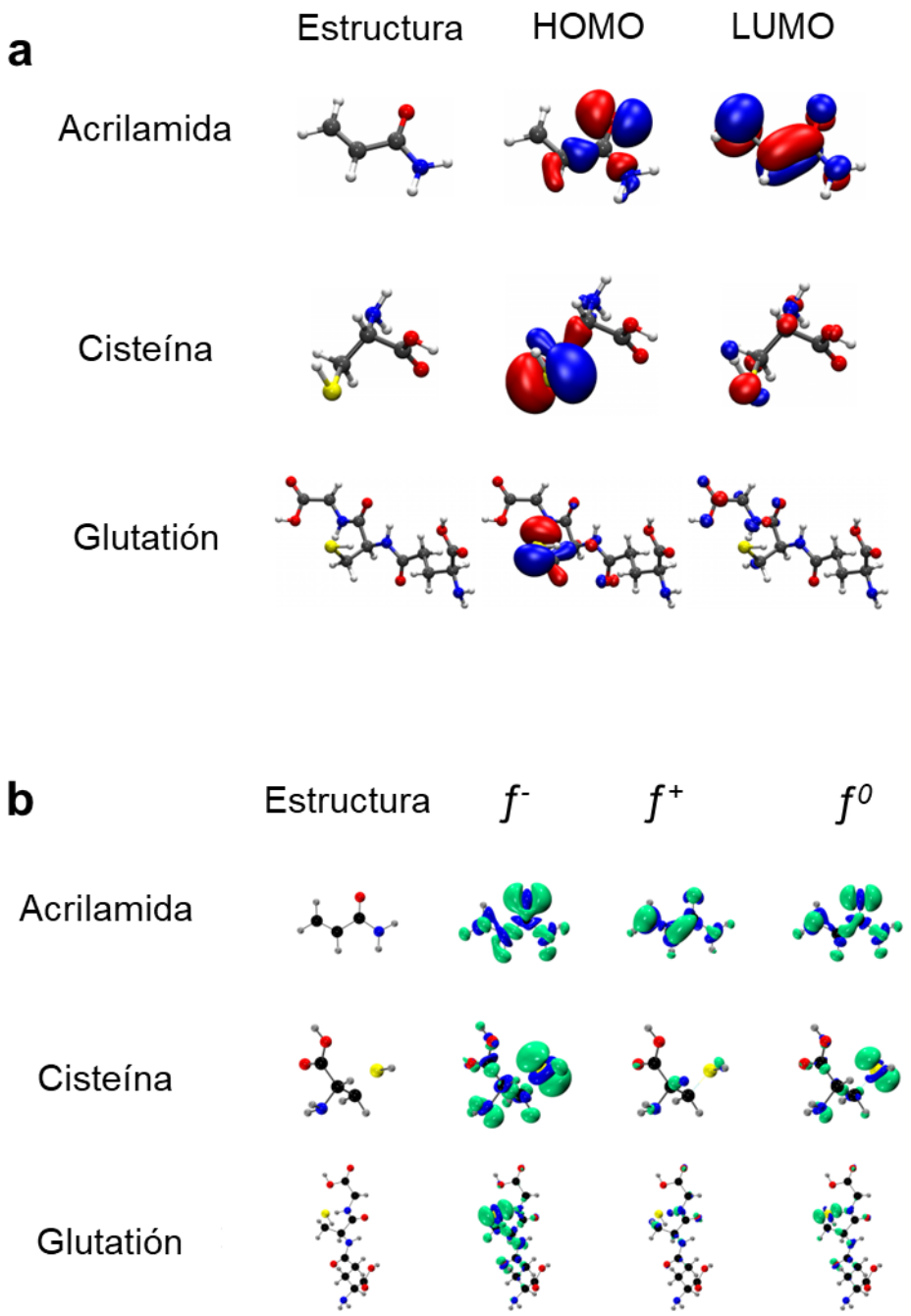


Figura 20. (a) Orbitales moleculares frontera y (b) funciones de Fukui de los compuestos estudiados.

Este estudio también analizó la naturaleza de la ruptura de enlaces S-H, seguidas de la formación de aductos de Michael (Bent *et al.*, 2015) con estabilización por la migración del hidrógeno del azufre al carbono *α*. Este paso se puede observar mediante dos vías (iónica y radical) siguiendo la aproximación del estado de transición con las especies aisladas para determinar la naturaleza

electrónica de la migración de hidrógeno y comprender la cinética en la formación de aductos de Michael. Los resultados energéticos de los reactivos, productos y ambos estados de transición iónico y radical obtenidos se presentan en la Tabla 5 para las reacciones entre L-Cys-acrilamida y L-GSH-acrilamida. En general, la reacción de acrilamida con glutatión presenta las menores energías Gibbs, estos resultados son comparables con lo obtenido en las pruebas de velocidad de reacción.

Tabla 5. Termodinámica de reacciones de acrilamida con L-Cys y L-GSH en kcal mol^{-1}.

Estado de transición	Tiol	Método	ΔE	ΔH	ΔG
Radical	L-Cys	wB97XD	75.3	72.0	75.0
Iónico	L-Cys	wB97XD	351.4	347.4	351.2
Radical	L-Cys	PBE (SMD)	70.0	67.1	72.5
Iónico	L-Cys	PBE (SMD)	159.1	155.4	160.0
Radical -Z	L-Cys	PBE (SMD)	70.5	67.5	71.7
Iónico-Z	L-Cys	PBE (SMD)	152.9	150.3	155.9
Radical	L-GSH	wB97XD	63.5	60.2	69.0
Iónico	L-GSH	wB97XD	290.9	287.8	296.1
Radical	L-GSH	PBE (SMD)	68.2	64.9	71.7
Iónico	L-GSH	PBE (SMD)	160.8	157.3	162.5
Radical -Z	L-GSH	PBE (SMD)	68.4	65.0	70.5
Iónico-Z	L-GSH	PBE (SMD)	160.8	157.1	161.7

R = radical, Ion = iónico, Z = zwitterión, ΔE = energía total a 0 K, ΔH = entalpía a 298 K, ΔH = entalpía libre de Gibbs a 298 K.

Ambas reacciones fueron exotérmicas a 298 K, ya que los valores de ΔH fueron -18.8 kcal mol^{-1} para la reacción L-Cys-acrilamida y -28.5 kcal mol^{-1} para la reacción L-GSH-acrilamida. Así como reacciones exergónicas a 298 K con valores de ΔG de -8.3 kcal mol^{-1} para L-Cys-acrilamida y -9.5 kcal mol^{-1} para LGSH-acrilamida. La Figura 21 muestra la gráfica de un orbital molecular

ocupado individualmente (SOMO) para los compuestos formados a partir de L-Cys y L-GSH en forma de radical libre. En ambos casos, la localización del SOMO fue sobre los átomos implicados en el mecanismo: azufre y carbono *α*, especialmente con un isovalor de 0.10. Sin embargo, cuando se analizaron las gráficas con un isovalor más restrictivo (0.15), el radical SOMO del compuesto de L-GSH se localizó sobre el carbono *α* pero no en el de azufre. Sin embargo, la distribución orbital fue más homogénea y equivalente al azufre y al carbono *α* en el radical de L-Cys. Esto podría explicar las diferencias encontradas en la cinética de ambas reacciones, y podemos relacionar la distribución de SOMO en el caso del compuesto de L-GSH con estar preferentemente en el carbono *α*, lo que favorece la estabilidad de una vía homolítica.

La formación de radicales libres en la migración intermolecular de hidrógeno en una vía homolítica es la vía favorable. Esta vía explicaría una reacción más rápida de acrilamida con L-GSH que con L-Cys, lo que concuerda con los resultados experimentales obtenidos. En adición con las observaciones de Bent et *al*. (2015) donde atribuían la velocidad de reacción de acrilamida con glutatión a los enlaces de hidrógeno intermoleculares e intramoleculares que estabilizan un estado de transición gaseoso que son alterados por las moléculas de agua en solución, lo que se suma al aumento relativo de la energía de activación.

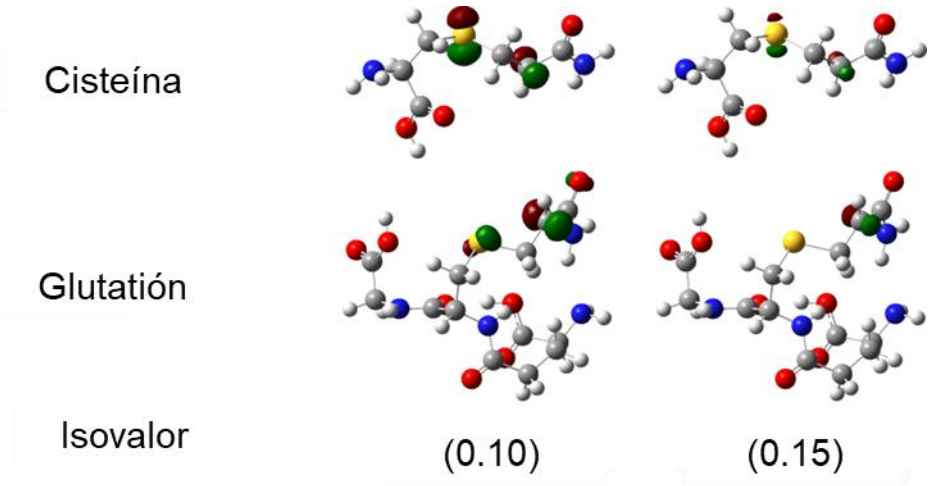


Figura 21. Gráficos orbitales SOMO para radicales libres en estado de transición modelados con isovalores de 0.10 y 0.15.

4.3.3. Estudio de toxicidad de los compuestos R-SH-acrilamida en pez cebra

Las anomalías que se pueden presentar en los embriones de pez cebra en pruebas de toxicidad son: coagulación de los embriones, falta de formación de las somitas, no desprendimiento de la cola y falta de frecuencia cardíaca (OCDE TG 236, 2013). Malformaciones en axis, cerebro, aleta, ojos, corazón, mandíbula, oído, y en tronco. Alteración en la pigmentación, falla de la vejiga natatoria para inflarse e inflamación alrededor del saco vitelino (Figura 22) (Truong *et al*., 2010).

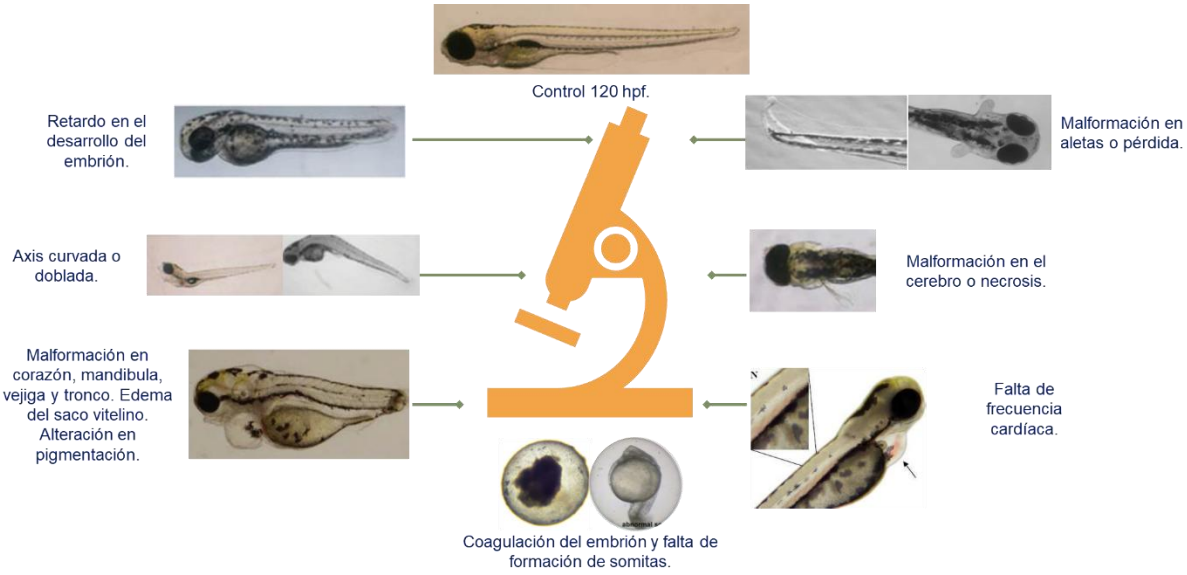


Figura 22. Anomalías en pez cebra en ensayos de toxicidad.

En la placa del compuesto L-Cys-acrilamida se observó 4 embriones muertos: 1 en el control, 2 en la concentración de 0.7 g L^{-1} (3.6 mM) y 1 en la concentración de 0.9 g L^{-1} (4.7 mM) a las primeras 24 h. La mortalidad en uno de los controles se encuentra dentro de lo permitido por la guía OCDE TG 236 (OCDE TG 236, 2013) donde se considera aceptable la mortalidad embrionaria en el experimento <10% en los controles.

El experimento se mantuvo durante 120 h para evaluar la presencia de toxicidad tardía pero no se observó mortalidad. El desarrollo de los embriones fue compatible con la normalidad y no se observó anomalía durante el desarrollo y/o eclosión de los embriones (Figura 23).

Figura 23. Embrión de pez cebra 120 hpf en la placa L-Cys-acrilamida, pocillo 1.0 g L^{-1}.

En la placa del compuesto L-GSH-acrilamida no se observó mortalidad en las primeras 96 h, se extendió el periodo de observación a 120 h para evaluar toxicidad retardada, confirmando que no existe toxicidad durante las primeras 120 h, ni teratogenicidad a las concentraciones analizadas (Figura 24).

Figura 24. Desarrollo de pez cebra a las 24 h, (pocillo de 1.0 g L^{-1} de L-GSH-acrilamida).

El análisis toxicológico en pez cebra se caracteriza por ser un modelo eficaz para la detección de toxicidad química debido a su alta fecundidad, rápido desarrollo embrionario y la similitud de los sistemas cardiovascular, nervioso y digestivo con los sistemas de los mamíferos, así como en las líneas celulares, lo que permite que el metabolismo y las interacciones sistémicas imiten los procesos del cuerpo humano. El embrión de pez cebra también es un modelo de prueba preferente debido a que disminuye el dolor en las primeras etapas de desarrollo. Esto permite el cumplimiento con los principios de las 3R. Asimismo, la transparencia de los embriones y su desarrollo fuera de la madre permiten distinguir fácilmente los efectos teratogénicos y tóxicos (Chakraborty *et al*., 2016; Ducharme *et al*., 2015; Faria *et al*., 2018; He *et al*., 2014; Truong *et al*., 2010).

