

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**



**“MITIGACIÓN DE ACRILAMIDA EN PAPAS FRITAS TIPO
HOJUELAS, ADICIONANDO EXTRACTOS FENÓLICOS
OBTENIDOS DE INCA MUÑA (*Clinopodium bolivianum*)”**

Presentada por:

MARIANELLA DE LOURDES ZEGARRA GANOZA

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO
MAGISTER SCIENTIAE EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

Lima – Perú

2022

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

**“MITIGACIÓN DE ACRILAMIDA EN PAPAS FRITAS
TIPO HOJUELAS, ADICIONANDO EXTRACTOS
FENÓLICOS OBTENIDOS DE INCA MUÑA (*Clinopodium
bolivianum*)”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO
MAGISTER SCIENTIAE**

Presentado por:

MARIANELLA DE LOURDES ZEGARRA GANOZA

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Mg. Sc. Beatriz Hatta Sakoda
PRESIDENTE

Dra. Ana Aguilar Galvez
ASESOR

Dr. David Campos Gutiérrez
CO-ASESOR

Dra. Rossana Chirinos Gallardo
MIEMBRO

Dr. Eduardo Morales Soriano
MIEMBRO

DEDICATORIA

A mi madre, por su infinito amor,
apoyo incondicional y confiar en mí.

A mi papá, mi ángel y guía,
te prometí ser una gran profesional
y luchar por mis sueños.

AGRADECIMIENTO

- Agradecida con Dios, por permitirme cumplir una meta más en mi vida profesional.
- A mis asesores y miembros consejeros por sus enseñanzas, comprensión y paciencia en todo el proceso de la investigación.
- A mis padres, familia y amigos que siempre estuvieron alentándome en todo el sacrificado camino y confiaron en mí.
- A mis compañeros del Instituto de Biotecnología especialmente a Adelayda, Cinthia, Marilyn y Diego que me brindaron su amistad y apoyo durante la etapa experimental de la investigación.
- Al Fondo Nacional de Desarrollo Científico, Tecnológico, y de Innovación Tecnológica-FONDECYT y al Banco Mundial, por el financiamiento para el desarrollo de la presente investigación como parte del proyecto “Mitigación de la formación de neocontaminantes - acrilamida e hidroximetilfurfural durante el procesamiento de papas fritas, mediante la adición de extractos fenólicos antioxidantes obtenidos de tara (*Caesalpinia spinosa*) e Inca Muña (*Clinopodium bolivianum*)” (Convenio de Subvención N° 65-2018-FONDECYT-BM-IADT-AV).

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. PAPA	3
2.1.1. Papa frita tipo hojuelas	3
2.1.2. Reacción de Maillard (RM)	4
2.2. COMPUESTOS FENÓLICOS (CF)	6
2.2.1. Flavonoides (F).....	7
2.2.2. No Flavonoide (NoF).....	7
2.2.3. Capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos.....	9
2.2.4. Inca Muña, fuente natural de compuestos fenólicos.....	9
2.2.5. Purificación de compuestos fenólicos	11
2.3. COMPONENTES TÓXICOS FORMADOS DURANTE EL PROCESO DE FRITURA EN PAPAS	12
2.3.1. Acrilamida (AA).....	12
2.3.2. Hidroximetilfurfural (HMF)	15
2.4. MITIGACIÓN DE AA Y HMF	18
2.4.1. Mecanismo de acción de compuestos fenólicos sobre acrilamida.....	20
III. MATERIALES Y MÉTODOS	22
3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN	22

3.2.	MATERIA PRIMA	22
3.3.	INSUMOS	22
3.4.	MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS.....	22
3.4.1.	Materiales	22
3.4.2.	Equipos	23
3.4.3.	Reactivos.....	24
3.5.	MÉTODOS DE ANÁLISIS	25
3.5.1.	Acidez titulable	25
3.5.2.	Determinación de humedad	25
3.5.3.	Determinación de sólidos solubles	25
3.5.4.	Determinación de compuestos fenólicos	25
3.5.5.	Determinación de la capacidad antioxidante <i>in vitro</i>	26
3.5.6.	Determinación de azúcares	27
3.5.7.	Determinación de acrilamida.....	28
3.5.8.	Determinación de hidroximetilfurfural.....	30
3.5.9.	Determinación de asparagina.....	31
3.5.10.	Análisis de color	32
3.6.	METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	32
3.6.1.	Extracción de fenólicos de Inca Muña.....	32
3.6.2.	Purificación parcial del extracto de Inca Muña por resina de adsorción.....	34
3.6.3.	Sistema modelo glucosa - asparagina	34
3.6.4.	Selección de variedad de papa	35
3.6.5.	Preparación de papas fritas tipo hojuelas.....	35
3.6.6.	Diseño experimental	36

3.6.7. Análisis estadístico	37
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
4.1. CARACTERIZACIÓN DE LAS HOJAS DE INCA MUÑA Y SUS EXTRACTOS	39
4.2. SELECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PAPA FRESCA	40
4.3. ANÁLISIS DE ACRILAMIDA Y COLOR EN HOJUELAS DE PAPA FRITA IMPREGNADOS CON EXTRACTO DE INCA MUÑA	42
4.3.1. Ensayos preliminares	42
4.3.2. Evaluación en Sistema Modelo	45
4.3.3. Evaluación de la fritura de papa con extracto purificado e inmersión a presión atmosférica.....	50
4.3.4. Evaluación de la fritura de papa con extracto purificado e inmersión a presión de vacío	55
4.3.5. Análisis de rodajas de papa frita - mejores tratamientos	60
V. CONCLUSIONES	62
VI. RECOMENDACIONES	64
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65
VIII. ANEXOS.....	80

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Caracterización de hojas de Inca Muña y sus extractos	39
Cuadro 2: Caracterización fisicoquímica de la papa variedad Canchan	41
Cuadro 3: Análisis de acrilamida y color en rodajas de papa frita con Inmersión de solución fenólica de Inca Muña a presión atmosférica	50
Cuadro 4: Análisis de acrilamida y color en rodajas de papa frita con inmersión de solución fenólica de Inca Muña a presión de vacío	56
Cuadro 5: Incremento en el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de papa frita, previa inmersión en solución de compuestos fenólica de Inca Muña	61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de la Reacción de Maillard	5
Figura 2. Núcleo flavan (a) y núcleo 4-oxo-flavonoide (b) de los flavonoides.....	7
Figura 3. Estructura química de la acrilamida.....	12
Figura 4. Rutas de formación de acrilamida a partir del azúcar reductor - asparagina	14
Figura 5. Reacción de formación de acrilamida a partir de acroleína	14
Figura 6. Contenido de acrilamida en diferentes productos alimentarios	15
Figura 7. Estructura química de 5-hidroximetil-2-furfural (HMF)	15
Figura 8. Principales rutas de formación de HMF.....	17
Figura 9. Contenido de HMF en diferentes productos alimentarios.....	18
Figura 10. Posibles reacciones que los polifenoles podrían estar involucrados.....	21
Figura 11. Flujo de operaciones para la obtención del extracto fenólico de Inca Muña.....	33
Figura 12. Diseño experimental del trabajo de investigación	38
Figura 13. Cuantificación de acrilamida (A) y HMF (B), en el Sistema Modelo glucosa – asparagina usando diferentes concentraciones de extracto purificado de Inca Muña	46
Figura 14. Mitigación de acrilamida en papas fritas utilizando compuestos fenólicos de Inca Muña (2 y 1 mg AGE/mL) mediante inmersión a presión atmosférica.	51
Figura 15. Muestras de papa frita tipo hojuelas con inmersión en solución fenólica de Inca Muña a presión atmosférica.....	54
Figura 16. Mitigación de acrilamida en papas fritas utilizando compuestos fenólicos de Inca Muña (2 mg AGE/mL y 1 mg AGE/mL) mediante inmersión a presión de vacío.	56
Figura 17. Muestras de papa frita tipo hojuelas con inmersión en solución fenólica de Inca Muña a presión de vacío.....	58