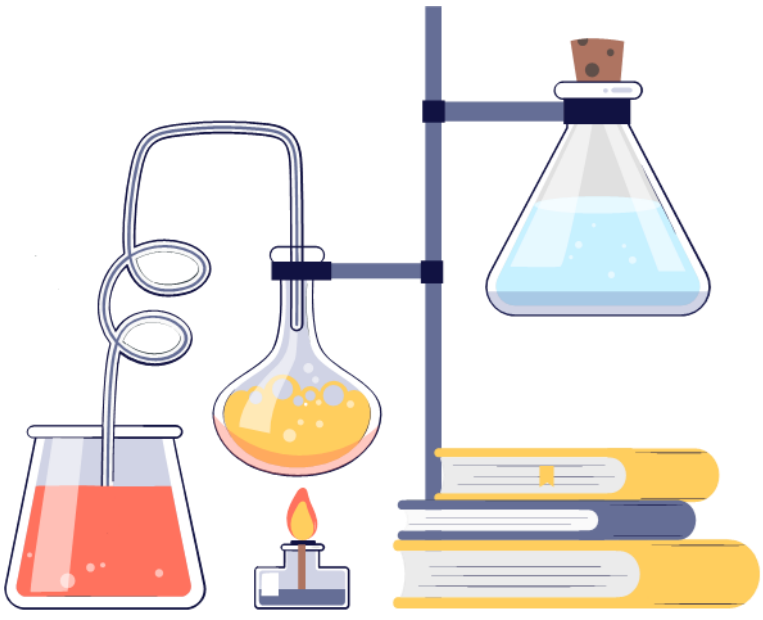
Diversos estudios de toxicidad de acrilamida se han llevado a cabo en pez cebra obteniendo los siguientes resultados: la exposición a acrilamida a una concentración de 0.75 mM alteró la duración de la movilidad de los peces, así como la pigmentación de la piel. Asimismo, modificó los perfiles transcriptómicos y proteómicos del cerebro, al igual que formó aductos con residuos de cisteína. La hipolocomoción causada por la exposición a la acrilamida podría representar un fenotipo similar a un retraso motor asociado al agotamiento de los neurotransmisores monoamínicos en los animales (Faria *et al*., 2018). A una concentración de 2.0 mM se observó edema pericárdico a las 48 hpf, y tasas de malformación de 100% a las 72 hpf en el sistema cardiovascular (Huang *et al*., 2018). La exposición a 1.0 y 2.0 mM acortó significativamente la longitud de las larvas de pez cebra debido a que la acrilamida altera la expresión genética característica del desarrollo de huesos y cartílagos al inhibir la diferenciación de condrocitos y osteoblastos y estimular la diferenciación de osteoclastos (Zhu *et al*., 2021). A una concentración de 1.4 mM se observó retención del saco vitelino, escoliosis, deficiencia de vejiga natatoria, edema cardíaco y curvatura corporal (Park *et al*., 2021). Por otro lado, la concentración letal del 50% (LC_{50}) a las 72 hpf se estimó en una concentración de 1.22 mM de acrilamida (Faria *et al*., 2018), mientras que una concentración de 4.22 mM causó la muerte de 100% a las 72 hpf (Park *et al*., 2021).

En contraste, a las concentraciones evaluadas de los compuestos de L-Cys-acrilamida: 1.04-5.2 mM y L-GSH-acrilamida: 0.53-2.6 mM no se observó ni teratogenicidad ni mortalidad a las 96 h, por lo que se puede considerar que los compuestos formados de manera externa a partir de los compuestos tiolados y la acrilamida no representa un riesgo para el consumidor.

4.4. Conclusión

- Las reacciones vía adición de Michael entre la acrilamida y tioles se evaluaron espectrofotométricamente observando la disminución de la concentración del ácido 5-tio-2-nitrobenzoico conforme la reacción avanzaba. De igual forma, la reacción depende de la concentración de tioles, lo que sugiere que para la aplicación de estos compuestos a un sistema real de fritura deben estar en una concentración mayor a la cantidad de acrilamida esperada en el alimento sin tratar, al menos seis veces, que es la cantidad que se evaluó en el presente trabajo. Los estudios teóricos complementaron las evaluaciones cinéticas, asimismo, permitieron inferir dos vías de formación de los compuestos (iónica y radicalaria).
- En la evaluación toxicológica de los productos obtenidos en las reacciones entre acrilamida con cisteína y glutatión no se observaron efectos de toxicidad aguda a las 120 h de ensayo en los peces cebras bajo la exposición de los compuestos de L-Cys-acrilamida y L-GSH-acrilamida a las concentraciones de 0.2-1.0 g L^{-1}. Lo que indica que los productos formados a partir de la incorporación de los tioles a la fritura profunda de alimentos no representarán riesgo a la salud de los consumidores.

APLICACIÓN DE EXTRACTOS DE AJO EN PROCESOS DE FRITURA DE PAPA TIPO HOJUELA



5. Aplicación de extractos de ajo en procesos de fritura de papa tipo hojuela

5.1. Antecedentes

5.1.1. Compuestos benéficos en frutas y hortalizas y su aplicación en la disminución de acrilamida

El estudio de los compuestos fitoquímicos (Figura 25) de frutas y hortalizas ha sido de gran interés debido a sus propiedades benéficas (Brat, 2008).

Los compuestos fenólicos son compuestos aromáticos acoplados a uno o más grupos hidroxilo. En las plantas son metabolitos secundarios que actúan como antioxidantes, estos compuestos abarcan desde ácidos fenólicos hasta compuestos complejos como los taninos. Estos compuestos se encuentran en manzana, uva, fresa, frambuesa, mora azul, soya, té, café vino y cerveza (Alara *et al*., 2021; Cheynier, 2012).

Los carotenoides son compuestos que poseen una estructura poliisoprenoide, una larga cadena conjugada de doble enlace y una simetría casi bilateral alrededor del doble enlace central. Las verduras y frutas de color amarillo anaranjado aportan la mayor parte de la *β*-caroteína; las frutas anaranjadas, la *β*-criptoxantina; las verduras de color verde oscuro, la luteína; y los tomates y sus derivados, el licopeno. En el caso de la luteína y la zeaxantina, también están presentes en altas concentraciones en la yema de huevo. Los carotenos se encuentran en chabacano, zanahoria, espinacas, col, betabel verde, brócoli, tomate, tangerina, papaya y chicharos. Los carotenoides ayudan en la prevención del cáncer, problemas cardiovasculares, osteoporosis (Rao y Rao, 2007).

Los glucosinolatos son compuestos *β*-tioglicósidos-N-hidroxisulfatos. Estos compuestos se encuentran en todas las crucíferas, incluyendo las *Brasesica* (coles de Bruselas, brócoli, coliflor, repollo, berros, colza y mostaza). Entre las propiedades están las antibacterianas, antifúngicas y preventivas del cáncer (Font *et al*., 2005).

El glutatión es el antioxidante más importante que protege a las células de cualquier tipo de daño oxidativo, niveles bajos de glutatión están asociados con mayores riesgos de cáncer enfermedades cardiovasculares, artritis y diabetes, por lo que se recomienda consumir alimentos que lo contengan como los espárragos, pepinos, champiñones, aguacates, naranja, fresa, limón o tomate (Drinkwater *et al*., 2015; Chwatko *et al*., 2014; Kalaras *et al*., 2017).

Los compuestos organosulfurados se encuentran en hortalizas del género *Allium* que incluyen cebollas, cebollines, ajos, chalotes, poros. Los compuestos organosulfurados presentes en este tipo de hortalizas se derivan principalmente de γ-glutamil-S-alqu(en)il-L-cisteína y sulfóxido de S-alqu(en)il-L-cisteína. Estos compuestos son benéficos por su actividad antimicrobiana y en prevención de cáncer, entre otros (Miękus *et al*., 2020).

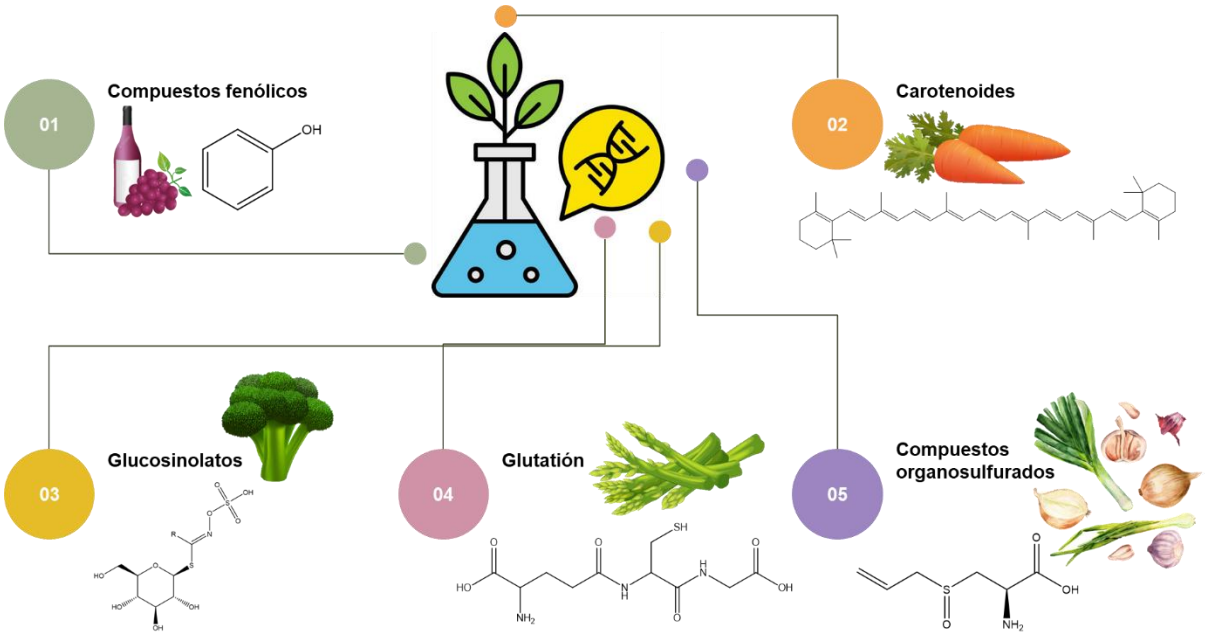


Figura 25. Compuestos fitoquímicos presentes en frutas y hortalizas con propiedades benéficas.

Algunos extractos de frutas y hortalizas han sido estudiados para la disminución de acrilamida en alimentos (Kahkeshani *et al*., 2015). Por ejemplo:

Papas cortadas en rodajas (1.5 mm de grosor) se sumergieron en extractos acuosos de orégano, tomillo, canela, bugambilia y té verde 25% (m/v) por 1 min previo a su fritura. La proporción extracto:papa fue de 1:3.8 (m:m), observándose una disminución en el contenido de acrilamida del 0-62%, siendo el té verde el que presentó mayor eficiencia que se atribuye a la presencia de compuestos fenólicos (Morales *et al*., 2014).

El uso de extractos frutales de manzana, arándano, mangostán (*Garcinia mangostana*), longan (*Euphoria longana*) y pitahaya de pulpa blanca y roja en etanol 95% han sido evaluados en la elaboración de papas fritas. Las papas se cortaron en bastón (6 cm) y se sumergieron durante 5 min en soluciones acuosas de extracto de fruta (0.01, 0.05 o 0.1% m/m). Las papas se retiraron de la solución de inmersión y se escurrieron durante 2 minutos a temperatura ambiente. El freído se realizó a 170 °C durante 5 minutos en aceite de cacahuate en una freidora eléctrica, observándose una disminución del 25% utilizando la concentración de 0.05%, este efecto atribuido a proantocianidinas (Cheng *et al*., 2010).

El uso de hojas frescas de guayaba, romero, orégano, aceituna, arándano y té verde en el freído de papa cortada en rodaja (100 g en 500 g de aceite de girasol durante 6 min a 190 °C). En el freído, las hojas se adicionaron al aceite de girasol al 5% (m/m). La disminución de acrilamida fue de un 84, 86, 93, 76, 60, 56%, respectivamente (*Ismial et al., 2013*).

Extracto de hojas de bambú en polvo (malla 20-40) al 10% (m/v) en solución acuosa de etanol al 30% (v/v) con posterior secado por aspersión fueron aplicadas a papas cortadas en rodajas y papas cortadas en bastones (8 mm x 8 mm x 8-10 cm). Las papas se sumergieron en soluciones acuosas de bambú en polvo 0.001, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, y 1.0 % (m/m). Posterior a la inmersión, las papas se calentaron a 50 °C durante unos 30 min. Después, 55 g de papas se frieron en aceite de palma durante 4 min a 170 °C. La reducción de acrilamida fue de 74 y 76% en papas fritas y papas fritas tipo hojuela cuando la proporción de adición de solución de bambú en polvo fue de 0.1 y 0.01% (m/m), respectivamente, atribuido a los polifenoles (Zhang *et al*., 2007).

El género *Allium* spp. se ha evaluado en desarrollos tecnológico para mejorar la calidad de productos fritos. Li *et al*. (2022) propone el uso de ajo en polvo en la fritura de papas cortadas en bastón (3.5 x 1.0 x 1.0 cm). Para ello, se sumergieron los bastones en una solución de ajo en polvo disperso agua destilada 10 % (m/v) en una proporción papa:suspensión 1:4 (m:v). Las papas se retiraron de la solución y se lavaron con agua desionizada para eliminar la solución de ajo en polvo de la superficie, y la humedad de la superficie se absorbió con papel. A continuación, las papas se frieron a 160 °C, 180 °C y 200 °C durante 20 min. La mayor disminución se observó en un tiempo de inmersión de 120 min, alcanzando una eliminación de acrilamida del 41%. Mientras que, Zokaei *et al*. (2020) describe el uso de extracto acuoso de chalote (*Allium hirtifolium*), la evaluación del extracto se realizó sumergiendo papas cortadas en rodajas en soluciones acuosas de chalote (5 y 7%) combinada con pectina (5.3%, m/v) durante 10 min. Bajo estas condiciones se alcanza a disminuir el contenido de acrilamida en un 48% cuando se frieron a 170 °C durante 4 min en aceite de girasol (Zokaei *et al*., 2020).

5.1.2. Compuestos organosulfurados en *Allium sativum*

Como se mencionó anteriormente, los compuestos organosulfurados han sido estudiados en el diseño de estrategias tecnológicas para la mejora de la calidad de alimentos. Los compuestos organosulfurados están presentes en alimentos como frutas, hortalizas, productos lácteos, productos pesqueros, productos cárnicos y bebidas. Sin embargo, las hortalizas como las crucíferas (brócoli, coles, calabaza, etc.) así como del género *Allium* (ajo, cebolla, poro, etc.) destacan por su alto contenido en estos compuestos (Maga *et al*., 1976; Miękus *et al*., 2020).

El ajo (*Allium sativum*) es un alimento ampliamente utilizado que presenta diversas propiedades medicinales (Figura 26).

Figura 26. Propiedades benéficas del ajo para el organismo.

Estas propiedades son atribuidas principalmente a los compuestos organosulfurados. En ajo fresco sin alterar se encuentran sulfóxidos de S-alquenil-L-cisteína como la aliína (sulfóxido de S-alil-L-cisteína) la *γ*-glutamilcisteína. Cuando el ajo es mínimamente procesado (troceado, aplastado o molido) se libera la aliinasa de la vacuola vegetal produciendo ácidos sulfénicos, que por autocondensación se forma alicina (S-alil-2-propentiosulfinato). Este compuesto por ser inestable genera sulfuros liposolubles como mono-, di-, tri-, tetrasulfuro de dialilo, así como vinilditiínas, *Z* y *E*-ajoeno (4,5,9-tritiadodeca-1,6,11-trieno-9-óxido). Los sulfuros de dialilo, a su

vez, forman alil mercaptano y persulfuro de alilo (Figura 27) (Corzo-Martínez *et al*., 2007; Ezeorba *et al*., 2022; Iciek *et al*., 2009; Kodera *et al*., 2017; Trio *et al*., 2014).

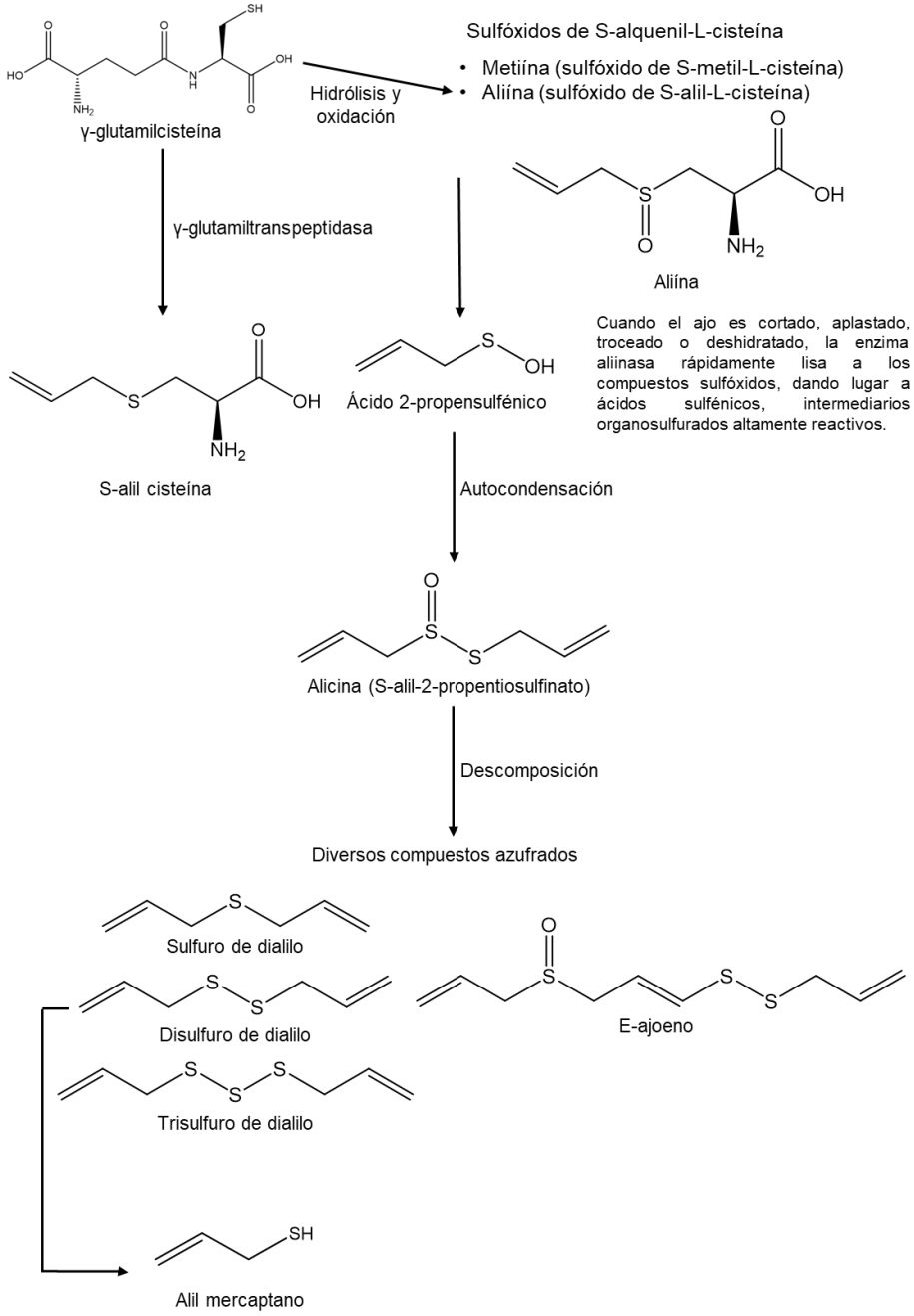


Figura 27. Formación de compuestos organosulfurados en el ajo procesado. Adaptado de Corzo-Martínez et al. 2007.

El disulfuro de dialilo, el trisulfuro de dialilo, la alicina y el ajoeno han demostrado tener propiedades antibacterianas. El ajoeno actúa contra las bacterias

suprimiendo la síntesis de ADN, la síntesis de ARN y la síntesis de proteínas, impidiendo el crecimiento de las bacterias. La alicina puede dañar las paredes celulares bacterianas al debilitar la capa de peptidoglicano, lo que causa la contracción e hinchazón de las células bacterianas y la lisis celular. Asimismo, los sulfuros de dialilo tienen una propiedad hidrófoba y, por lo tanto, daña los fosfolípidos presentes en las bacterias. En el caso de la actividad antifúngica, el disulfuro de dialilo afecta la permeabilidad de la membrana plasmática micelial, así como las membranas de orgánulos como las mitocondrias, causando daño a los orgánulos y muerte celular.

En presencia de tioles, la alicina se metaboliza rápidamente en polisulfuro de dialilo orgánico, que protege el corazón. El consumo de ajo ayuda a tener una presión arterial baja, reducir tanto el estrés oxidativo como la producción de NO y H_2S y la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina, lo que conduce a la disminución de la presión arterial y la hipertensión. El ajoeno y el aceite esencial de ajo ayudan a inhibir la 14-*α*-desmetilasa y la HMG-CoA reductasa, estas enzimas participan en la biosíntesis del colesterol. La alicina, la adenosina, tiosulfatos, dialil trisulfuro y ajoeno proporcionan efectos anticoagulantes y antiplaquetarios. Los sulfuros, disulfuros, trisulfuros de dialilo inhiben tanto las etapas tempranas como tardías del cáncer debido a la alteración de la función de citocromo P-450 2E1 que metaboliza los compuestos carcinogénicos de ADN. Disulfuros y trisulfuros de alilo han demostrado tener efectos antiinflamatorios (Corzo-Martínez *et al*., 2007; Ezeorba *et al*., 2022).

Por otro lado, la obtención de los diferentes compuestos es influenciada por el tipo de procesamiento del ajo (Figura 28). En ajo entero se encuentra principalmente aliína, en ajo en polvo alicina y sus derivados; en extracto de ajo añejo (ajo sumergido en una solución de agua-etanol almacenado a temperatura ambiente durante más de 10 meses) se encuentra el S-alil-cisteína; en aceite de ajo obtenido por destilación se encuentran los sulfuros de alilo; en extractos de ajo en aceite se encuentran ditiínas y ajoeno (Corzo-Martínez *et al*., 2007).

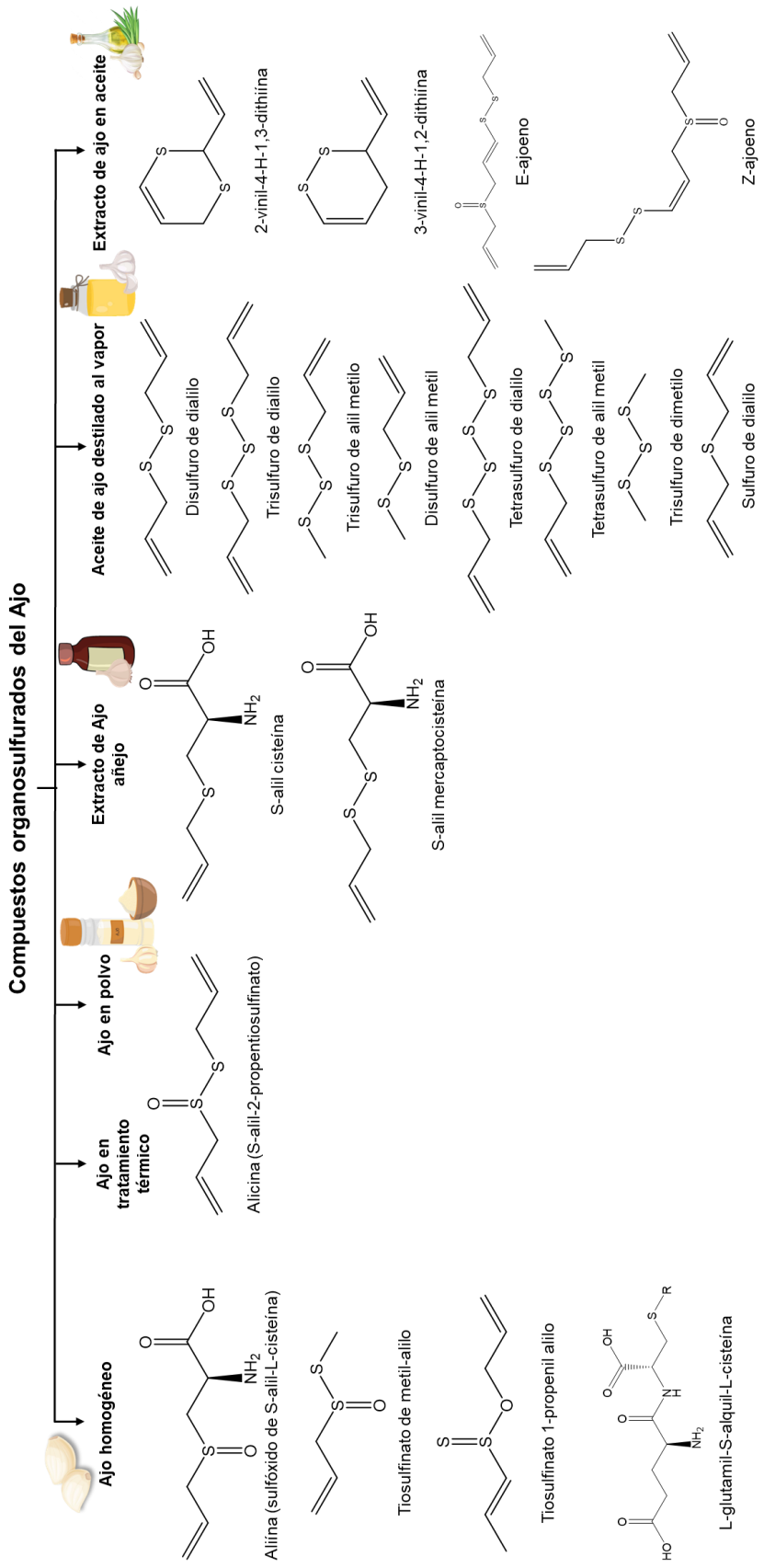


Figura 28. Principales compuestos organosulfurados presentes en el ajo con base a su procesamiento. Adaptado de Corzo-Martínez *et al*. 2007.

Los tioles son hidrofílicos, mientras que los sulfuros son de naturaleza hidrófoba. Estos compuestos han sido identificados en ajo, cebolla, cebollín y poro mediante cromatografía de gases y cromatografía de líquidos, dependiendo de los compuestos de interés a identificar. Por ejemplo, los métodos de cromatografía de gases se utilizan generalmente utilizando columnas polares como Chromosorb W-HP, malla 80/100, recubierto con 5 % Carbowax 20 M; HP-INNOWax (60 m x 0.32 mm x 0.25 µm) o Hewlett-Packard-WAX (d.i. 0.32 mm x 30 m). Algunos de los compuestos identificados son metil alil disulfuro, dialil disulfuro, dimetil trisulfuro, metil alil trisulfuro, dialil trisulfuro (Brodnitz *et al*., 1971, Cai *et al*., 1994; Itakura *et al*., 2001).

Por otro lado, la cromatografía de líquidos de alta resolución se ha utilizado para el análisis de compuestos hidrófilos e hidrófobos a temperaturas relativamente bajas para evitar la descomposición. Ichikawa *et al*. (2006) utilizaron una columna Shodex Asahipak NH2P-50 2D (5 µm, 150 mm x 2 mm) para identificar aliína, isoaliiína, metiína, cicloaliína, *γ*-L-glutamil-S-(2-propenil)-L-cisteína, *γ*-L-glutamil-S-(trans-1-propenil)-L-cisteína, *γ*-L-glutamil-S-metil-L-cisteína en ajo en polvo. A su vez, Yoo *et al*. (2013) utilizaron una columna de sílice de fase normal (3 mm, 250 x 4.6 mm) para identificar dialil trisulfuro, dialil disulfuro, *E*-ajoeno, *Z*-ajoeno, 2-vinil-(4H)1,3-dithiína, 3-vinil-(4H)-1,2-dithiína en extracto de ajo en aceite (Yoo *et al*., 2013).

Como se ha mencionado en la sección anterior, los tioles son los compuestos que reaccionan con la acrilamida por lo que es necesario que los compuestos obtenidos en los extractos de ajo en medio lipídico sean reducidos a tioles. En general, los sulfuros son reducidos mediante la reacción con borohidruro de sodio o amalgama de sodio, fosfinas o los fosforotioatos (Jocelyn, 1987), sin embargo, estos compuestos no pueden ser aplicados en alimentos. Debido a esto, surge la necesidad de aplicar métodos compatibles con los alimentos.

5.1.3. Elaboración de papas fritas tipo hojuela a nivel industrial

El proceso de papas fritas a nivel industrial se lleva cabo en diferentes operaciones unitarias (Martinez *et al*., 2019):

(1) *Recepción y acondicionamiento de la materia prima*. En esta etapa, la papa se lava y se seleccionan las papas que no presenten algún tipo de daño.

(2) *Corte de papa*. La papa se corta de acuerdo con el producto requerido, el grosor de la papa se encuentra entre 0.7-1.8 mm con óptimos en 1.0-1.2 mm.

(3) *Lavado de papas cortadas*. Esta etapa se lleva a cabo para eliminar el almidón en la superficie.

(4) *Secado*. Las papas se dejan secar después del blanqueado para evitar la absorción excesiva de aceite.

(5) *Freído*. En esta etapa, las papas se sumergen en aceite a temperaturas entre 175-190 °C, 4-6 min.

(6) *Control de calidad*. Selección de las papas con las características deseadas.

Como se ha mencionado anteriormente, la formación de acrilamida se genera a partir de dos vías, las reacciones de Maillard y a través de a la degradación oxidativa de los aceites, por lo que una característica importante a considerar en la fritura profunda de alimentos es utilizar aceites capaces de resistir a altas temperaturas (> 180 °C). Aceites como soya, maíz, oliva o girasol, tienden a oxidarse debido al contenido de ácidos grasos insaturados (ácido oleico, linoleico y linolénico) por lo que no es recomendable su uso en la fritura a nivel industrial (Garcés y Cuéllar, 1997).

Por el contrario, el aceite de palma que se obtiene de la extracción del mesocarpio del fruto de la palma (*Elaeis guineensis*) contiene de 9-12% de ácido linoleico, 0.5% de ácido linolénico y un nivel elevado de antioxidantes naturales (tocoferoles y tocotrienoles). La oleína de palma (fracción líquida del aceite de palma) es adecuada para el proceso de freído a nivel industrial y en servicios alimentarios debido a que posee un sabor suave, tiene una excelente estabilidad a la oxidación y no produce humo ni espuma en grandes cantidades, tiene una

vida útil prolongada, los equipos de freído requieren menos mantenimiento, la cocción de los alimentos es rápida y absorben menos aceite. Asimismo, el aceite de palma se produce durante todo el año, por lo que, es más fácil para la industria conservar las formulaciones de productos para mantener el sabor y la calidad de los alimentos (Garcés y Cuéllar, 1997; Johari, 2021).

Considerando lo anterior se planteó la aplicación de extractos de ajo en el freído de papas tipo hojuela para la disminución de acrilamida.

5.2. Parte experimental

5.2.1. Evaluación de tioles en extractos de ajo en oleína de palma

5.2.1.1. Extracción de compuestos organosulfurados (R-SH) del ajo en oleína de palma

La extracción de compuestos organosulfurados del ajo se llevó a cabo mediante tres metodologías: (1) ajo fresco a temperatura ambiente, (2) ajo fresco aplicando un tratamiento térmico y (3) ajo en polvo a temperatura ambiente. Los extractos se llevaron a cabo en oleína de palma.

La determinación de tioles en los extractos de ajo se llevó a cabo mediante espectrofotometría UV-Vis (longitud de onda: 412 nm) utilizando 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzoico) como derivatizante.