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: NTP 011-119 “PAPA Y DERIVADOS. Papa. Definiciones y requisitos”	80
Anexo 2: Análisis de acrilamida de pruebas preliminares – inmersión a presión atmosférica con ECCL	82
Anexo 3: Análisis estadístico - Cuantificación de Acrilamida en el Sistema Modelo usando EPPL de Inca Muña	83
Anexo 4: Análisis estadístico - Cuantificación de HMF en el Sistema Modelo usando EPPL de Inca Muña	83
Anexo 5. Análisis estadístico - Mitigación de acrilamida en papa frita tipo hojuelas con previa inmersión a presión atmosférica usando EPPL de Inca Muña	84
Anexo 6. Análisis Estadístico del valor de tono o hue (h^*) en rodajas de papa frita con inmersión a presión atmosférica	85
Anexo 7. Análisis Estadístico del valor de Diferencial de Color Total (ΔE) en rodajas de papa frita con inmersión a presión atmosférica.	85
Anexo 8. Análisis Estadístico de los Compuestos Fenólicos Totales de la solución fenólica después de cada inmersión a presión atmosférica	86
Anexo 9. Análisis Estadístico de los Azúcares Reductores de la solución fenólica después de cada inmersión a presión atmosférica	87
Anexo 11. Análisis Estadístico del valor de tono o hue (h^*) en rodajas de papa frita con inmersión a presión de vacío	88
Anexo 12. Análisis Estadístico del valor de Diferencial de Color Total (ΔE) en rodajas de papa frita con inmersión a presión de vacío.	89
Anexo 13. Análisis Estadístico de los Compuestos Fenólicos Totales de la solución fenólica después de cada inmersión a presión de vacío	89
Anexo 14. Análisis Estadístico de los Azúcares Reductores de la solución fenólica después de cada inmersión a presión de vacío	90

Anexo 15. Análisis estadístico de Compuestos Fenólicos de papa frita tipo hojuelas - los mejores tratamientos.....	91
Anexo 16. Análisis estadístico de Capacidad Antioxidante de papa frita tipo hojuelas - los mejores tratamientos.....	91

RESUMEN

El procesamiento de alimentos a altas temperaturas tiene muchas ventajas; sin embargo, se pueden formar compuestos tóxicos como furanos y acrilamida (subproductos de la reacción de Maillard). La acrilamida está clasificada como probable carcinógeno humano por la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC), lo que ha generado diversas investigaciones con el fin de mitigar su formación en los alimentos. Este trabajo tuvo como objetivo evaluar la influencia de los polifenoles de Inca Muña para la mitigación de acrilamida en el proceso de obtención de papas fritas tipo hojuelas. Las hojas de Inca Muña obtuvieron $91,0 \pm 0,3$ mg AGE/g bs de compuestos fenólicos y $1003,7 \pm 68,0$ μ mol TE/g bs de capacidad antioxidante. El extracto de este fue parcialmente purificado mediante cromatografía de adsorción y liofilizado (EPPL). Previamente se evaluó la mitigación de acrilamida en sistemas modelo (glucosa-asparagina), habiéndose observado hasta 97.1 por ciento de mitigación de acrilamida; mientras que los niveles de hidroximetilfurfural aumentaban. Rodajas de papa Canchan de ~2 mm de espesor y 6 cm de diámetro fueron sumergidas en solución del EPPL a concentraciones de 0, 1 y 2 mg AGE/mL. Se evaluó la impregnación a presión atmosférica y a presión de vacío (0.91 bar) por tiempos de 15, 30, 60 y 120 s, y luego se frieron en aceite (previamente calentado a 180 °C) por cuatro minutos, se determinó el contenido de acrilamida y el color. Los mejores resultados se obtuvieron con: 1 mg AGE/mL e inmersión de presión a vacío por 120 s, 2 mg AGE/mL e inmersión de presión a vacío por 15 s, 2 mg AGE/mL o inmersión a presión atmosférica por 30 s y 60 s, obteniendo 67.4, 59.3, 50.8 y 50.9 por ciento de reducción, respectivamente y un valor de h^* de 85.4, 78.8, 88.5 y 90.3, respectivamente. Los resultados muestran que los mejores tratamientos (mayor porcentaje de mitigación de acrilamida) son aquellos donde las hojuelas de papa retuvieron mayor cantidad de compuestos fenólicos y poseen mayor capacidad antioxidante. Los resultados demuestran que el extracto fenólico purificado de Inca Muña mitiga la formación de acrilamida, obteniendo papas fritas tipo hojuelas con valores de acrilamida inferiores a los máximos permitidos según las normas internacionales (UE 2017/2158).

Palabras clave: acrilamida, reacción Maillard, papas fritas tipo hojuelas, *Clinopodium bolivianum*, compuestos fenólicos.

ABSTRACT

High temperature food processing has many advantages; however, toxic compounds such as furans and acrylamide (by-products of Maillard reaction) can be formed. Acrylamide is classified as a probable human carcinogenic by the International Agency for Research on Cancer (IARC), which generates many investigations to mitigate its formation in food. This work aimed to evaluate the influence of Inca Muña (*Clinopodium bolivianum*) polyphenols on acrylamide mitigation in the process of obtaining potato chips. The leaves of Inca Muña obtained $91,0 \pm 0.3$ mg AGE/g bs of phenolic compounds and $1\ 003,7 \pm 68,0$ $\mu\text{mol TE/g bs}$ of antioxidant capacity. The extract was partially purified by adsorption chromatography and lyophilised (EPPL). Acrylamide mitigation was previously evaluated in model systems (glucose-asparagine), having observed up to 97.1 percent acrylamide mitigation; while hydroxymethylfurfural levels increased. Canchan potato slices ~ 2 mm thick and 6 cm in diameter were immersed in EPPL solution at concentrations of 0, 1 and 2 mg AGE/mL. The impregnation was evaluated at atmospheric pressure and vacuum pressure (0.91 bar) for times of 15, 30, 60 and 120 s, and then they were fried in oil (previously heated to 180 °C) for four minutes, the content of acrylamide and color. The best results were obtained with: 1 mg AGE / mL and pressure immersion under vacuum for 120 s, 2 mg AGE/mL and pressure immersion under vacuum for 15 s, 2 mg AGE/mL or immersion at atmospheric pressure for 30 s and 60 s, obtaining 67.4, 59.3, 50.8 and 50.9 percent reduction, respectively, and a value of h^* of 85.4, 78.8, 88.5 and 90.3, respectively. The results show that the best treatments (higher percentage of acrylamide mitigation) are those where the potato chips retained a greater amount of phenolic compounds and therefore greater antioxidant capacity. The results show that the purified phenolic extract of Inca Muña mitigates the formation of acrylamide, obtaining potato chips with acrylamide values lower than the maximum allowed according to international standards (EU 2017/2158).

Keywords: acrylamide, Maillard reaction, potato chips, *Clinopodium bolivianum*, phenolic compounds.

I. INTRODUCCIÓN

El tratamiento térmico es una operación unitaria ampliamente utilizada en la industria de los alimentos dado que es posible generar alimentos inocuos, así como productos con atributos sensoriales agradables para el consumidor. No obstante, durante el proceso se pueden formar ciertos compuestos como acrilamida (AA) e hidroximetilfurfural (HMF) los cuales son considerados por la *International Agency for Research on Cancer* (IARC) y *European Food Safety Authority* (EFSA) como genotoxinas, neurotoxinas y probable cancerígeno para el ser humano (Gökmen 2016; Mariotti *et al.* 2015).

Estudios realizados por la *Food and Drugs Administration* (FDA) en el 2004 en alimentos de consumo masivo, indicaron que las hojuelas de papas fritas poseen una alta concentración de acrilamida, por lo que mitigarlo para disminuir el riesgo a la salud sin afectar las características sensoriales, fue un gran desafío. Por ello, se propusieron estrategias desde cambios en algunas operaciones del procesamiento del producto hasta la modificación genética de la materia prima. Así tenemos, el uso de aditivos exógenos de origen natural como son los polifenoles, con resultados favorables en la mitigación de los componentes tóxicos (Liu *et al.* 2015; Muñoz 2015).

Los polifenoles son compuestos naturales que se encuentran principalmente en las frutas, verduras, hierbas, especias y granos. Un gran número de investigaciones han descrito sus propiedades destacando la capacidad antioxidante (Pinelo *et al.* 2006) gracias a su estructura: la presencia de un anillo aromático lleva uno o más hidroxilos sustituyentes y el átomo de hidrógeno del polifenólico –OH puede combinarse con radicales libres y ello permite terminar la propagación de reacciones en cadena de radicales libres (Liu *et al.* 2015). Por ello, algunos extractos de plantas que contienen estos compuestos fenólicos han sido usados como aditivos alimentarios para mitigar acrilamida e hidroximetilfurfural. Zhang *et al.* (2007) usaron soluciones de extracto de hojas de bambú logrando reducir hasta 76 por ciento la acrilamida en papas fritas. De igual manera Morales (2009) adicionó extracto fenólico de

especies como orégano, tomillo, canela, clavo, romero y té verde en la elaboración de papas tipo hojuela, obteniendo altos porcentajes de reducción sin afectar las características sensoriales del producto.