5.2.1.2. Análisis de extractos de polvo de ajo en cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas

El extracto de ajo obtenido en la metodología 3 se analizó mediante cromatografía de gases acoplado a masas con muestreador de espacio de cabeza y microextracción en fase sólida (HS-SPME-GC-MS) con ionización por impacto electrónico (IE). Una alícuota de extracto disuelta directamente en hexano y una fracción polar del extracto se analizaron mediante GC-MS con ionización por IE.

Para el análisis HS-SPME-GC-MS, se disolvieron aproximadamente 50 mg del extracto de ajo en agua desionizada. El sistema de SPME-HS se mantuvo con agitación a 800 rpm, durante 5 min a 60 °C en extracción por HS y por 25 min en SPME. Una vez terminado el tiempo, la jeringa con SPME se retiró y se introdujo al puerto de inyección de GC-MS. En la Tabla 6 se indican las condiciones de análisis.

Tabla 6. Condiciones de análisis de GC-MS.

Equipo utilizado	PERKIN ELMER, CLARUS SQ8C
Tipo de ionización	IE, 70 eV
Preparación de la muestra	SPME
Columna capilar	Fibra gris, Supelco 50/30 µm divinilbenceno/carboxeno/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS) Inyección líquida: Diclorometano y hexano
	(5%-fenil)-metilpolisiloxano (30 m x 0.25 mm x 0.25 mm), Agilent Technologies Inc. HP-5MS
Temperatura del inyector	300 °C
Programa de temperatura de horno	100 °C durante 1 min, 20 °C/min hasta 300 °C, estabilización 14 min
Tipo y volumen de inyección	SPME y 1 µL en disolvente
Gas acarreador	He (99.999%), Infra Ultra Alta Pureza
Flujo de gas acarreador	1.0 mL min^{-1}
Temperatura línea de transferencia	250 °C
Temperatura de cámara de ionización	200 °C
Analizador másico	Cuadrupolo simple (SQD)
Retraso de encendido del filamento	2 min
Intervalo de masas	30-500 m/z
Estándar de calibración	PFTBA
Estándares para índices de retención	N/A

Facultad de Química-UNAM, Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación y a la Industria, Espectrometría de Masa.

5.2.2. Proceso de freído de papas

El proceso de freído consistió en sumergir 200 g de papa comercial cortada en rodaja en 3 L de oleína de palma (papa control), así como en oleína de palma con $3.0x10^{-7}$ M de R-SH a 180 °C durante 7 min. Los compuestos organosulfurados adicionados fueron obtenidos de las extracciones mencionadas en la sección 5.2.1.1.

5.2.3. Determinación de acrilamida

El análisis se realizó a través de cromatografía líquida de alta resolución con detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD), Agilent Technologies 1260 Infinity (DE, Alemania) equipado con una columna Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 de

4.6 x 150 mm, 5 µm. Detección ultravioleta ajustada a una longitud de onda de 200 nm. La fase móvil consistió en H_2SO_4 8.0 mM, con un flujo de 0.8 mL min^{-1}. El volumen de inyección fue de 20.0 µL. El equipo fue controlado por el software Agilent Open LAB (Agilent Technologies).

Para la preparación de la muestra, 1.5 g de papa triturada se mezcló con 5.0 mL de metanol, se agitó en vortex por 5 min, posteriormente se centrifugó a 2500 rpm por 15 min. El sobrenadante se evaporó empleando corriente de aire. El residuo obtenido se redisolvió en 1.0 mL de H_2SO_4 8.0 mM. Las soluciones se filtraron a través de membranas de Nylon de 45 µm previo a su inyección en el equipo de cromatografía. Una curva de calibración de estándares de acrilamida se preparó en un intervalo de 250.0-2500.0 µg kg^{-1}.

5.2.4. Determinaciones fisicoquímicas

La determinación de humedad se llevó a cabo siguiendo el método oficial 930.15. En charolas de aluminio a peso constante se colocaron 3.0 g de muestra y se llevó a secado en estufa a 105 °C, durante 4 h. Posteriormente se pesaron las charolas con la muestra. El procedimiento se realizó por triplicado.

$$\% \text{ Humedad} = \frac{P_0 - P_f}{m} x100$$

Donde:

P_0 = Peso de la charola con muestra antes del secado (g)

P_f = Peso de la charola con muestra después del secado (g)

m = Peso de la muestra fresca (g)

La determinación de grasa cruda se realizó siguiendo el método oficial 920.39. Se colocaron 3.0 g de muestra libre de humedad en un cartucho de celulosa, se tapó con algodón y se introdujo en el compartimiento de extracción de un equipo Soxhlet.

Por otro lado, en un matraz balón de 250 mL (previamente puesto a peso constante) se adicionaron 180 mL de éter de petróleo. A continuación, se procedió a un calentamiento moderado durante 6 h regulando que el reflujo sea

gota a gota y constante. Una vez completa la extracción, el solvente se recuperó y el resto se eliminó colocando el matraz en una estufa a 105 °C hasta peso constante. El procedimiento se realizó por triplicado.

$$\% \text{ Grasa cruda} = \frac{P_f - P_0}{m} x100$$

P_f = Peso constante del matraz con el extracto etéreo (g)

P_0= Peso constante del matraz antes de la determinación (g)

m = Peso de la muestra fresca referido al peso original (g)

Los resultados fueron analizados mediante ANOVA de una vía con método Tukey con un intervalo de confianza del 95% (n=3) mediante el programa estadístico Minitab 17.

5.2.5. Pruebas organolépticas

La prueba sensorial consistió en evaluar color, olor, sabor, crujencia y valoración global a cuatro muestras de papa frita tipo hojuela: (1) papa freída en oleína de palma (control), (2) papa freída en oleína de palma con adición de tioles provenientes del extracto de ajo a temperatura ambiente (ETA), (3) papa freída en oleína de palma con adición de tioles provenientes del extracto de ajo con tratamiento térmico (ETT) y (4) papa freída en oleína de palma con adición de tioles provenientes del extracto de ajo en polvo a temperatura ambiente (EAP). La prueba se realizó en un aula de sensorial con 30 jueces no entrenados (entre 21 a 45 años, ambos sexos), a los cuales se les proporcionó una ficha de escala hedónica de 7 puntos (Figura 29). Donde ‘’me gusta mucho’’ es el máximo nivel de gusto (7 puntos) y ‘’me disgusta mucho’’ es el máximo nivel de disgusto (1 punto), y un valor medio neutro “ni me gusta ni me disgusta” (4 puntos) en aceptabilidad. Mientras que en preferencia el 1° lugar tiene una ponderación de 4 puntos y el 4° lugar tiene una ponderación de 1 punto (ISO 8587:2011; Manfugás, 2020; Watts *et al*., 1992).

Nombre:

Orden de las muestras:

Indica la **aceptabilidad** y la **preferencia** en función de los siguientes **ATRIBUTOS:**

Color

ACEPTABILIDAD	Muestra	Muestra	Muestra	Muestra
Me gusta mucho				
Me gusta bastante				
Me gusta ligeramente				
Ni me gusta ni me disgusta				
Me disgusta ligeramente				
Me disgusta bastante				
Me disgusta mucho				

PREFERENCIA				
1ª	2ª	3ª	4ª	Comentarios

Figura 29. Ficha de escala hedónica de 7 puntos y preferencia.

Los datos obtenidos en aceptabilidad se evaluaron en análisis de varianza de una vía utilizando el método Tukey utilizando el programa estadístico Minitab 17, mientras que los datos de preferencia se analizaron mediante la prueba de Friedman utilizando el programa estadístico XLSTAT 2023.

5.3. Resultados y discusión

5.3.1. Evaluación de extractos de ajo en oleína de palma

La concentración de tioles totales en el extracto de ajo con tratamiento térmico fue de $2.0x10^{-5}$ M, en el extracto de ajo en polvo se obtuvo $1.0x10^{-5}$ M, mientras que en la extracción a temperatura ambiente la concentración fue de $9.4x10^{-6}$ M. La presencia de tioles es importante debido a que estos compuestos reaccionan con acrilamida para formar aductos vía adición de Michael y por ende ayudan a la disminución del contenido de acrilamida libre (Zhu *et al*., 2020a).

5.3.1.1. Análisis de extracto de ajo en polvo mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas

El análisis del extracto de ajo en polvo se realizó debido a su factibilidad en la aplicación en el freído de papas tipo hojuela a una escala mayor a la de laboratorio.

En el análisis del extracto de ajo en oleína de palma disuelto en hexano se identificaron compuestos presentes en la oleína de palma: ácido palmítico, ácido palmitoleico, palmitato de glicerilo y oleato de glicerilo (Figura 30). Debido a esto se realizó el análisis de la fracción volátil del extracto de ajo en polvo (Figura 31) mediante microextracción en fase sólida en espacio de cabeza utilizando una fibra bipolar, identificando cuatro compuestos organosulfurados (Figura 32): (1) alil mercaptano, confiere olor y sabor característico a ajo (Hwang y Kim, 2022; Li *et al*., 2021), además de tener un efecto positivo en la salud (Nian *et al*., 2008; Xu y Cho, 1999), (2) 4-mercapto-4-metil-2-pentanona, es un aromatizante GRAS (sustancia generalmente reconocida como segura) (Concejero *et al*., 2014; EFSA Panel, 2020), (3) disulfuro de dialilo, confiere olor y sabor a ajo fresco y picante (Hwang y Kim, 2022; Li *et al*., 2021) y (4) trisulfuro de metil-2-propenilo, confiere aroma y sabor característico (Keleş *et al*., 2014). En el espectro de masas se reconoce a los compuestos organosulfurados por el fragmento H_2S (34 m/z) (Silverstein *et al*., 2005). Por otro lado, en la fracción polar del extracto de ajo que fue reconstituido en diclorometano se encontraron a los compuestos alil mercaptano y al 4-mercapto-4-metil-2-pentanona (Figura 33). La señal del disulfuro de dialilo es menor en comparación con HS-SPME-GC-MS, mientras

que la señal de trisulfuro de metil-2-propenilo no se observa. Por lo que la técnica HS-SPME-GC-MS fue más eficaz en la identificación de compuestos organosulfurados en el extracto de ajo en polvo. HS-SPME tiene la ventaja de no utilizar solventes orgánicos, requiere una cantidad mínima de muestra, además de incrementar la sensibilidad del método, minimizar interferentes, así como su uso sencillo (Pardina *et al*., 2023).

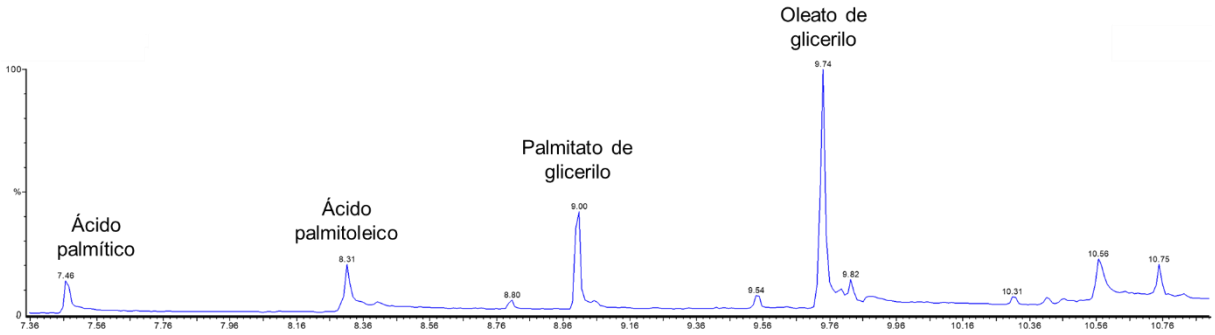


Figura 30. Cromatograma del extracto de ajo en oleína de palma disuelto en hexano, inyección directa en GC-MS.

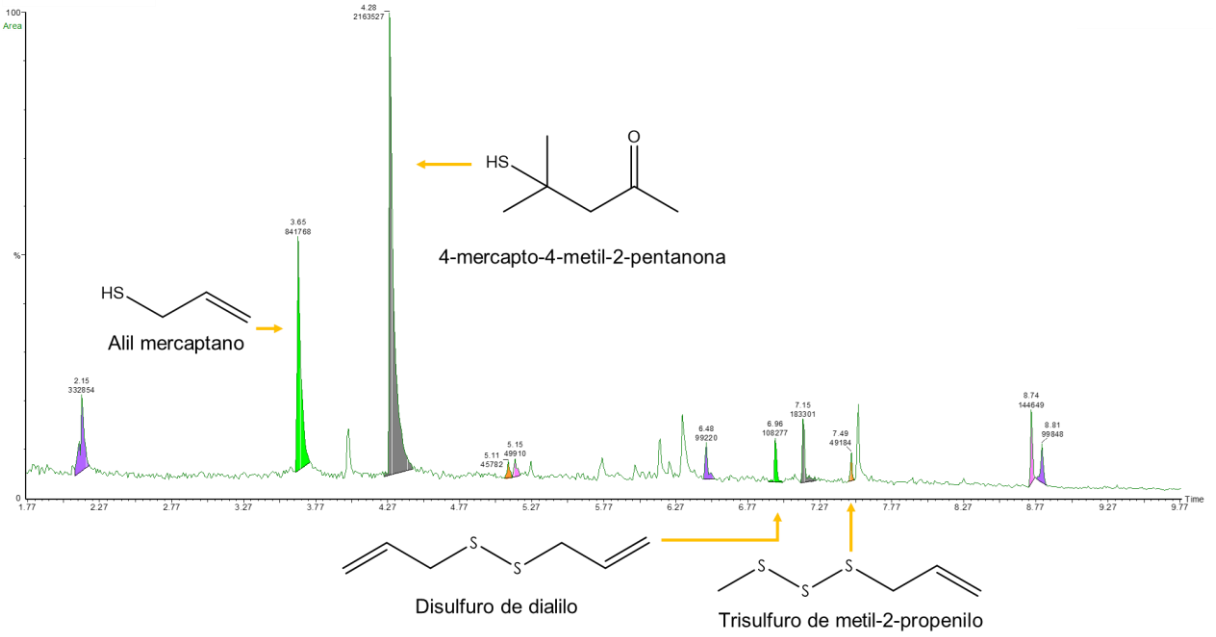


Figura 31. Cromatograma de la fracción volátil del extracto de ajo en oleína de palma. Análisis mediante HS-SPME-GC-MS.