El Perú es un país que cuenta con gran biodiversidad de plantas aromáticas y medicinales entre las cuales la Inca Muña (*Clinopodium bolivianum*) ha sido investigada, concentrando un 91.8 mg AGE/g (bs) de compuestos fenólicos totales y 1,004.1 $\mu\text{mol TE/g}$ (bs) de capacidad antioxidante (Yapuchura 2010) haciéndolo atractivo para ser usado como antioxidante natural.

Por lo expuesto anteriormente, se reconoce el efecto de los compuestos fenólicos sobre la reducción de acrilamida en productos alimentarios y, siendo la Inca Muña una planta ancestral con alta capacidad antioxidante demostrada, se planteó mitigar la formación de acrilamida en papas fritas tipo hojuelas usando extracto fenólico de Inca Muña.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. PAPA

La papa pertenece a la familia *Solanaceae*, es el cuarto principal producto alimenticio en el mundo (después del trigo, el arroz y el maíz). A nivel Latinoamérica, el Perú es considerado primer productor de papa; se producen en promedio 5 millones de toneladas de papa al año en sus 3,000 variedades y se distribuyen entre el comercio, industria, gastronomía, autoconsumo de las familias productoras y las semillas (papas que vuelven a ser sembradas). Los principales productos industriales elaborados a partir de la papa son almidón, harina para puré, la papa pelada y cortada, la papa precocida y congelada, y las hojuelas o "chips" (Agraria.pe 2020; MINAGRI 2012).

2.1.1. Papa frita tipo hojuelas

La papa frita tipo hojuelas es el snack más popular en el mundo; es elaborado a partir de rodajas y/o hojuelas de papa las cuales se sumergen en un baño de aceite a altas temperaturas (170 – 180 °C) por corto tiempo, produciéndose una deshidratación en la papa. Sin embargo, algunos fenómenos importantes tienen lugar durante la fritura, como por ejemplo la Reacción de Maillard y con ello la formación de componentes tóxicos como la acrilamida (AA) e hidroximetilfurfural (HMF) (Pedreschi *et al.* 2018). Un estudio realizado en distintas marcas comerciales de papas fritas en Madrid (España), reveló que el 75 por ciento de las muestras analizadas sobrepasan los 1,000 µg/kg de acrilamida, llegándose a cuantificar hasta 12,000 µg/kg (Friedman 2003). La AESAN en el 2010 estableció que en el valor máximo de acrilamida para papas fritas tipo hojuelas o “chips” era de 1,000 µg/kg pero en el 2017 dispuso que las concentraciones aceptadas no debe pasar de 750 µg/kg en este producto (AESAN 2017), razón por la cual la mayoría de los estudios se enfocan en reducir los niveles de acrilamida en este alimento.

Ante esa situación, uno de los principales desafíos en la industria de procesamiento de papa es reducir todo lo posible los contaminantes inducidos por el calor sin afectar los parámetros

de calidad (sabor, color y textura) aplicando algunas operaciones como pre-tratamientos (blanqueamiento), fritura a vacío, reducción de azúcares reductores, modificación genética, entre otros (Pedreschi *et al.* 2018). Empresas productoras de papa frita como Snacks América Latina S.R.L – grupo PepsiCo (pionera en venta de papas fritas en hojuelas en Perú) hace uso principalmente de la variedad Capiro por su bajo contenido de azúcares reductores, pero también usa la variedad Canchan en su producción (PerúRetail 2018).

Cabe resaltar que, Perú es un país exportador de papa procesada en forma de snack u hojuela siendo el grupo PepsiCo (hasta setiembre 2019) el mayor exportador con un 73 por ciento seguido de Inka Crops con 18 por ciento (valor FOB) y los principales países destino son Bolivia, EEUU y Francia (AGRODATAPERU 2019).

En los últimos años, dos contaminantes químicos del procesamiento de alimentos han despertado un gran interés en la comunidad científica debido a sus efectos toxicológicos: acrilamida (AA) e hidroximetilfurfural (HMF), los cuales se forman durante el proceso de fritura en papas tipo hojuelas.

2.1.2. Reacción de Maillard (RM)

La RM fue descrita por primera vez en 1912 por el químico francés Louis Camille Maillard. Sin embargo, fue John Hodge quien en 1953 propuso por primera vez un esquema de las etapas de esta compleja reacción (Arribas 2013). Se origina principalmente por la reacción entre los carbohidratos reductores y los grupos amino libres de proteínas o aminoácidos (Gökmen 2016) generando una serie de transformaciones que traen consigo la producción de múltiples compuestos entre ellos los compuestos melanoidinos (desde amarillo claro hasta café oscuro e incluso negro), y afectan también el sabor, aroma y el valor nutritivo de los productos involucrados; además, dan lugar a la formación de compuestos mutagénicos o potencialmente carcinogénicos como la acrilamida (Badui 2006).

La Reacción de Maillard puede dividirse en tres etapas (Arribas 2013):

a. Etapa inicial: Comienza con una reacción de condensación del grupo carbonilo libre del azúcar reductor que reacciona con un grupo amino libre, formando una base de Schiff. Esta, a su vez se cicla dando lugar a una glucosilamina (Figura 1). Las aldosaminas se isomerizan a cetosas, mientras que las cetosaminas lo hacen hacia aldosas Cuando la base

Schiff es una aldósamina N-sustituída, se forma la 1- amino-1-desoxi-cetosa mediante la denominada reordenamiento de Amadori, siendo esta etapa irreversible. Sin embargo, cuando la molécula es una cetosamina-N-sustituída se forma una 2-amino-2-deoxi-aldosa y se le conoce como reorganización de Heyns.

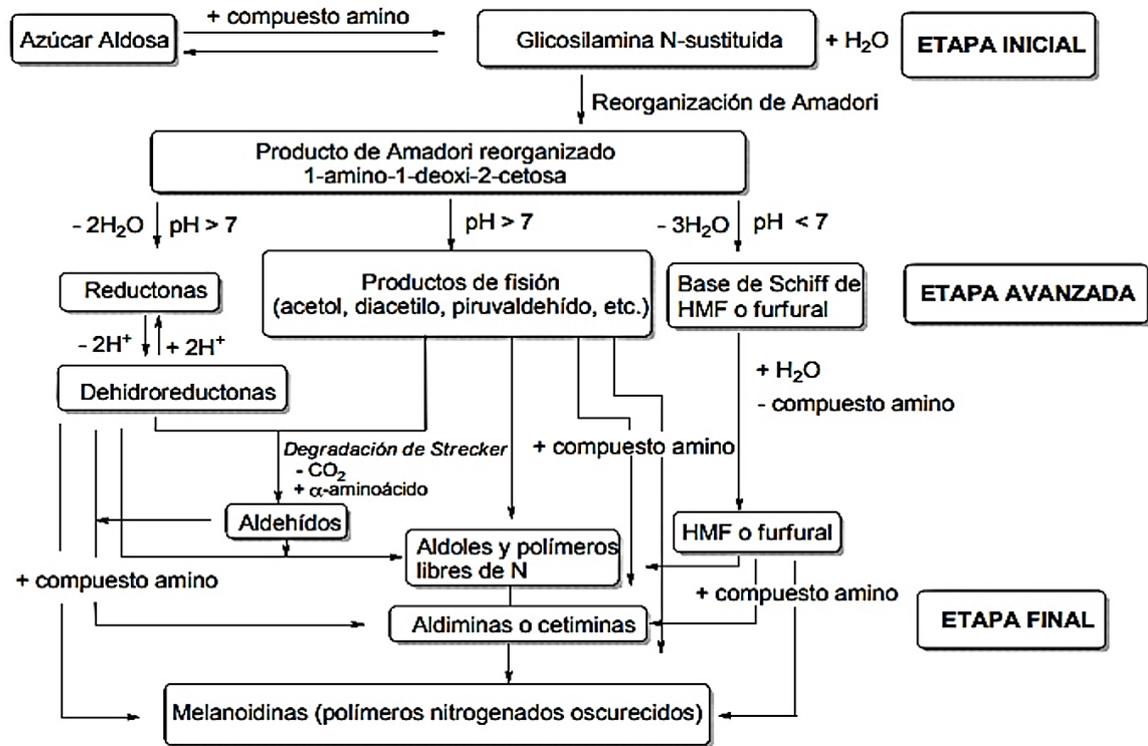


Figura 1. Esquema de la Reacción de Maillard

FUENTE: Arribas (2013)

b. Etapa avanzada: Los productos de Amadori y Heyns se descomponen dependiendo del pH, la actividad de agua, la presencia de metales divalentes o la temperatura, dando lugar a la formación de diferentes compuestos intermedios responsables del aroma que caracterizan a los alimentos cocinados. A pH neutro o ligeramente ácido, y en condiciones de baja actividad de agua, la reacción predominante es una enolización-1,2 que da lugar a la formación de furfural cuando el azúcar reductor implicado es una pentosa o hidroximetilfurfural en el caso de una hexosa. Por el contrario, a pH básicos tiene lugar una enolización-2,3 formándose reductonas y una variedad de productos tales como acetol, piruvaldehído y diacetilo, todos ellos de gran reactividad, lo que hace que participen en nuevas reacciones con otros productos intermedios de la reacción.

c. **Etapas final:** Engloba un gran número de reacciones que incluyen ciclaciones, deshidrataciones, reorganizaciones y condensaciones originando dos clases de compuestos: aromáticos volátiles, siguiendo la vía paralela de Strecker; y las melanoidinas que son polímeros coloreados producidos por reacciones de condensación de compuestos con grupos amino procedentes de las etapas intermedias de la RM como pirroles N-sustituídos, 2-formilpirroles N-sustituídos, y 2-furaldehído.

2.2. COMPUESTOS FENÓLICOS (CF)

Los compuestos fenólicos constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, consideradas metabolitos secundarios de las plantas distribuidos ampliamente en las raíces, hojas y frutos. Juegan una serie de funciones metabólicas como el crecimiento y reproducción; la protección contra patógenos externos y el estrés; y son responsables del color y características sensoriales (Peñarrieta *et al.* 2014).

Se han identificado cerca de 8,000 compuestos fenólicos diferentes y la mayoría de ellos son de origen vegetal (frutas, verduras y bebidas derivadas de algunas plantas). Exhiben amplia gama de propiedades biológicas tales como captar especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (antioxidantes), antialérgicos, antiarterógenos, antiinflamatorios, antimicrobianos, efectos antitrombóticos, cardioprotectores y vasodilatadores lo que los convierte en moléculas muy interesantes en la patogénesis de enfermedades y desarrollo de nuevos productos (Valencia *et al.* 2017; Balasundram *et al.* 2006).

Los CF presentan una estructura molecular caracterizada por tener de uno a más anillos aromáticos con al menos un grupo hidroxilo enlazado (Balasundram *et al.* 2006) donde el anillo aromático juega un papel importante en las propiedades antioxidantes (Peñarrieta *et al.* 2014). Su diversidad estructural permite que existan un amplio grupo de moléculas pertenecientes a este grupo (Del Río *et al.* 2013) los cuales van desde estructuras simples hasta complejos, siendo clasificados de diversas maneras. De manera general, se dividen en dos grandes grupos: flavonoides (F) y no flavonoides (NoF). En el grupo de los F, se encuentran los flavonoles (FN), flavonas (FAS), flavan3-ols, isoflavonas (IF), flavanonas (FNA), dihidroflavonoles (DHF), antocianidinas y chalconas. Mientras que en el grupo de NoF están los ácidos hidroxibenzoicos, ácidos hidroxicinámicos, polifenoles volátiles, estilbenos y compuestos diversos (lignanós y cumarinas) (Valencia *et al.* 2017).

2.2.1. Flavonoides (F)

Los flavonoides son la clase más abundante de CF, derivados de aminoácidos aromáticos, fenilalanina y tirosina. Se localizan principalmente en las partes aéreas de la planta, son de bajo peso molecular y necesario para el desarrollo de vegetales ya que pueden actuar como señaladores químicos y tiene efectos sobre algunas enzimas ligadas a la fisiología y metabolismo del vegetal. En seres humanos están asociados a una disminución en la incidencia de enfermedades cardiovasculares (Valencia *et al.* 2017; Routray y Orsa, 2012; Quiñones *et al.* 2012).

La estructura básica de los flavonoides es el núcleo flavan, el cual consiste en 15 átomos de carbono caracterizado por poseer estructuras C6-C3-C6 y dos o más anillos aromáticos, y por tener cada uno, al menos, un hidroxilo aromático, y conectar con un puente de carbono. Cada anillo es llamado A, B y C como se presenta en la Figura 2. El anillo bencénico A es condensado con el sexto miembro del anillo C, el cual en la posición 2 lleva un anillo bencénico B como sustituto. El anillo C puede ser un heterocíclico pirán, el cual produce flavanoles (catequina) y antocianidinas; o pirona, los cuales pueden ser flavonoles, flavonas, y flavanonas (Sarría 2004; Aherne y O'Brien 2002).

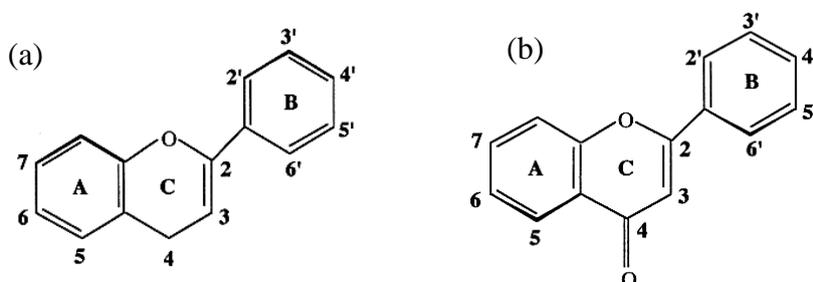


Figura 2. Núcleo flavan (a) y núcleo 4-oxo-flavonoide (b) de los flavonoides

FUENTE: Aherne y O'Brien (2002)

2.2.2. No Flavonoide (NoF)

Ácidos hidroxibenzoicos son compuestos orgánicos con un anillo fenólico y un grupo carboxílico asociado forman una estructura de tipo C6-C1. Se encuentran frecuentemente en las frutas en forma de ésteres. El ácido gálico, vinílico y p-hidroxibenzoico son los más representativos (Zhang *et al.* 2015; Haminiuk *et al.* 2012).

Los ácidos hidroxicinámicos con un esqueleto C6-C3, se encuentran principalmente como ácido cumárico, cafeico y ferúlico conjugados con ácido tartárico o ácido quínico (Valencia *et al.* 2017).

Los hidroxicinamatos cuentan con una estructura de tipo C6-C3 y cuando están conjugados son denominados ácidos clorogénicos. Están presentes en alimentos como uvas y en vinos tintos y blancos procedentes de *Vitis vinífera*, también se encuentra en los granos de café (Valencia *et al.* 2017; Quiñones *et al.* 2012).

Los taninos hidrolizables son polímeros cuyo peso molecular varía entre 500 y 5,000 Da. Los más representativos son el ácido tánico y los elagitaninos. Se caracterizan por una parte central que consiste en un poliol (generalmente glucosa) donde las funciones hidroxilo están esterificadas con ácido gálico. Hay dos tipos de taninos hidrolizables: los galotaninos cuya hidrólisis libera ácido gálico, y los elagitaninos quienes liberan por hidrólisis al ácido gálico, elágico, hexahidroxidifénico, valónico y cuyos grupos galoil están conectados a través de enlaces C-C (Arapistas 2012; Liu 2012).

Los estilbenos son compuestos con unas estructuras C6-C2-C6, sintetizadas por la adición de 1 a 3 moléculas de malonil-CoA con ácidos cinámicos, que se derivan de la ruta biosintética de fenilpropano. El resveratrol (3, 5, 4'trihidroxiestilbeno), principal representante de este grupo, se produce en las plantas principalmente en respuesta a una lesión y a una infección por hongos. Estudios recientes indican que el resveratrol tiene propiedades que ayudan a la prevención de cáncer y de enfermedades degenerativas (Atanacković *et al.* 2012; Gresele *et al.* 2011).

Los lignanos y neolignanos son un gran grupo de compuestos con una estructura (C6-C3) producidos por la dimerización oxidativa de dos unidades fenilpropano. Los lignanos son parte del sistema de defensa química de la planta y tradicionalmente se consideran como metabolitos secundarios del duramen en los árboles, son reconocidos como fitoestrógenos (Valencia *et al.* 2017).

Las cumarinas son benzo- α -pironas que se encuentran de forma libre o combinada con azúcares. Se pueden clasificar en hidroxicumarinas simples, furanocumarinas con anillo furano unido a núcleo cumarínico; y las piranocumarinas con un anillo pirano (Valencia *et al.* 2017).