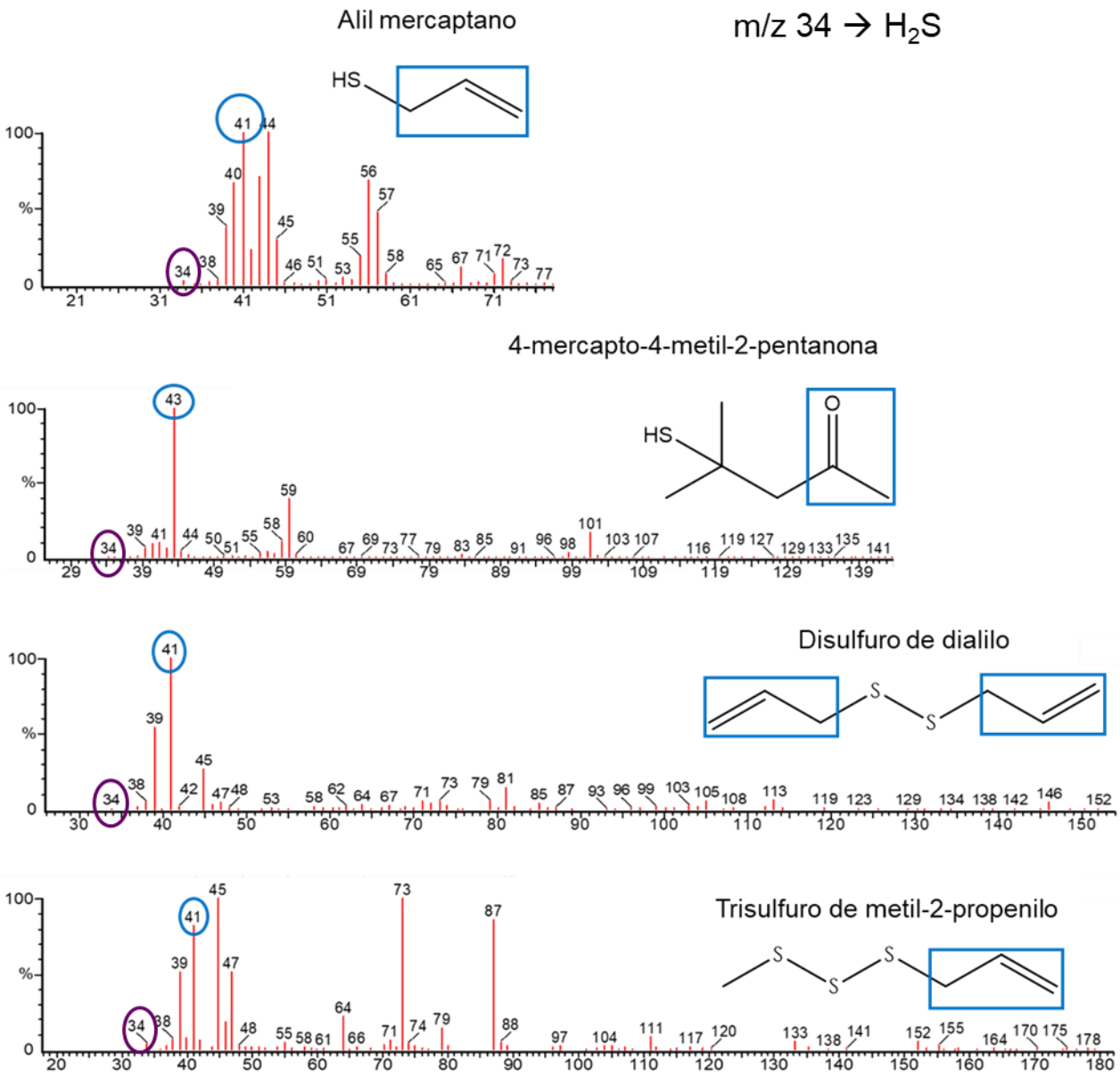


Figura 32. Espectro de masas de los compuestos organosulfurados presentes en la fracción volátil del extracto de ajo en oleína de palma.

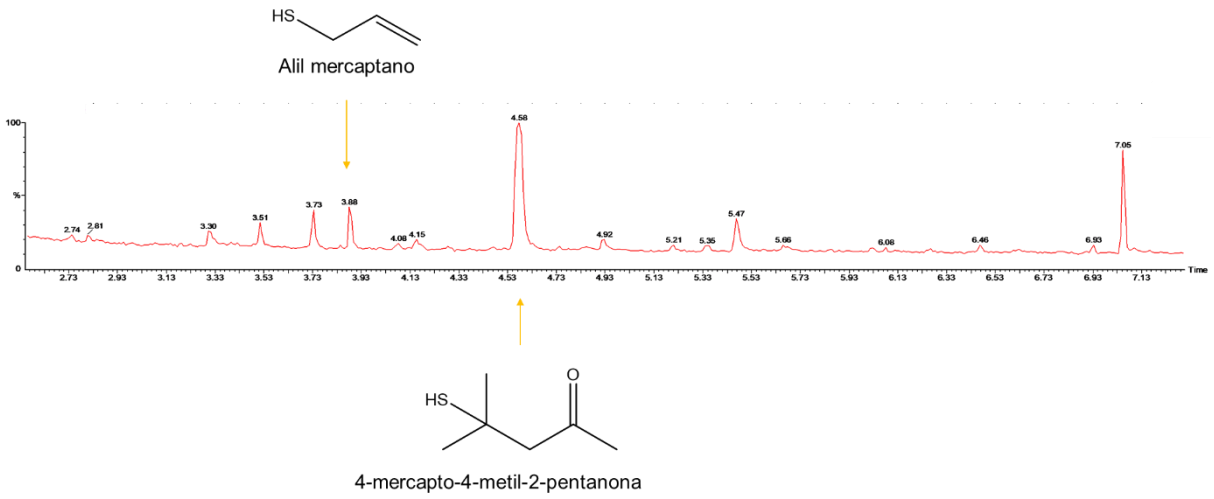


Figura 33. Cromatograma de la fracción polar del macerado de ajo en oleína de palma reconstituido en diclorometano. Inyección directa en GC-MS.

5.3.2. Contenido de acrilamida

La determinación de acrilamida se llevó a cabo mediante cromatografía líquida de alta resolución con detector de arreglo de diodos debido a la alta solubilidad de la acrilamida en agua, así como simplificar el proceso de extracción empleando solventes polares (Champrasert *et al.*, 2021; Ghalebi *et al.*, 2019). La Figura 34 muestra los perfiles cromatográficos de la muestra de papa (control) y una muestra de papa freída con la adición de tioles (tratada). En los cromatogramas se puede observar la disminución de la señal de la acrilamida en la papa tratada respecto a la papa control lo que indica que los tioles reaccionaron con la acrilamida bajo la adición de Michael.

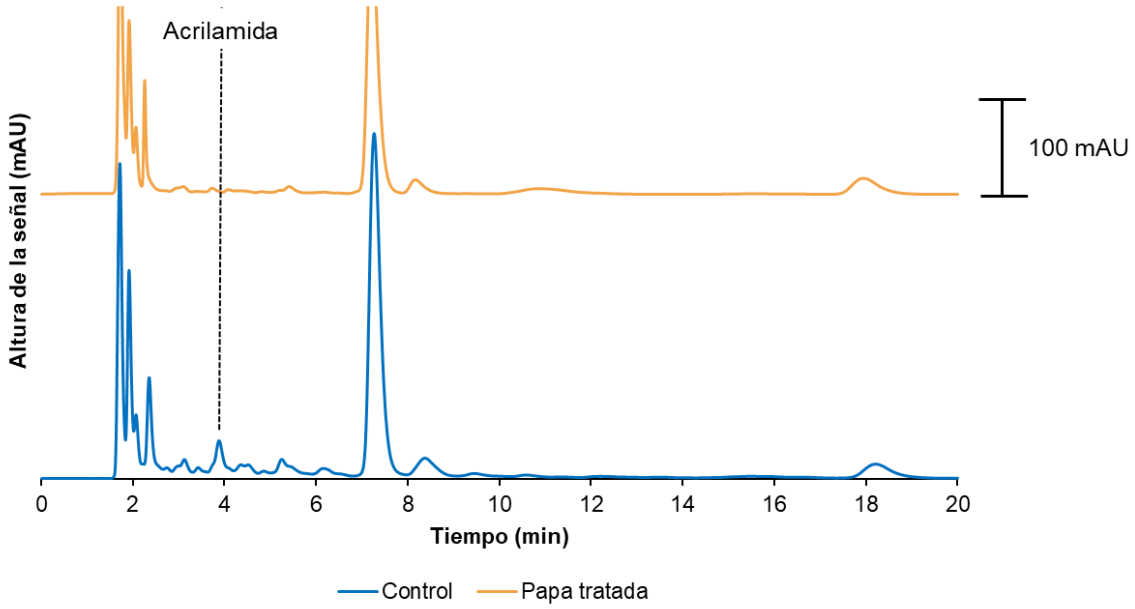


Figura 34. Cromatogramas de muestra de papa freída en oleína de palma (control) y en oleína de palma con R-SH (tratada).

La disminución del contenido de acrilamida es proporcional a la concentración de tioles como se observó en resultados previos, por lo que la reacción está afectada por la cinética. En la Figura 35 se muestra los resultados del contenido de acrilamida en la muestra de papa control y en las muestras tratadas con R-SH $3.0x10^{-7}$ M, donde se observa una diferencia significativa ($p<0.05$) en la disminución del contenido de acrilamida utilizando los diferentes extractos. La papa analizada inicialmente contenía una concentración de acrilamida de 235 µg kg^{-1}, con la aplicación de tioles se logró una disminución del 40% utilizando el extracto de ajo con tratamiento térmico (138 µg kg^{-1}). Estos valores se encuentran por debajo del valor de referencia (≤750 µg kg^{-1} de acrilamida) indicados por la Unión Europea. Resultados similares han sido descritos por Li *et al*. (2022) en donde la papa fue sumergida en agua con adición de ajo liofilizado (disminución del 41%) y disminución del 39% con adición de ajo en polvo secado en horno a 40 °C. En este estudio también se observó el efecto del tiempo de inmersión, entre más tiempo la papa estaba en contacto con el ajo mejor era el efecto de disminución de la acrilamida. En otros estudios, al utilizar alginato de sodio y pectina en 1% (m/v) a papas cortadas en bastones (50 g) sumergidas en estas soluciones (50.0 mL) se obtuvo una disminución del 65% y

56%, respectivamente (Champrasert *et al*., 2021). De manera similar al utilizar una solución de vitamina C al 1% se redujo el contenido de acrilamida en un 60% (Rifai y Saleh, 2020). Mientras que al utilizar asparaginasa 1.0 IU/mL (37 °C, pH 7.3, 30 min) la disminución de acrilamida fue del 45.6% (Pham y Hoang, 2020). Como se puede observar los resultados obtenidos con la incorporación de los tioles obtenido de los extractos de ajo es menor comparándolo con los otros aditivos, sin embargo, la propuesta del trabajo incluye el uso de un alimento y no el uso de un compuesto directamente.

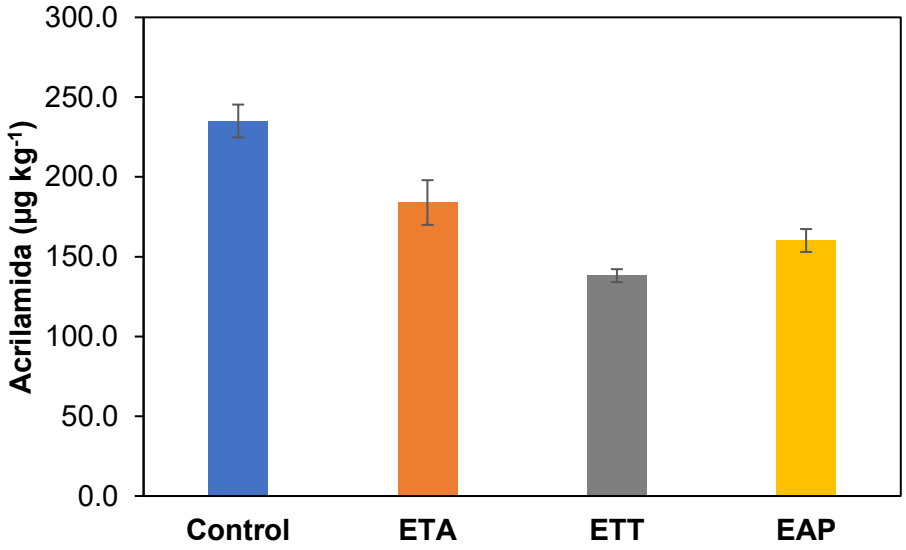


Figura 35. Determinación de acrilamida en papa freída en oleína de palma (control) y en oleína de palma con R-SH $3.0x10^{-7}$ M obtenidos de diferentes tipos de extractos de ajo. Extracto de ajo en oleína de palma a temperatura ambiente (ETA), extracto de ajo en oleína de palma con tratamiento térmico (ETT), extracto de ajo en polvo en oleína de palma (EAP).

5.3.3. Pruebas fisicoquímicas

Con la finalidad de observar si la incorporación de los compuestos organosulfurados afecta a las propiedades fisicoquímicas de la papa frita se evaluó el porcentaje de humedad y de grasa cruda, los resultados se muestran en la Tabla 7, en la cual se observa diferencias significativas entre el porcentaje de humedad de la muestra de papa control con respecto a los resultados de la muestra de papa con adición de tioles provenientes del extracto de ajo a

temperatura ambiente. Por otro lado, hubo diferencias significativas en el porcentaje de grasa cruda de la muestra de papa control y de la muestra de papa con adición de tioles provenientes del extracto de ajo con tratamiento térmico y del extracto con ajo en polvo. Aunque existen estas diferencias significativas los valores obtenidos se encuentran dentro del intervalo descrito para este tipo de alimento (PROFECO, 2021). En estudios de calidad de diferentes variedades de papa, en papa blanca encontraron un porcentaje de humedad del 2.45% valor cercano a lo obtenido en las papas evaluadas en este trabajo. El bajo valor de humedad podría deberse a la pérdida de agua durante el freído, la baja humedad permite al alimento tener más tiempo de anaquel. Por otro lado, se han descrito porcentajes de grasa cruda de 21-37% (Atsen *et al*., 2024).

Tabla 7. Pruebas fisicoquímicas de papas fritas tipo hojuela evaluadas.

Tratamiento	Humedad (%)	Grasa cruda (%)
Control	2.31 ± 0.00^{ac}	35.60 ± 0.15^{a}
ETA	2.69 ± 0.08^{b}	35.57 ± 0.25^{a}
ETT	2.45 ± 0.04^{a}	33.79 ± 0.60^{b}
EAP	2.18 ± 0.04^{c}	39.34 ± 0.02^{c}

Los porcentajes están dados como promedio ± DE; diferentes letras superíndice en los tratamientos indican diferencias significativas ($p < 0.05$). Extracto de ajo en oleína de palma a temperatura ambiente (ETA), extracto de ajo en oleína de palma con tratamiento térmico (ETT), extracto de ajo en polvo en oleína de palma (EAP).

5.3.4. Pruebas organolépticas

Los resultados de aceptabilidad se presentan en la Tabla 8. La incorporación de los tioles no afectó la aceptabilidad del producto respecto al color, debido a que no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, asimismo, el puntaje obtenido es referente a “me gusta ligeramente”. Sin embargo, para olor y sabor, la muestra control fue significativamente más aceptada que las papas freídas con la adición de tioles provenientes del extracto de ajo a temperatura ambiente, esto debido al olor y sabor intenso que proporciona el ajo a las papas. En los demás tratamientos no hubo diferencias significativas en cuanto a olor y sabor. En estos atributos las puntuaciones hacen referencia a “ni me gusta ni me

disgusta" y "me gusta ligeramente". Por otro lado, en crujencia no se presentó un efecto significativo al adicionar los tioles a la fritura de papas, la puntuación fue similar entre los tratamientos referente a "me gusta bastante". En cuanto a la valoración general no se encontró diferencias significativas entre los tratamientos, por lo que adicionar tioles a la fritura de papas es aceptable por parte de los consumidores, teniendo una puntuación relativa a "me gusta ligeramente".

Tabla 8. Puntuación de los diferentes atributos evaluados.