2.2.3. Capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos

Los antioxidantes son un grupo de componentes protectores cuya función principal es prevenir la formación de radicales libres e interceptar los que ya se han generado (Shi 2001) en otras palabras, inhibir la oxidación. Una característica básica del antioxidante es generar un radical más estable y menos dañino después de reaccionar con la especie radical, pasando por una transición redox en la que implica la donación de un electrón (o un átomo de hidrógeno) a la especie radical. Como resultado de esta transferencia, se forma un radical derivado del antioxidante que puede tener carácter inerte, estable o presentar cierta reactividad (Venereo 2002).

Los CF son sustancias caracterizadas por su actividad antioxidante, lo que se ha demostrado *in vitro* su capacidad para eliminar especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (ERO y ERN). Estos disminuyen mediante un mecanismo donde los CF atrapan y disipan los electrones libres de los radicales a través de la donación de un átomo de hidrógeno (Rajamanikandan *et al.* 2011).

Por otro lado, la actividad antioxidante va depender de los números y posiciones de los grupos hidroxilo en relación con el grupo funcional carboxilo y aumenta con el incremento del grado de hidroxilación (ejemplo, el ácido gálico muestra alto poder antioxidante ya que está trihidroxilado). Sin embargo, la sustitución de los grupos hidroxilo en la posición 3- y 5- con grupos metoxilo como el ácido siríngico reduce la actividad. En el caso de los ácidos hidroxicinámicos exhiben mayor actividad antioxidante en comparación con los ácidos hidroxibenzoicos y podría deberse al grupo C=CH-COOH asociado al anillo fenólico que posee, lo que asegura una mayor capacidad de donar hidrógenos y estabilizar radicales que el grupo -COOH presente en los ácidos hidroxibenzoicos (Robards *et al.* 1999; Rice-Evans *et al.* 1996).

2.2.4. Inca Muña, fuente natural de compuestos fenólicos

La Inca Muña (*Clinopodium bolivianum*), especie andina peruana, conocida también como “cjuñuca”, “cjuñu muña”, “chulpa muña”, “orégano de los incas”, pertenecen a la familia *Lamiaceae*; abunda en la sierra del Perú, especialmente en los departamentos del sur del país (Mallma y Hospino 2019; Yapuchura 2010).

El GBIF (*Global Biodiversity Information Facility*) indica que la ubicación taxonómica de la Inca Muña:

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Verbenales

Familia: Lamiaceae

Género: *Clinopodium* L.

Especie: *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kuntze

Esta planta es un arbusto hirsuto de 1 metro de alto. Las hojas opuestas, cortamente pecioladas (1-1.5 mm.); láminas abovadas a elípticas, sub-obtusas, bordes enteros o aserrados, 1 – 2cm de largo; flores blanquecinas, subsésiles, solitarias o en fascículos axilares; cáliz tubuloso, lóbulos deltoides, corola tubular, bilabiada, internamente pubescente; estambres didínamos, epipétalos; frutos tetraquenios, de 1 – 5 mm de largo con una espícula pubescente en la parte superior (Macbride 1960).

Es una planta de alto valor medicinal que ha equilibrado durante milenios la dieta peruana, aromatizando los platos de la cocina andina siendo utilizada como condimento con un ligero sabor a menta. También es utilizado por sus propiedades medicinales como antiinflamatorio (ante luxaciones y tumores por golpes), antiséptico, analgésico, antiespasmódico y digestivo, siendo estos dos últimos lo más estudiado en la rama de gastroenterología (Mallma y Hospino 2019; MINAGRI 2000).

Al observarse las grandiosas propiedades que tiene para la salud, se empezó a realizar estudios en esta especie. Las sustancias químicas que caracterizan su actividad biológica son principalmente de naturaleza fenólica lo cual participa en procesos de los mecanismos antioxidantes; por ende, disminuye el desbalance oxidativo (Baldeón 2015). Yapuchura (2010) identificó gran poder antioxidante de la Inca Muña la cual contiene 91.8 mg AGE/g (bs) de compuestos fenólicos totales y 1,004.1 $\mu\text{mol TE/g}$ (bs) de capacidad antioxidante, y los principales fenólicos identificados fueron derivados de ácidos hidroxicinámicos (cafeico,

p-cumárico); flavanonas (eriodictiol); flavonoles (rutina) y flavonas (apigenina). Gracias a su alto contenido de antioxidantes, Chirinos *et al.* (2011) lo usaron como aditivo para evitar la oxidación del aceite sin refinar de soja durante la fritura obteniendo buenos resultados.

De otro lado, Arias *et al.* (2014) estudiaron y caracterizaron su aceite esencial hallándose que está compuesto principalmente por monoterpenos oxigenados como linalol, p-Mentona, iso-Mentona, iso-Puleguna, pulegona, acetato de geranilo, tetradecano Istd, trans-cariofileno, espatulenol, óxido de cariofileno, ciclohexanona, 5-methyl-2-(1-metiletil), 2R-cis). Además, se realizó una investigación sobre la actividad antibacteriana ante *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* obteniendo más del 80 por ciento de inhibición de ambas cepas patógenas (Mallma y Hospino 2019). Así también Herrera *et al.* (2015) reportaron efecto gastroprotector y actividad anti-*Helicobacter pylori* usando un extracto etanólico de Inca Muña.

Como se puede apreciar, esta especia es excelente potencial antioxidante natural por su contenido de compuestos fenólicos lo cual fue idóneo para la investigación.

2.2.5. Purificación de compuestos fenólicos

La extracción de compuestos fenólicos de plantas depende principalmente de la naturaleza de la matriz y las propiedades químicas de los fenólicos (estructura molecular, la polaridad, la concentración, el número de anillos aromáticos y los grupos hidroxilo). Los métodos más utilizados son en su mayoría, extracción con solventes orgánicos, extracción asistida por ultrasonido, extracción asistida por microondas y extracción enzimática. Sin embargo, esta operación no es selectiva ya que es capaz de extraer un gran número de otros compuestos como azúcares, ácidos orgánicos, etc. Por ello, se recurre a técnicas de separación o purificación. La literatura indica varios métodos tales como extracción líquido-líquido, cromatografía, intercambio iónico, filtración de membrana y adsorción de resina (Ma *et al.* 2015; Castañeda *et al.* 2009).

Las resinas macroporosas (o resinas de adsorción) son materiales cromatográficos menos costosos para la separación de moléculas pequeñas en función de sus pesos moleculares y polaridades, presentan una alta capacidad de carga y pueden reutilizarse muchas veces y ha sido utilizado ampliamente en separación y purificación de componentes bioactivos.

Sephadex LH-20, poliamida, Amberlite, cartuchos de extracción en fase sólida (SPE) y estireno-divinilbenceno (XAD 4, XAD16, EXA-90, EXA 118, SP70), resinas acrílicas (XAD-7, EXA-31) son ejemplos de aplicación para purificar fenólicos de extractos de muestras crudas siendo los más usados los de tipo Amberlite (Ma *et al.* 2015; Khoddami *et al.* 2013).

2.3. COMPONENTES TÓXICOS FORMADOS DURANTE EL PROCESO DE FRITURA EN PAPAS

2.3.1. Acrilamida (AA)

La acrilamida (2-propenamida) es un compuesto cristalino de color blanco e inodoro y su estructura química se observa en la Figura 3 (Morales 2009). Por su capacidad para polimerizar se usa comúnmente como floculante para la purificación de agua, como componente en cosméticos y como agentes en la construcción de cimientos de túneles (JECFA 2002). Sin embargo, en 2002 la Administración Nacional de Alimentos de Suecia (SNFA por sus siglas en inglés) y la Universidad de Estocolmo informaron los efectos nocivos para la salud y encontraron que estaba presente en altas concentraciones en alimentos ricos en carbohidratos (JECFA 2008). Tras el informe sueco, la FAO y la OMS se reunieron en el 2002 para tratar del tema y después de varios estudios con ayuda de *International Agency for Research on Cancer* (IARC) y *European Food Safety Authority* (EFSA) en 2005 incluyeron la AA en la categoría 2A de mutágenos (Gökmen 2016).

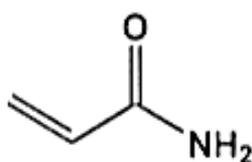


Figura 3. Estructura química de la acrilamida

FUENTE: Morales (2009)

a. Toxicología de la acrilamida

Debido a su polaridad, solubilidad (especialmente en agua, metanol y etanol) y su bajo peso molecular (71.08 g/mol), diferentes estudios toxicocinéticos han demostrado que la absorción de AA puede ocurrir por vía oral, dérmica o por inhalación. Una vez absorbida, se

distribuye rápidamente a través de la sangre llegando a diferentes tejidos y órganos como el muscular, la piel, el hígado, los riñones, el corazón, el cerebro o el pulmón inclusive se ha detectado AA en la placenta y en la leche materna (Schettgen *et al.* 2004).

Su metabolismo se lleva a cabo por dos mecanismos principales: por oxidación, mediante la acción del citocromo P₅₀, que da lugar al metabolito glicidamida; y por conjugación con glutatión, catalizada por la enzima glutatión-S-transferasa (GTS), para finalmente ser excretada como ácido mercaptúrico en la orina. La glicidamida, es un epóxido al cual se le han atribuido mayores propiedades carcinogénicas y genotóxicas que a la acrilamida misma; sin embargo, el potencial neurotóxico se debe principalmente a la acrilamida y a los aductos formados con la hemoglobina (Tritscher 2004).

b. Mecanismos de formación de la acrilamida

Los primeros estudios sobre la formación de acrilamida en los alimentos identificaron la Reacción de Maillard como un factor clave. Se genera principalmente a partir de la reacción del aminoácido asparagina, azúcares reductores (glucosa y fructosa) y altas temperaturas (Gökmen 2016). El paso clave de la reacción es la descarboxilación de la base de Schiff formándose los intermediarios (iminas) los cuales pueden generar directamente a la acrilamida o indirectamente por la acción de su precursor 3-aminopropionamida. Los compuestos descarboxilados de Amadori y los aldehídos de Strecker también son considerados intermediarios en la formación de acrilamida (Zyzak *et al.* 2003). En la Figura 4 se observan los diferentes mecanismos de formación de la acrilamida.

También se puede formar acrilamida a través de acroleína y ácido acrílico. La acroleína (2-propenal) es un aldehído de tres carbonos, con estructura similar a la acrilamida, por lo que se piensa que la acroleína es precursora de la neurotoxina. La acroleína al oxidarse genera al ácido acrílico y este da origen a la acrilamida como se presenta en la Figura 5 (Morales 2009).

Un mecanismo de formación de acroleína es por producto de los compuestos intermedios de la degradación de Strecker: los aminoácidos reaccionan con los dicarbonilos formados por la reacción de Maillard (Lingnert *et al.* 2002). Otra forma de producir acroleína es por la transformación de lípidos; por ejemplo, los aceites se hidrolizan (cuando son calentados por

encima de su punto de humo) obteniendo ácidos grasos libres y glicerol, y de este último, por eliminación de agua, se obtiene finalmente acroleína (Morales 2009).

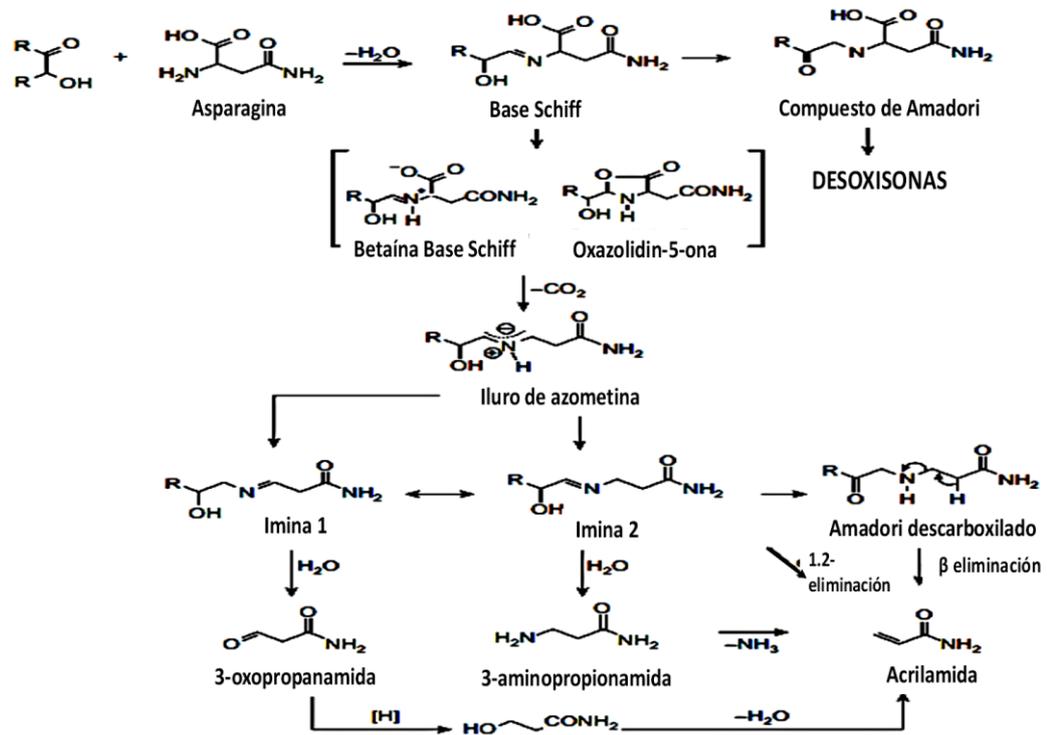


Figura 4. Rutas de formación de acrilamida a partir del azúcar reductor - asparagina
FUENTE: Gökmen (2016)

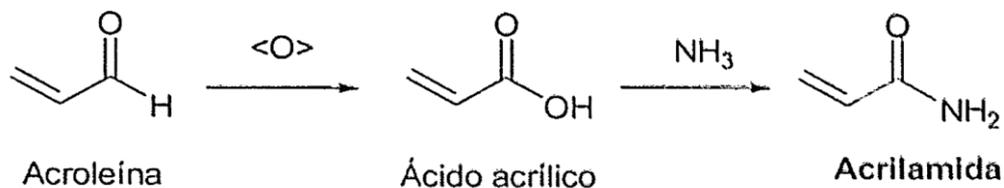


Figura 5. Reacción de formación de acrilamida a partir de acroleína

FUENTE: Morales (2009)

c. Principales productos con presencia de acrilamida

Ante la alarma dada por los científicos suecos, la FDA en el 2004 llevó a cabo la cuantificación de acrilamida en aproximadamente 283 productos alimenticios comerciales, encontrando los mayores niveles en alimentos ricos en carbohidratos, principalmente los amiláceos como las papas y los cereales (Masson *et al.* 2007). La Figura 6 muestra los niveles de acrilamida reportados en diversos alimentos.

La Recomendación de la Comisión de la Unión Europea 2017/2158 proporciona los valores recomendados para los niveles de acrilamida en categorías separadas de productos alimenticios. El nivel de referencia más bajo indicativo de concentración de acrilamida se estableció en la categoría "Alimentos elaborados a base de cereales para lactantes y niños de corta edad, excluyendo las galletas y los biscotes" con 50 µg/kg y el más alto en "Sustitutos de café compuestos exclusivamente por achicoria" con 4,000 µg/kg. En otras categorías de alimentos "Patatas fritas a la inglesa (*chips*) fabricadas con patatas frescas y con masa de patatas" el nivel de referencia es de 750 µg/kg (AESAN 2017).

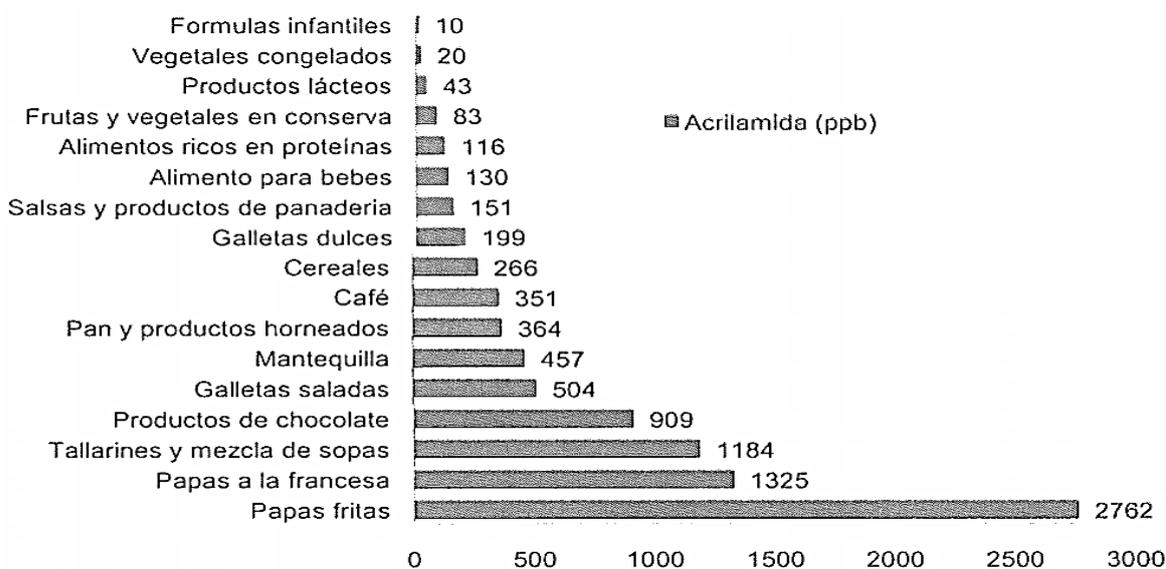


Figura 6. Contenido de acrilamida en diferentes productos alimentarios

FUENTE: adaptado de FDA (2004)

2.3.2. Hidroximetilfurfural (HMF)

El HMF es un aldehído heterocíclico de seis carbonos, derivado del furano, que contiene grupos funcionales tanto aldehído como alcohol (hidroximetilo). La estructura del anillo se basa en restos de furano, mientras que los dos grupos funcionales, es decir, los grupos formilo e hidroximetilo, están vinculados con el anillo en las posiciones 2 y 5, respectivamente como se aprecia en la Figura 7 (Kowalski *et al.* 2013).