Tratamiento	Color	Olor	Sabor	Crujencia	Valoración global
Control	5.2 ± 1.2^{a}	5.6 ± 1.5^{a}	5.6 ± 1.0^{a}	5.7 ± 1.1^{a}	5.4 ± 1.0^{a}
ETA	5.6 ± 1.2^{a}	4.2 ± 1.4^{b}	4.1 ± 1.3^{b}	5.5 ± 1.1^{a}	4.7 ± 1.3^{a}
ETT	5.4 ± 1.3^{a}	4.8 ± 1.3^{ab}	4.8 ± 1.2^{ab}	5.6 ± 1.2^{a}	5.2 ± 1.2^{a}
EAP	5.3 ± 1.3^{a}	5.4 ± 1.3^{a}	5.2 ± 1.3^{a}	5.7 ± 1.5^{a}	5.5 ± 1.3^{a}

Los puntajes están dados como promedio ± DE; diferentes letras superíndice en los tratamientos indican diferencias significativas ($p < 0.05$). Extracto de ajo en oleína de palma a temperatura ambiente (ETA), extracto de ajo en oleína de palma con tratamiento térmico (ETT), extracto de ajo en polvo en oleína de palma (EAP).

Respecto a la preferencia entre las muestras, en los atributos de color, crujencia y valoración global no se observó diferencia significativa entre la muestra control y las muestras de papa freídas con la incorporación de ajo en los distintos tipos de extracto. En contraste, en los atributos de olor y sabor el puntaje otorgado a las muestras de papa freídas con la adición del extracto de ajo a temperatura ambiente fue significativamente más bajo que el control, como se observó en la prueba de aceptabilidad. Además, se observa que los compuestos organosulfurados volátiles (sulfuros de alilo) influyen más en el atributo de olor (Tabla 9).

Tabla 9. Resultados de la prueba de preferencia.

	Más preferida			**Menos preferida**
Color	MTA (71)	MAP (64)	MTT (64)	Control (51)
	$Q_{obs} = 5.02 < Q_{crit}(\alpha = 0.05) = 7.81$			
Olor	Control (79)	MAP (69)		
		MAP (69)	MTT (57)	
			MTT (57)	MTA (45)
	$Q_{obs} = 15.62 > Q_{crit}(\alpha = 0.05) = 7.81$			
Sabor	Control (75)	MAP (66)	MTT (63)	
				MTA (47)
	$Q_{obs} = 12.82 > Q_{crit}(\alpha = 0.05) = 7.81$			
Crujencia	MAP (68)	Control (67)	MTT (60)	MTA (55)
	$Q_{obs} = 2.71 < Q_{crit}(\alpha = 0.05) = 7.81$			
Valoración global	Control (71)	MAP (64)	MTT (62)	MTA (53)
	$Q_{obs} = 4.10 < Q_{crit}(\alpha = 0.05) = 7.81$			

Muestra en la misma fila (naranja) no tienen diferencia significativa ($p > 0.05$); Valor entre parentesis corresponde al puntaje obtenido de los diferentes tratamientos. Extracto de ajo en oleína de palma a temperatura ambiente (ETA), extracto de ajo en oleína de palma con tratamiento térmico (ETT), extracto de ajo en polvo en oleína de palma (EAP).

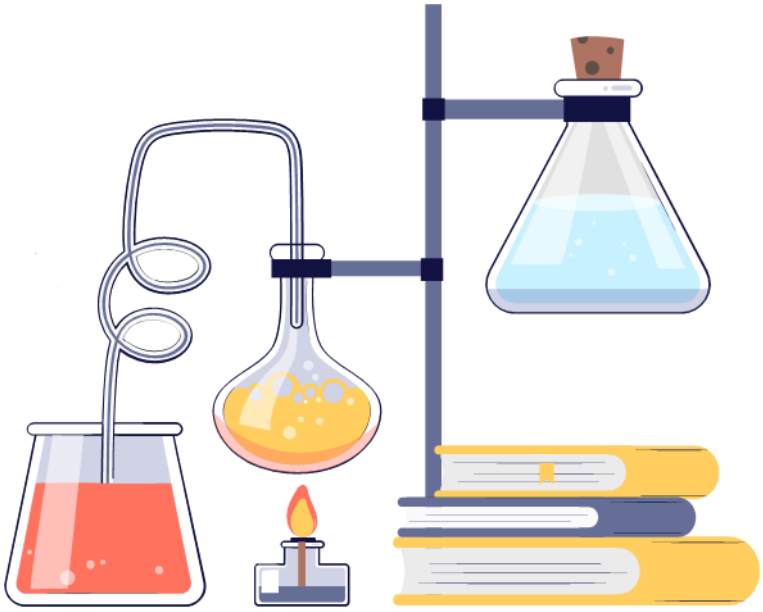
Como se puede observar tanto en la prueba de aceptabilidad como en la prueba de preferencia los aspectos de color, crujencia y valoración global no tuvieron diferencias significativas entre la papa control y las papas que fueron freídas con la adición de tioles, en donde se observó menor aprobación fueron en los atributos de sabor y olor. En un estudio donde se evaluó la aceptabilidad de papas fritas freídas al vacío el aspecto que más afecto fue el sabor, por lo que es importante considerar ese aspecto en cualquier modificación que se aplique al proceso de freído de papa debido a que los consumidores están muy familiarizados con el sabor característico de papa frita.

En general la incorporación de los tioles al freído de papas no afecto ni en las propiedades fisicoquímicas ni en las pruebas organolépticas alcanzando un porcentaje de disminución de acrilamida del 40%, teniendo la ventaja que al utilizar un alimento común como lo es el ajo el precio se reduce favoreciendo la producción de papa frita a nivel industrial.

5.4. Conclusiones

- El extracto de ajo con tratamiento térmico obtuvo mayor contenido de tioles ($2.0x10^{-5}$ M), seguido del extracto de ajo en polvo $1.0x10^{-5}$ M.
- En la evaluación HS-SPME-GC-MS se observó que en el extracto de ajo en polvo en oleína de palma contenía tres compuestos organosulfurados provenientes del ajo (alil mercaptano, disulfuro de dialilo y trisulfuro de metil-2-propenilo) y un aromatizante (4-mercapto-4-metil-2-pentanona). El compuesto que posiblemente esté involucrado en la reacción con acrilamida es el alil mercaptano debido a que como los tioles son los que reaccionan con la acrilamida, no así los sulfuros.
- El porcentaje de disminución de acrilamida fue diferente dependiendo el tipo de extracto de ajo, el mayor porcentaje se obtuvo al utilizar el extracto de ajo en oleína de palma con tratamiento térmico (41%), seguido del extracto de ajo en polvo (32%), y el extracto de ajo a temperatura ambiente (22%). Este fenómeno se debe a que los tioles, aunque se adicionaron en la misma concentración, la velocidad de reacción con acrilamida es diferente como se observó en la evaluación cinética.
- Si bien los porcentajes de humedad y grasa cruda difieren significativamente entre la papa control y las papas freídas con la adición de tioles obtenidos de los diferentes extractos de ajo, los valores resultantes se encuentran en el intervalo descrito por la PROFECO para este tipo de alimentos.
- En el análisis sensorial, tanto en la prueba de aceptabilidad como en la prueba de preferencia no se observaron diferencias significativas en las muestras de papa freídas con la adición de tioles obtenidos del extracto de ajo con tratamiento térmico y del extracto de ajo en polvo respecto al control en los atributos evaluados. Por lo tanto, los extractos de ajo antes mencionados son las opciones para evaluar la disminución de acrilamida a nivel industrial.

REFERENCIAS



6. Referencias

Aafria, S., & Sharma, M. (2024). Graphene quantum dots mediated acrylamide biosensing. *Microchemical Journal*, *204*, 110956.

Abdalla, S., & Al-Ghamdi, A. A. (2011). Electrical energy from foods. *Journal of Renewable and Sustainable Energy*, *3*, 063106.

Adam, M., Dobiáš, P., Eisner, A., & Ventura, K. (2009). Extraction of antioxidants from plants using ultrasonic methods and their antioxidant capacity. *Journal of Separation Science*, *32*, 288-294.

Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science*, *4*, 200-214.

Albishri, H. M., & Abd El-Hady, D. (2014). Eco-friendly ionic liquid based ultrasonic assisted selective extraction coupled with a simple liquid chromatography for the reliable determination of acrylamide in food samples. *Talanta*, *118*, 129-136.

Ando, Y., Mizutani, K., & Wakatsuki, N. (2014). Electrical impedance analysis of potato tissues during drying. *Journal of Food Engineering*, *121*, 24-31.

Antunes-Rohling, A., Ciudad-Hidalgo, S., Mir-Bel, J., Raso, J., Cebrián, G., & Álvarez, I. (2018). Ultrasound as a pretreatment to reduce acrylamide formation in fried potatoes. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *49*, 158-169.

Atsen, D. M. M., Okechalu, B. O., & Luka, D. (2024). Evaluation of the Microbiological, Sensory and Nutritional Quality of Chips Produced from Four Varieties of Potato (*Solanum tuberosum*). *Acta Scientific Microbiology*, *7*, 25-36.

Atta, R., Arafat, H. E. K., Khalil, I. A., Ali, D. A., Abd El-Fadeal, N. M., Kattan, S. W., Alelwani, W., Fawzy, M., & Mansour, M. F. (2025). Enhanced hepatoprotective efficacy of quercetin nanoparticles versus free quercetin against acrylamide-induced hepatotoxicity through modulation of MAPK/NF-κB/NLRP3 signaling pathways and molecular docking validation. *Tissue and Cell*, *95*, 102936.

Augustine, D. A., & Bent, G. A. (2022). Acrylamide, a toxic Maillard by-product and its inhibition by sulphur-containing compounds: A mini review. *Frontiers in Food Science and Technology*, *2*, 1072675.

Augustine, D. A., Bent, G. A., & Nelson, P. N. (2021). Mechanistic evidence for the effect of sulphur-based additive: Methionine, on acrylamide reduction. *Food Additives & Contaminants: Part A*, *38*, 1324-1331.

Belgin Erdoğdu, S., Palazoğlu, T. K., Gökmen, V., Şenyuva, H. Z., & Ekiz, H. İ. (2007). Reduction of acrylamide formation in French fries by microwave pre-cooking of potato strips. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *87*, 133-137.

Bent, G. A., Maragh, P., Dasgupta, T., Fairman, R. A., & Grierson, L. (2015). Kinetic and density functional theory (DFT) studies of in vitro reactions of acrylamide with the thiols: captopril, L-cysteine, and glutathione. *Toxicology Research*, *4*, 121-131.

Bertuzzi, T., Rastelli, S., Mulazzi, A., & Pietri, A. (2017). Survey on acrylamide in roasted coffee and barley and in potato crisps sold in Italy by a LC-MS/MS method. *Food Additives & Contaminants: Part B*, *10*, 292-299.

Bhattacharya, S., Kalita, K., Čep, R., & Chakraborty, S. (2021). A comparative analysis on prediction performance of regression models during machining of composite materials. *Materials*, *14*, 6689.

Bose, A., & Bhattacharjee, P. (2023). Acrylamide mitigation and 2,4-decadienal elimination in potato-crisps using L-proline accompanied by modified processing conditions. *Journal of Food Science and Technology*, *60*, 925-937.

Brat, P. (2008). Rapid analysis of phytochemicals in fruit and vegetables in F. A. Tomás-Barberán, M. I. Gil (Eds), *Improving the health-promoting properties of fruit and vegetable products* (pp. 248-278). CABI Digital Library, France.

Brodnitz, M. H., Pascale, J. V., & Van Derslice, L. (1971). Flavor components of garlic extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *19*, 273-275.

Cai, X. J., Uden, P. C., Block, E., Zhang, X., Quimby, B. D., & Sullivan, J. J. (1994). Allium chemistry: Identification of natural abundance organoselenium volatiles from garlic, elephant garlic, onion, and Chinese chive using headspace gas chromatography with atomic emission detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *42*, 2081-2084.

Calleman, C. J., Bergmark, E., & Costa, L. G. (1990). Acrylamide is metabolized to glycidamide in the rat: evidence from hemoglobin adduct formation. *Chemical Research in Toxicology*, *3*, 406-412.

Campos, D., Chirinos, R., Huaraca-Espinoza, P., Aguilar-Galvez, A., García-Ríos, D., Pedreschi, F., & Pedreschi, R. (2024). Atmospheric immersion and vacuum impregnation of gallotannins and hydrolysed gallotannins from tara pods (Caesalpinia spinosa) mitigate acrylamide and enhances the antioxidant power in potato chips. *Food Chemistry*, *436*, 137675.

Cerit, İ., & Demirkol, O. (2021). Application of thiol compounds to reduce acrylamide levels and increase antioxidant activity of French fries. *LWT-Food Science and Technology*, *143*, 111165.

Chai, J. D., & Head-Gordon, M. (2008). Long-range corrected hybrid density functionals with damped atom-atom dispersion corrections. *Physical Chemistry Chemical Physics*, *10*, 6615-6620.

Chakraborty, C., Sharma, A. R., Sharma, G., & Lee, S. S. (2016). Zebrafish: A complete animal model to enumerate the nanoparticle toxicity. *Journal of Nanobiotechnology*, *14*, 1-13.

Champrasert, O., Chu, J., Meng, Q., Viney, S., Holmes, M., Suwannaporn, P., & Orfila, C. (2021). Inhibitory effect of polysaccharides on acrylamide formation in chemical and food model systems. *Food Chemistry*, *363*, 130213.

Chang, B. Y. (2023). A novel analysis method for electrochemical impedance spectra using deep learning. *Electrochimica Acta*, *462*, 142741.

Cheng, K. W., Shi, J. J., Ou, S. Y., Wang, M., & Jiang, Y. (2010). Effects of fruit extracts on the formation of acrylamide in model reactions and fried potato crisps. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *58*, 309-312.

Cheynier, V. (2012). Phenolic compounds: from plants to foods. *Phytochemistry Reviews*, *11*, 153-177.

Chiari, M., Manzocchi, A., & Righetti, P. G. (1990). Formation of a cysteine-acrylamide adduct in isoelectric focusing gels. *Journal of Chromatography A*, *500*, 697-704.

Choldun R., M. I., Santoso, J., & Surendro, K. (2020). Determining the number of hidden layers in neural network by using principal component analysis. In *Intelligent Systems and Applications: Proceedings of the 2019 Intelligent Systems Conference (IntelliSys)* Volume 2 (pp. 490-500). Springer International Publishing.

Chwatko, G., Kuźniak, E., Kubalczyk, P., Borowczyk, K., Wyszczelska-Rokiel, M., & Głowacki, R. (2014). Determination of cysteine and glutathione in cucumber leaves by HPLC with UV detection. *Analytical Methods*, *6*, 8039-8044.

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

Concejero, B., Peña-Gallego, A., Fernández-Zurbano, P., Hernández–Orte, P., & Ferreira, V. (2014). Direct accurate analysis of cysteinylated and glutathionylated precursors of 4-mercapto-4-methyl-2-pentanone and 3-mercaptohexan-1-ol in must by ultrahigh performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, *812*, 250-257.

Conesa, C., García-Breijo, E., Loeff, E., Seguí, L., Fito, P., & Laguarda-Miró, N. (2015). An electrochemical impedance spectroscopy-based technique to identify and quantify fermentable sugars in pineapple waste valorization for bioethanol production. *Sensors*, *15*, 22941-22955.

Corzo-Martínez, M., Corzo, N., & Villamiel, M. (2007). Biological properties of onions and garlic. *Trends in Food Science & Technology*, *18*, 609-625.

Cummins, E., Butler, F., Gormley, R., & Brunton, N. (2008). A methodology for evaluating the formation and human exposure to acrylamide through fried potato crisps. *LWT-Food Science and Technology*, *41*, 854-867.

CX/CF 24/17/12-Programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias comité del Codex sobre contaminantes de los alimentos.