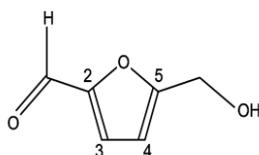


Figura 7. Estructura química de 5-hidroximetil-2-furfural (HMF)

FUENTE: Kowalski *et al.* (2013)

Posee un peso molecular de 126.11 g/mol y es soluble en agua, etanol, metanol y acetato de etilo (Arribas 2013).

a. Toxicología de HMF

El HMF ha suscitado preocupación toxicológica ya que este compuesto y sus derivados (5-sulfooximetilfurfural (SMF) y 5-clorometilfurfural (CMF) en estudios en ratas han determinado su poder citotóxico, genotóxico, nefrotóxica, mutagénica y carcinógena induciendo cánceres de colon-recto, hepáticos y de piel. A pesar que no ha sido demostrado en humanos, la *European Food Safety Authority* (EFSA) sugirió una ingesta diaria tolerable de 132 mg/persona/día (Capuano y Fogliano 2011).

b. Mecanismo de formación de HMF

El 5-Hidroximetilfurfural (HMF) es un compuesto furánico que se forma como un intermedio en la Reacción de Maillard y de deshidratación directa de azúcares en condiciones ácidas (caramelización) durante los tratamientos térmicos aplicados a los alimentos. La 3-deoxiosona es conocida como la clave intermedia en la formación de HMF. Se deriva de 1,2 enolización e hidratación de glucosa o fructosa. La deshidratación y la ciclación posteriores de la 3-deoxiosona producen 5-hidroximetilfurfural. En condiciones ácidas, HMF puede formarse incluso a bajas temperaturas, aunque su concentración aumenta drásticamente a las temperaturas de los tratamientos térmicos o con el aumento del almacenamiento (Capuano y Fogliano 2011). Este componente es usado como índice común para evaluar el daño térmico, el envejecimiento y las propiedades sensoriales en productos alimenticios (Zou *et al.* 2016). En la Figura 8 muestra las principales vías de formación de HMF en alimentos.

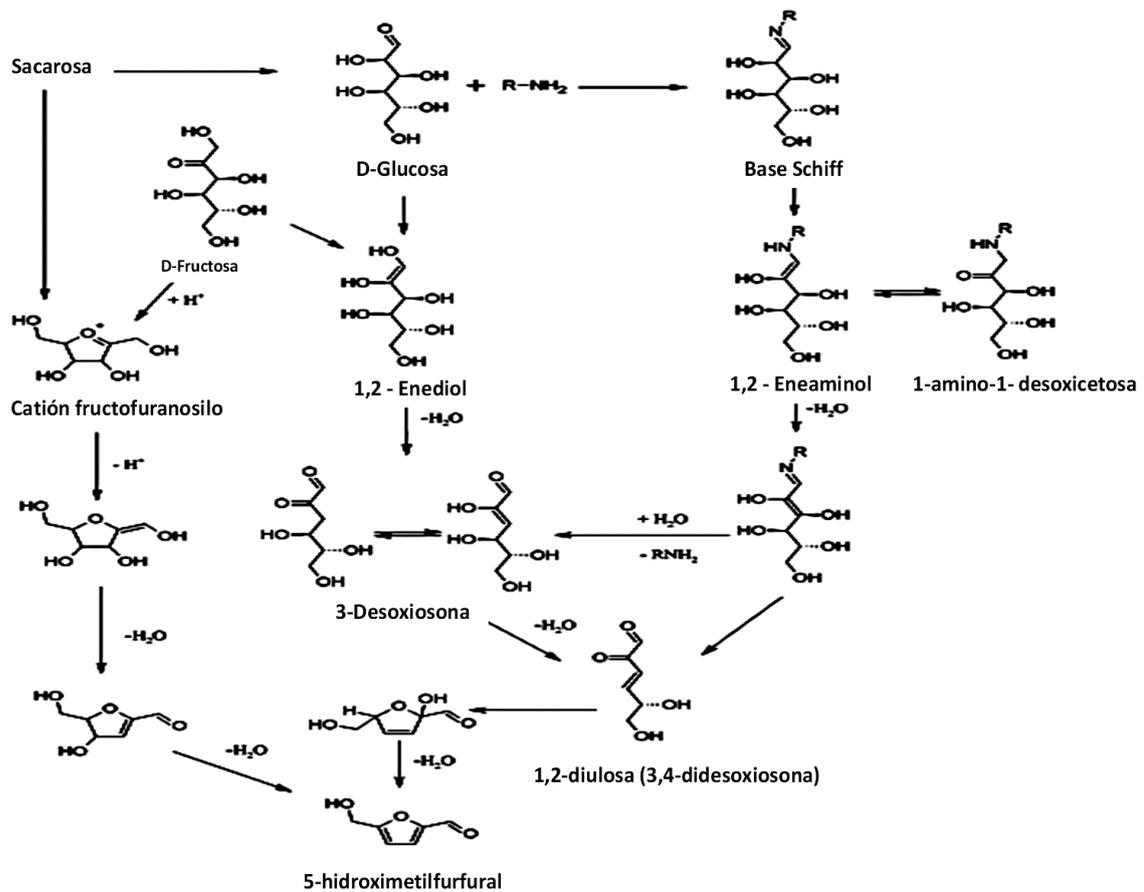


Figura 8. Principales rutas de formación de HMF

FUENTE: Capuano y Fogliano (2011)

c. Principales productos con presencia de HMF

La cantidad de HMF detectable en los alimentos está directamente relacionada con la cantidad de calor aplicado durante el procesamiento de productos ricos en carbohidratos. Otra fuente de HMF está representada por los ingredientes utilizados en la formulación, como soluciones de caramelo o miel. Las concentraciones de HMF en los alimentos pueden variar en gran medida a veces superando 1 g/kg en ciertos frutos secos y productos de caramelo como se presenta en la Figura 9 (Capuano y Fogliano, 2011).

Como se aprecia en la Figura 9, el contenido de HMF en alimentos varía de 2.2 a 87.7 mg/kg en pan de panadería, 0.18 a 57.18 mg/kg en alimento para bebés, 10.4 a 58.8 mg/kg en miel e incluso hasta 4,000 mg/kg en café. Al ser cantidades grandes lo encontrado en diferentes productos, en una investigación de Zou *et al.* (2016) indicó que la ingesta estimada de HMF oscila entre 30 y 150 mg por persona por día.