Damodaran, S. (2017). Amino acids, peptides, and proteins, in S. Damodaran, K. L. Parkin (Eds.), *Fennema's Food Chemistry* (5° Ed., pp. 242). CRC Press, NW.

Danehy, J. P., & Parameswaran, K. N. (1968). Acidic dissociation constants of thiols. *Journal of Chemical & Engineering Data*, *13*, 386-389.

De Jesús, C., Hernández-Coronado, G., Girón, J., Barat, J. M., Pagan, M. J., Alcañiz, M., Masot, R., & Grau, R. (2014). Classification of unaltered and altered dry-cured ham by impedance spectroscopy: A preliminary study. *Meat Science*, *98*, 695-700.

De Wilde, T., De Meulenaer, B., Mestdagh, F., Govaert, Y., Vandeburie, S., Ooghe, W., Fraselle, S., Demeulemeester, K., Van Peteghem, C., Calus, A., Degroodt, J. M.,

& Verhé, R. (2005). Influence of storage practices on acrylamide formation during potato frying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *53*, 6550-6557.

Dearfield, K. L., Harrington-Brock, K., Doerr, C. L., Rabinowitz, J. R., & Moore, M. M. (1991). Genotoxicity in mouse lymphoma cells of chemicals capable of Michael addition. *Mutagenesis*, *6*, 519-525.

Di Francesco, A., Mari, M., Ugolini, L., Parisi, B., Genovese, J., Lazzeri, L., & Baraldi, E. (2019). Reduction of acrylamide formation in fried potato chips by *Aureobasidum pullulans* L1 strain. *International Journal of Food Microbiology*, *289*, 168-173.

Drinkwater, J. M., Tsao, R., Liu, R., Defelice, C., & Wolyn, D. J. (2015). Effects of cooking on rutin and glutathione concentrations and antioxidant activity of green asparagus (*Asparagus officinalis*) spears. *Journal of Functional Foods*, *12*, 342-353.

Ducharme, N. A., Reif, D. M., Gustafsson, J. A., & Bondesson, M. (2015). Comparison of toxicity values across zebrafish early life stages and mammalian studies: Implications for chemical testing. *Reproductive Toxicology*, *55*, 3-10.

EFSA CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain). 2015. Scientific opinion on acrylamide in food. *EFSA Journal*, *13*, 4104

EFSA Panel on Food Additives and Flavourings (2020). Scientific opinion on flavouring group evaluation 91, revision 3 (FGE. 91Rev3): consideration of aliphatic, aromatic and *α,β*-unsaturated sulfides and thiols evaluated by JECFA (53rd, 61st, 68th and 76th meetings), structurally related to substances in FGE. 08Rev5. *EFSA Journal*, 18, 6154.

Erdős, B., Grachten, M., Czermak, P., & Kovács, Z. (2018). Artificial neural network-assisted spectrophotometric method for monitoring fructo-oligosaccharides production. *Food and Bioprocess Technology*, *11*, 305-313.

European Commission, D.G.F.H.; Safety, F. Commission Regulation (EU) 2017/2158. 2017.

Ezeorba, T. P. C., Chukwudozie, K. I., Ezema, C. A., Anaduaka, E. G., Nweze, E. J., & Okeke, E. S. (2022). Potentials for health and therapeutic benefits of garlic essential oils: Recent findings and prospects. *Pharmacological Research-Modern Chinese Medicine*, *3*, 100075.

Faria, M., Ziv, T., Gómez-Canela, C., Ben-Lulu, S., Prats, E., Novoa-Luna, K. A., Admon, A., Piña, B., Tauler, R., Gómez-Oliván, L. M., & Raldúa, D. (2018). Acrylamide acute neurotoxicity in adult zebrafish. *Scientific Reports*, *8*, 7918.

FDA. (2003). Detection and Quantitation of Acrylamide in Foods. Recuperado el 04 de junio de 2025 de https://www.fda.gov/food/process-contaminants-food/detection-and-quantitation-acrylamide-foods

FDA. (2016). Guidance for Industry Acrylamide in Foods.

Ferrer-Aguirre, A., Romero-González, R., Vidal, J. L. M., & Frenich, A. G. (2016). Simple and fast determination of acrylamide and metabolites in potato chips and grilled asparagus by liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *Food Analytical Methods*, *9*, 1237-1245.

Font, R., del Río-Celestino, M., Cartea, E., & de Haro-Bailón, A. (2005). Quantification of glucosinolates in leaves of leaf rape (*Brassica napus* ssp. pabularia) by near-infrared spectroscopy. *Phytochemistry*, *66*, 175-185.

Francl, M. M., Pietro, W. J., Hehre, W. J., Binkley, J. S., Gordon, M. S., DeFrees, D. J., & Pople, J. A. (1982). Self-consistent molecular orbital methods. XXIII. A polarization-type basis set for second-row elements. *The Journal of Chemical Physics*, *77*, 3654-3665.

Friedman, M., Cavins, J. F., & Wall, J. S. (1965). Relative nucleophilic reactivities of amino groups and mercaptide ions in addition reactions with *α,β*-unsaturated compounds1, 2. *Journal of the American Chemical Society*, *87*, 3672-3682.

Gálvez Mariscal, A., Flores Argüello, I., Farrés González Saravia, A. (2006). Proteínas, en S. Badui Dergal, *Química de los alimentos* (4° Ed., pp. 122). Pearson Educación, México.

Garcés, I. C., & Cuéllar, M. C. (1997). Productos derivados de la industria de la palma de aceite: usos. *Palmas*, *18*, 33-48.

Garg, R., & Singla, N. (2025). An architecture for acrylamide detection in carbohydrate-rich food products using deep learning method. *Journal of Food Composition and Analysis*, *142*, 107497.

Genovese, J., Tappi, S., Luo, W., Tylewicz, U., Marzocchi, S., Marziali, S., Romani, S., Ragni, L., & Rocculi, P. (2019). Important factors to consider for acrylamide

mitigation in potato crisps using pulsed electric fields. Innovative *Food Science & Emerging Technologies*, *55*, 18-26.

Ghalebi, M., Hamidi, S., & Nemati, M. (2019). High-performance liquid chromatography determination of acrylamide after its extraction from potato chips. *Pharmaceutical Sciences*, *25*, 338-344.

Ghiasvand, A. R., & Hajipour, S. (2016). Direct determination of acrylamide in potato chips by using headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-flame ionization detection. *Talanta*, *146*, 417-422.

Gobal, F., & Dilmaghani, A. S. (2008). Artificial neural network aided estimation of the electrochemical signals of monosaccharides on gold electrode. *Carbohydrate Research*, *343*, 1359-1365.

Granda, C., Moreira, R. G., & Tichy, S. E. (2004). Reduction of acrylamide formation in potato chips by low-temperature vacuum frying. *Journal of Food Science*, *69*, E405-E411.

Gupta, D., Shrivastava, S., Gupte, S. S., & Shukla, S. (2024). Caffeic acid attenuates acrylamide induced biochemical, haematological, and histological alterations in rats. *Pharmacological Research-Natural Products*, *3*, 100031.

Halford, N. G., Curtis, T. Y., Muttucumaru, N., Postles, J., & Mottram, D. S. (2011). Sugars in crop plants. *Annals of Applied Biology*, *158*, 1-25.

Halford, N. G., Muttucumaru, N., Powers, S. J., Gillatt, P. N., Hartley, L., Elmore, J. S., & Mottram, D. S. (2012). Concentrations of free amino acids and sugars in nine potato varieties: effects of storage and relationship with acrylamide formation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*, 12044-12055.

He, J. H., Gao, J. M., Huang, C. J., & Li, C. Q. (2014). Zebrafish models for assessing developmental and reproductive toxicity. *Neurotoxicology and Teratology*, *42*, 35-42.

Hidalgo, F. J., Delgado, R. M., & Zamora, R. (2011). Positive interaction between amino and sulfhydryl groups for acrylamide removal. *Food Research International*, *44*, 1083-1087.

Hu, Q., Xu, X., Li, Z., Zhang, Y., Wang, J., Fu, Y., & Li, Y. (2014). Detection of acrylamide in potato chips using a fluorescent sensing method based on acrylamide

polymerization-induced distance increase between quantum dots. *Biosensors and Bioelectronics*, *54*, 64-71.

Huang, M., Jiao, J., Wang, J., Xia, Z., & Zhang, Y. (2018). Exposure to acrylamide induces cardiac developmental toxicity in zebrafish during cardiogenesis. *Environmental Pollution*, *234*, 656-666.

Huber, k. & BeMiller J. (2017). Carbohydrates. In S. Damodaran & K. Parkin, Edits., *Fennema´s Food Chemistry* (5 ed., pp 110-113). Boca Raton, Florida, USA: CRC Press.

Hwang, I. S., & Kim, M. K. (2022). Determination of aroma characteristics of commercial garlic powders distributed in Korea via instrumental and descriptive sensory analyses. *Preventive Nutrition and Food Science*, *27*, 464.

Ichikawa, M., Ide, N., Yoshida, J., Yamaguchi, H., & Ono, K. (2006). Determination of seven organosulfur compounds in garlic by high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *54*, 1535-1540.

Iciek, M., Kwiecień, I., & Włodek, L. (2009). Biological properties of garlic and garlic-derived organosulfur compounds. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, *50*, 247-265.

Ismial, S. A. A., Ali, R. F. M., Askar, M. & Samy, W. M. (2013). Impact of Pre-Treatments on the Acrylamide Formation and Organoleptic Evolution of Fried Potato Chips. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, *9*, 90-101.

ISO 8587:2011. Análisis sensorial-Metodología-Ordenamiento.

Itakura, Y., Ichikawa, M., Mori, Y., Okino, R., Udayama, M., & Morita, T. (2001). How to distinguish garlic from the other Allium vegetables. *The Journal of Nutrition*, *131*, 963S-967S.

Jocelyn, P. C. (1987). Chemical reduction of disulfides. In *Methods in enzymology* (Vol. 143, pp. 246-256). Academic Press.

Johari, M. (2021). Características del aceite de palma/oleína de palma como aceite de fritura. *Palmas*, *42*, 70-75.

Jung, S., Yi, Y., Chang, M., Lee, I., Kim, M., Kim, H., Yoo, I., & Shin, Y. (2021). An improved extraction method for acrylamide determination in fruit and vegetable chips through enzyme addition. *Food Chemistry*, *360*, 129740.

Kahkeshani, N., Saeidnia, S., & Abdollahi, M. (2015). Role of antioxidants and phytochemicals on acrylamide mitigation from food and reducing its toxicity. *Journal of Food Science and Technology*, *52*, 3169-3186.

Kalaras, M. D., Richie, J. P., Calcagnotto, A., & Beelman, R. B. (2017). Mushrooms: A rich source of the antioxidants ergothioneine and glutathione. *Food Chemistry*, *233*, 429-433.

Kang, C., Ma, H., Li, Y., Zhang, C., Hong, Y., & Shao, M. (2020). Determination of acrylamide in foods by automatic accelerated solvent extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Acta Chromatographica*, *33*, 64-72.

Karimi, G., & Rashedinia, M. (2014). Acrylamide in P. Wexler (Editor) *Encyclopedia of Toxicology* (3rd. Ed., Vol. 1, pp. 69-73). Elsevier.

Keleş, D., Taşkın, H., Baktemur, G., Kafkas, E., & Büyükalaca, S. (2014). Comparative study on volatile aroma compounds of two different garlic types (Kastamonu and Chinese) using gas chromatography mass spectrometry (HS-GC/MS) technique. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, *11*, 217-220.

Kobayashi, A., Gomikawa, S., Yamazaki, A., Sato, S., & Konishi, T. (2014). Elimination of acrylamide by moderate heat treatment below 120 C with lysine and cysteine. *Food Science and Technology Research*, *20*, 979-985.

Kodera, Y., Ushijima, M., Amano, H., Suzuki, J. I., & Matsutomo, T. (2017). Chemical and biological properties of S-1-propenyl-L-cysteine in aged garlic extract. *Molecules*, *22*, 570.

Koklamaz, E., Palazoğlu, T. K., Kocadağlı, T., & Gökmen, V. (2014). Effect of combining conventional frying with radio-frequency post-drying on acrylamide level and quality attributes of potato chips. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *94*, 2002-2008.

Koszucka, A., & Nowak, A. (2019). Thermal processing food-related toxicants: A review. Critical *Reviews in Food Science and Nutrition*, *59*, 3579-3596.

Krishnan, R. B. J. S., Binkley, J. S., Seeger, R., & Pople, J. A. (1980). Self-consistent molecular orbital methods. XX. A basis set for correlated wave functions. *The Journal of Chemical Physics*, *72*, 650-654.

Kue, C. S., & Kumar, S. (2024). Nonmammalian models in toxicology screening in P. Wexler (Ed.), *Encyclopedia of Toxicology* (4° Ed., Vol. 6, pp. 971-985). National Library of Medicine, USA.

Kumar, D., Singh, B. P., & Kumar, P. (2004). An overview of the factors affecting sugar content of potatoes. *Annals of Applied Biology*, *145*, 247-256.

Labrador, R. H., Masot, R., Alcañiz, M., Baigts, D., Soto, J., Martínez-Mañez, R., García-Breijo, E., Gil, L., & Barat, J. M. (2010). Prediction of NaCl, nitrate and nitrite contents in minced meat by using a voltammetric electronic tongue and an impedimetric sensor. *Food Chemistry*, *122*, 864-870.

Ledbetter, M., Blidi, S., Ackon, S., Bruno, F., Sturrock, K., Pellegrini,N., & Fiore, A. (2021). Effect of novel sequential soaking treatments on Maillard reaction products in potato and alternative vegetable crisps. *Heliyon*, *7*, e07441.

Li, K., Zhan, P., Tian, H., Wang, P., & Ji, Y. (2021). Effects of drying time on the aroma of garlic (*Allium sativum* L.) seasoning powder. *Flavour and Fragrance Journal*, *36*, 99-110.

Li, X., Teng, W., Liu, G., Guo, F., Xing, H., Zhu, Y., & Li, J. (2022). Allicin promoted reducing effect of garlic powder through acrylamide formation stage. *Foods*, *11*, 2394.

List of classifications. (s/f). WHO.int. Recuperado el 27 de marzo de 2025 de https://monographs.iarc.who.int/list-of-classifications.

Liu, C., Luo, F., Chen, D., Qiu, B., Tang, X., Ke, H., & Chen, X. (2014). Fluorescence determination of acrylamide in heat-processed foods. *Talanta*, *123*, 95-100.

Liu, H., Li, X., & Yuan, Y. (2020). Mitigation effect of sodium alginate on acrylamide formation in fried potato chips system based on response surface methodology. *Journal of Food Science*, *85*, 2615-2621.

Luo, Y. S., Long, T. Y., Shen, L. C., Huang, S. L., Chiang, S. Y., & Wu, K. Y. (2015). Synthesis, characterization and analysis of the acrylamide-and glycidamide-glutathione conjugates. *Chemico-Biological Interactions*, *237*, 38-46.

Luque Sainz, E. J. (2014). Nuevas variedades de papa en el norte de Sinaloa. Fundación produce Sinaloa.

Maan, A. A., Anjum, M. A., Khan, M. K. I., Nazir, A., Saeed, F., Afzaal, M., & Aadil, R. M. (2022). Acrylamide formation and different mitigation strategies during food processing-a review. *Food Reviews International*, *38*, 70-87.

Maga, J. A., & Katz, I. (1976). The role of sulfur compounds in food flavor part III: Thiols. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, *7*, 147-192.

Manfugás, J. E. (2020). *Evaluación sensorial de los alimentos*. Editorial Universitaria, Ciudad de La Habana, Cuba.

Mansor, N., Herng, H. J., Samsudin, S. J., Sufian, S., & Uemura, Y. (2016). Quantification and characterization of allicin in garlic extract. *Journal of Medical and Bioengineering*, *5*, 24-27.

Marenich, A. V., Cramer, C. J., & Truhlar, D. G. (2009). Universal solvation model based on solute electron density and on a continuum model of the solvent defined by the bulk dielectric constant and atomic surface tensions. *The Journal of Physical Chemistry B*, *113*, 6378-6396.

Martínez, E., Rodríguez, J. A., Bautista, M., Rangel-Vargas, E., & Santos, E. M. (2018). Use of 2-Naphthalenethiol for derivatization and determination of acrylamide in potato crisps by high-performance liquid chromatographic with fluorescence detection. *Food Analytical Methods*, *11*, 1636-1644.

Martinez, E., Rodriguez, J. A., Mondragon, A. C., Lorenzo, J. M., & Santos, E. M. (2019). Influence of potato crisps processing parameters on acrylamide formation and bioaccesibility. *Molecules*, 24, 3827

Martín-García, B., De Montijo-Prieto, S., Jiménez-Valera, M., Carrasco-Pancorbo, A., Ruiz-Bravo, A., Verardo, V., & Gómez-Caravaca, A. M. (2022). Comparative extraction of phenolic compounds from olive leaves using a sonotrode and an ultrasonic bath and the evaluation of both antioxidant and antimicrobial activity. *Antioxidants*, *11*, 558.

Maurya, R., Singh, S., Pathak, V. K., & Dutta, M. K. (2021). Computer-aided automatic detection of acrylamide in deep-fried carbohydrate-rich food items using deep learning. *Machine Vision and Applications*, *32*, 79.

McLean, A. D., & Chandler, G. S. (1980). Contracted Gaussian basis sets for molecular calculations. I. Second row atoms, Z= 11-18. *The Journal of Chemical Physics*, *72*, 5639-5648.

Meghavarnam, A. K., & Janakiraman, S. (2018). Evaluation of acrylamide reduction potential of L-asparaginase from *Fusarium culmorum* (ASP-87) in starchy products. *LWT-Food Science and Technology*, *89*, 32-37.

Mestdagh, F. J., De Meulenaer, B., Van Poucke, C., Detavernier, C. L., Cromphout, C., & Van Peteghem, C. (2005). Influence of oil type on the amounts of acrylamide generated in a model system and in French fries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *53*, 6170-6174.

Miękus, N., Marszałek, K., Podlacha, M., Iqbal, A., Puchalski, C., & Świergiel, A. H. (2020). Health benefits of plant-derived sulfur compounds, glucosinolates, and organosulfur compounds. *Molecules*, *25*, 3804.

Molina-Garcia, L., Santos, C. S. P., Melo, A., Fernandes, J. O., Cunha, S. C., & Casal, S. (2015). Acrylamide in chips and French fries: a novel and simple method using xanthydrol for its GC-MS determination. *Food Analytical Methods*, *8*, 1436-1445.

Montesinos López, O. A., Montesinos López, A., & Crossa, J. (2022). Fundamentals of artificial neural networks and deep learning. In *Multivariate statistical machine learning methods for genomic prediction* (pp. 379-425). Cham: Springer International Publishing.

Montesinos López, O. A., Montesinos López, A., & Crossa, J. (2022). Preprocessing Tools for Data Preparation. In *Multivariate Statistical Machine Learning Methods for Genomic Prediction* (pp. 35-70). Cham: Springer International Publishing.

Morales, G., Jimenez, M., Garcia, O., Mendoza, M. R., & Beristain, C. I. (2014). Effect of natural extracts on the formation of acrylamide in fried potatoes. *LWT-Food Science and Technology*, *58*, 587-593.

Muñoz, R., Santos, E. M., Guevara-Lara, A., Vazquez-Garcia, R. A., Islas-Rodriguez, N., & Rodriguez, J. A. (2022). Fluorescence assay for acrylamide determination in fried products based on AgInS 2/ZnS quantum dots. *Analytical Methods*, *14*, 1797-1802.

Nair, D. P., Podgorski, M., Chatani, S., Gong, T., Xi, W., Fenoli, C. R., & Bowman, C. N. (2014). The thiol-Michael addition click reaction: a powerful and widely used tool in materials chemistry. *Chemistry of Materials*, *26*, 724-744.

Namuduri, S., Narayanan, B. N., Davuluru, V. S. P., Burton, L., & Bhansali, S. (2020). Deep learning methods for sensor based predictive maintenance and future

perspectives for electrochemical sensors. *Journal of The Electrochemical Society*, *167*, 037552.

Negoiță, M., Mihai, A. L., Horneț, G. A., & Duță, D. E. (2020). Development of SPE clean-up procedure for acrylamide determination from potato-based products by GC-MS/MS. *Open Agriculture*, *5*, 305-316.

Nian, H., Delage, B., Pinto, J. T., & Dashwood, R. H. (2008). Allyl mercaptan, a garlic-derived organosulfur compound, inhibits histone deacetylase and enhances Sp3 binding on the P21WAF1 promoter. *Carcinogenesis*, *29*, 1816-1824.

OECD (2013), Test No. 236: Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, Paris.

Oellig, C., Gottstein, E., & Granvogl, M. (2022). Analysis of acrylamide in vegetable chips after derivatization with 2-mercaptobenzoic acid by liquid chromatography-mass spectrometry. *European Food Research and Technology*, *248*, 937-946.

Olsson, K., Svensson, R., & Roslund, C. A. (2004). Tuber components affecting acrylamide formation and colour in fried potato: variation by variety, year, storage temperature and storage time. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *84*, 447-458.

Oracz, J., Nebesny, E., & Żyżelewicz, D. (2011). New trends in quantification of acrylamide in food products. *Talanta*, *86*, 23-34.

Panda, S. K., & Mohanty, S. N. (2023). Time series forecasting and modeling of food demand supply chain based on regressors analysis. *IEEE Access*, *11*, 42679-42700.

Pardina, D., Santamaria, A., Alonso, M. L., Bartolomé, L., Alonso, R. M., Maña, J. A., Bilbao, E., Lombraña, J. I., Bartolome, M., & Hernando, L. M. (2023). HS-SPME-GC/MS Method for the simultaneous determination of trihalomethanes, geosmin, and 2-Methylisoborneol in water samples. *Chemosensors*, *11*, 84.

Park, J. S., Samanta, P., Lee, S., Lee, J., Cho, J. W., Chun, H. S., Yoon, S., & Kim, W. K. (2021). Developmental and neurotoxicity of acrylamide to zebrafish. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*, 3518.

Pearson, R. G. (2005). Chemical hardness and density functional theory. *Journal of Chemical Sciences*, *117*, 369-377.

Pedreschi, F. (2012). Frying of potatoes: physical, chemical, and microstructural changes. *Drying Technology*, *30*, 707-725.

Perdew, J. P., Burke, K., & Ernzerhof, M. (1996). Generalized gradient approximation made simple. *Physical Review Letters*, *77*, 3865.

Pernice, R., Hauder, J., Koehler, P., Vitaglione, P., Fogliano, V., & Somoza, V. (2009). Effect of sulforaphane on glutathione-adduct formation and on glutathione-S-transferase-dependent detoxification of acrylamide in Caco-2 cells. *Molecular Nutrition & Food Research*, *53*, 1540-1550.

Pershina, E. D., Burda, V. E., Kazdobin, K. A., & Kokhanenko, V. V. (2013). Identification of the sugars content in the production of champagne by the electrochemical impedance spectroscopy method. *Surface Engineering and Applied Electrochemistry*, *49*, 348-354.

Pham, H. T., & Hoang, H. M. (2020). Factors affecting acrylamide mitigation in fried potatoes. *Science and Technology Development Journal*, *23*, 548-554.

Poole, C. F. (2002). Principles and practice of solid-phase extraction. In *Comprehensive analytical chemistry* (vol. 37, pp. 341-387). Elsevier.

PROFECO. (2021). Estudio de calidad-Papas Fritas. *Revista del consumidor*, 10-23.

Rao, A. V., & Rao, L. G. (2007). Carotenoids and human health. *Pharmacological Research*, *55*, 207-216.

Rifai, L., & Saleh, F. A. (2020). A review on acrylamide in food: Occurrence, toxicity, and mitigation strategies. *International Journal of Toxicology*, *39*, 93-102.

Rong, Y., Ali, S., Ouyang, Q., Wang, L., Wang, B., & Chen, Q. (2021). A turn-on up conversion fluorescence sensor for acrylamide in potato chips based on fluorescence resonance energy transfer and thiol-ene Michael addition. *Food Chemistry*, *351*, 129215.

Russell, W. M. S., Burch, R. L., & Hume, C. W. (1959). The principles of humane experimental technique (vol. 238). London: Methuen.

Sahoo, S., Awasthi, J.P., Sunkar, R., & Panda, S.K. (2017). Determining glutathione levels in plants. in: R. Sunkar (Ed.) *Plant Stress Tolerance. Methods in Molecular Biology* (vol. 1631, pp. 273-277). Humana Press, New York.

Saran, V. P., & Chhabra, P. (2014). Studies on the parameters of potato processing. *International Interdisciplinary Research Journal*, 4, 320-33.

Schouten, M. A., Genovese, J., Tappi, S., Di Francesco, A., Baraldi, E., Cortese, M., Caprioli, G., Angeloni, S., Vittori, S., Rocculi, P., & Romani, S. (2020). Effect of innovative pre-treatments on the mitigation of acrylamide formation in potato chips. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *64*, 102397.

Sebastià, A., Pallarés, N., Bridgeman, L., Juan-García, A., Castagnini, J. M., Ferrer, E., Barba, F. J., & Berrada, H. (2023). A critical review of acrylamide green extraction and determination in food matrices: Current insights and future perspectives. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *167*, 117267.

Silverstein, R. M., Webster, F. X., & Kiemle, D. J. (2005). *Spectrometric identification of organic compounds* (7th ed.). John Wiley and Sons. New York.

Smeesters, L., Magnus, I., Virte, M., Thienpont, H., & Meulebroeck, W. (2021). Potato quality assessment by monitoring the acrylamide precursors using reflection spectroscopy and machine learning. *Journal of Food Engineering*, *311*, 110699.

Soares, C., Machado, J. T., Lopes, A. M., Vieira, E., & Delerue-Matos, C. (2020). Electrochemical impedance spectroscopy characterization of beverages. *Food Chemistry*, 302, 125345.

Spitznagel, G. W., Clark, T., von Ragué Schleyer, P., & Hehre, W. J. (1987). An evaluation of the performance of diffuse function-augmented basis sets for second row elements, Na-Cl. *Journal of Computational Chemistry*, *8*, 1109-1116.

Sun, Y., Liu, H., Cheng, L., Zhu, S., Cai, C., Yang, T., Yang, L., & Ding, P. (2018). Thiol Michael addition reaction: a facile tool for introducing peptides into polymer-based gene delivery systems. *Polymer International*, *67*, 25-31.

Tong, G. C., Cornwell, W. K., & Means, G. E. (2004). Reactions of acrylamide with glutathione and serum albumin. *Toxicology Letters*, *147*, 127-131.

Trio, P. Z., You, S., He, X., He, J., Sakao, K., & Hou, D. X. (2014). Chemopreventive functions and molecular mechanisms of garlic organosulfur compounds. *Food and Function*, *5*, 833-844.

Truong, L., & Tanguay, R. L. (2017). Evaluation of embryotoxicity using the zebrafish model. in *Drug Safety Evaluation: Methods and Protocols* (pp. 325-333). Springer.New York.

Viklund, G. Å., Olsson, K. M., Sjöholm, I. M., & Skog, K. I. (2010). Acrylamide in crisps: Effect of blanching studied on long-term stored potato clones. *Journal of Food Composition and Analysis*, *23*, 194-198.

Wade, L. G. (2004). Sustituciones en alfa y condensaciones de enoles y de iones enonaltos en L. G. Wade, Química orgánica (Ed. 5, pp. 1042-1046). Pearson. Madrid.

Watts, B. M., Ylimaki, G. L., Jeffery, L. E., & Elías, L. G. (1992). *Métodos sensoriales básicos para la evaluación de alimentos*. CIID, Ottawa, ON, CA.

Wei, Q., Liu, T., Pu, H., & Sun, D. W. (2020). Determination of acrylamide in food products based on the fluorescence enhancement induced by distance increase between functionalized carbon quantum dots. *Talanta*, *218*, 121152.

Wu, X., Yan, H., Cao, Y., & Yuan, Y. (2024). Prediction acrylamide contents in fried dough twist based on the application of artificial neural network. *Food Chemistry: X*, *24*, 102007.

Wustman, R., & Struik, P. C. (2007). The canon of potato science: 35. Seed and ware potato storage. *Potato Research*, *50*, 351-355.

Xu, S., & Cho, B. S. (1999). Allyl mercaptan, a major metabolite of garlic compounds, reduces cellular cholesterol synthesis and its secretion in Hep-G2 cells. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, *10*, 654-659.

Yadav, N., Chhillar, A. K., & Pundir, C. S. (2018). Preparation, characterization and application of haemoglobin nanoparticles for detection of acrylamide in processed foods. *International Journal of Biological Macromolecules*, *107*, 1000-1013.

Yoo, M., Kim, S., Lee, S., & Shin, D. (2014). Validated HPLC method and temperature stabilities for oil-soluble organosulfur compounds in garlic macerated oil. *Journal of Chromatographic Science*, *52*, 1165-1172.

Zagal, J. H., & Herrera, P. (1985). Electrochemistry of cysteine and cystine on metal-phthalocyanines adsorbed on a graphite electrode. *Electrochimica Acta*, *30*, 449-454.

Zelmat, A., Hadi, H., Amiali, M., Gashovska, T., & Tilmatine, A. (2017). Determination and analysis of the electrical components of a PEF treated equivalent circuit of potato tissue. *International Journal of Environmental Studies*, *74*, 262-274.

Zhang, Q., Saleh, A. S., Chen, J., & Shen, Q. (2012). Chemical alterations taken place during deep-fat frying based on certain reaction products: A review. *Chemistry and Physics of Lipids*, *165*, 662-681.

Zhang, Y., Chen, J., Zhang, X., Wu, X., & Zhang, Y. (2007). Addition of antioxidant of bamboo leaves (AOB) effectively reduces acrylamide formation in potato crisps and French fries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *55*, 523-528.

Zhu, F., Cai, Y. Z., Ke, J., & Corke, H. (2010). Compositions of phenolic compounds, amino acids and reducing sugars in commercial potato varieties and their effects on acrylamide formation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *90*, 2254-2262.

Zhu, F., Wang, J., Jiao, J., & Zhang, Y. (2021). Exposure to acrylamide induces skeletal developmental toxicity in zebrafish and rat embryos. *Environmental Pollution*, *271*, 116395.

Zhu, Y., Luo, Y., Sun, G., Wang, P., Hu, X., & Chen, F. (2020). Role of glutathione on acrylamide inhibition: Transformation products and mechanism. *Food Chemistry*, *326*, 126982.

Zokaei, M., Kamankesh, M., Abedi, A. S., Moosavi, M. H., Mohammadi, A., Rezvani, M., Shojaee-Aliabadi, S., & Khaneghah, A. M. (2020). Reduction in acrylamide formation in potato crisps: Application of extract and hydrocolloid-based coatings. *Journal of Food Protection*, *83*, 754-761.