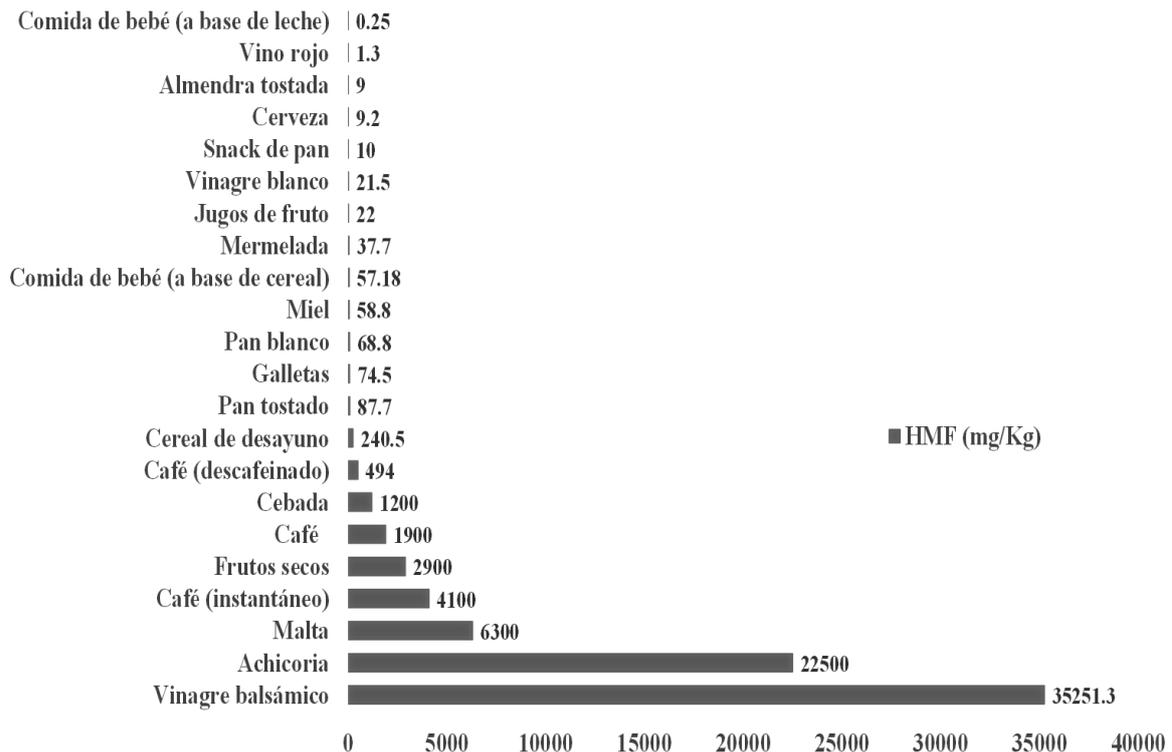


Figura 9. Contenido de HMF en diferentes productos alimentarios

FUENTE: Adaptado de Capuano y Fogliano (2011)

2.4. MITIGACIÓN DE AA Y HMF

La presencia de compuestos tóxicos en productos alimentarios, en cantidades superiores a los límites permitidos ha generado el estudio y evaluación de diferentes tratamientos para reducirlos, clasificándose en dos: físicos y químicos (Morales 2009).

Los tratamientos físicos pretenden variar las condiciones en las cuales se procesan los alimentos, principalmente la temperatura y tiempo de exposición a ésta. Para el caso de las papas fritas tipo hojuelas se han reportado estudios indicando que al disminuir la temperatura de fritura se reduce la formación de AA y HMF; sin embargo, otras características importantes del producto (color, sabor, textura, humedad, contenido de lípidos, etc.) se ven afectados (Capuano y Fogliano, 2011; Morales 2009). Granda *et al.* (2004) propusieron el procesado de fritura a vacío con la finalidad de reducir la temperatura y el tiempo de exposición y, al compararlo con la fritura tradicional, el freído al vacío disminuyó 94 por ciento la concentración de acrilamida.

Los tratamientos químicos son aquellos en los cuales se propone disminuir la concentración de los precursores de los componentes tóxicos en el alimento, principalmente al aminoácido y el tipo de azúcar reductor. Los tratamientos químicos evaluados involucran modificación genética de la materia prima, la adición de ácidos, enzimas, iones, vitaminas y antioxidantes. Ello es aplicado en los alimentos como pre-tratamientos conocidos como blanqueados y/o empapados, los cuales consisten en sumergir al alimento o a la materia prima en soluciones de diversa naturaleza durante un tiempo determinado antes de la fritura u otro proceso final. Por ejemplo, los ácidos son capaces de lograr esta reducción debido a que protonan los electrones libres del grupo amino que tiene la asparagina evitando que esta se una al azúcar reductor y forme la base de Schiff. Zyzak *et al.* (2003) evaluaron la efectividad de la asparaginasa para reducir la formación de la acrilamida en papa fritas; el pre-tratamiento con la enzima produjo una reducción del 88 por ciento del aminoácido y un 99 por ciento de acrilamida (la asparaginasa transforma a la asparagina en ácido aspártico evitando así la formación de acrilamida). Gökmen y Şenyuva (2006) estudiaron el efecto del pH de masas de panadería en la formación de HMF. En general, aumentando el pH de la masa da como resultado una disminución del nivel de HMF en la panadería productos.

Los últimos reportes de métodos de mitigación de AA y HMF señalan que es posible reducir el contenido de estos mediante la adición de extractos de plantas y/o frutos a los productos alimentarios. Los extractos de plantas contienen principalmente compuestos fenólicos como flavonoides, ácidos cinámicos, cumarinas, lignanos y taninos (Zhang y Zhang 2007; Zhang *et al.* 2007; Manzocco *et al.* 1998) a los cuales se les ha atribuido la actividad antioxidante y que posiblemente sean los responsables de la disminución de los compuestos genotóxicos.

Algunos estudios realizados como por ejemplo el de Cheng *et al.* (2010) quienes impregnaron fenólicos de extracto de manzana purificado (con resina XAD16) en papas en hojuelas y posterior fritura llegando a reducir hasta más de 20 por ciento a una concentración de 0.05 por ciento de extracto fenólico. También Zhu *et al.* (2009) usaron extractos fenólicos liofilizados de 35 especies entre las cuales se encontraban hojas de menta, orégano, curry y té verde (0.1 mg/mL) en un Sistema Modelo de asparagina-glucosa a pH 6.58 obteniendo reducción de acrilamida de 74.5; 46.1; 49.7 y 46.8 por ciento respectivamente. Así mismo, Zhang *et al.* (2007) sometieron la papa en inmersión de en extracto etanólico (previamente pasado por filtro de membrana y luego atomizado) de hojas de bambú antes del freído, con el cual se obtuvo una disminución del 74 por ciento de acrilamida; sin embargo, el

tratamiento con este extracto antioxidante cambia los atributos sensoriales del alimento. Igualmente, Zhang Yu y Zhang Ying (2007) usaron una mezcla de extractos antioxidantes de hojas de bambú y té verde (extracción igual a Zhang *et al.* 2007) en una mezcla para pan logrando disminuir 83 por ciento de acrilamida no afectando las características sensoriales del alimento. Del mismo modo, Becalski *et al.* (2003) lograron reducir el 25 por ciento de acrilamida en papas fritas tipo hojuelas mediante la adición de hierba de romero (cinco gramos) homogenizado en aceite de oliva (15 mL) previo a la fritura.

2.4.1. Mecanismo de acción de compuestos fenólicos sobre acrilamida

Los polifenoles vegetales representan un gran grupo que comparte al menos un anillo de hidrocarburo aromático con más de un grupo hidroxilo unido, todos los cuales pueden resistir la oxidación al eliminar los radicales libres. El mecanismo por el cual los extractos fenólicos reducen los contaminantes aún no ha sido del todo comprendido. Cheng *et al.* (2015) indicaron que había una fuerte correlación positiva entre la capacidad antioxidante y la relación de inhibición de acrilamida.

Los polifenoles pueden inhibir la formación de acrilamida mediante la captura de compuestos carbonílicos y prevenir la oxidación de lípidos (impidiendo la formación de acroleína y por ende la generación de acrilamida) mientras que algunos polifenoles especiales pueden aumentar el contenido de acrilamida al proporcionar grupos carbonilo, acelerando la conversión de 3-aminopropionamida (3-APA) a acrilamida e inhibiendo la eliminación de acrilamida (Liu *et al.* 2015; Morales 2009). Por otro lado, se piensa que los azúcares reductores pueden interactuar con los compuestos fenólicos impidiendo que se unan al aminoácido y, por lo tanto, evitando la Reacción de Maillard (Ciesarová *et al.* 2008; Zhang *et al.* 2007).

En la Figura 10 se resume las posibles vías para afectar la formación y eliminación de acrilamida mencionadas anteriormente: Algunos polifenoles pueden atrapar los compuestos carbonílicos (1) o 3-oxopropanamida (2) para mitigar la formación de acrilamida, mientras que otros pueden proporcionar grupos carbonilo (3) para participar en el Maillard reacción. Los polifenoles de las plantas pueden prevenir la oxidación de los lípidos y limitar los lípidos oxidados (4) o el ácido acrílico (5) por su capacidad antioxidante. El 3-APA es un precursor importante durante la reacción, y la energía de activación de la conversión de 3-APA a acrilamida puede disminuirse mediante algunos polifenoles (6). Después de la formación, la

acrilamida puede ser polimerizada por radicales libres. En presencia de polifenoles, la eliminación de acrilamida se bloquea (7).

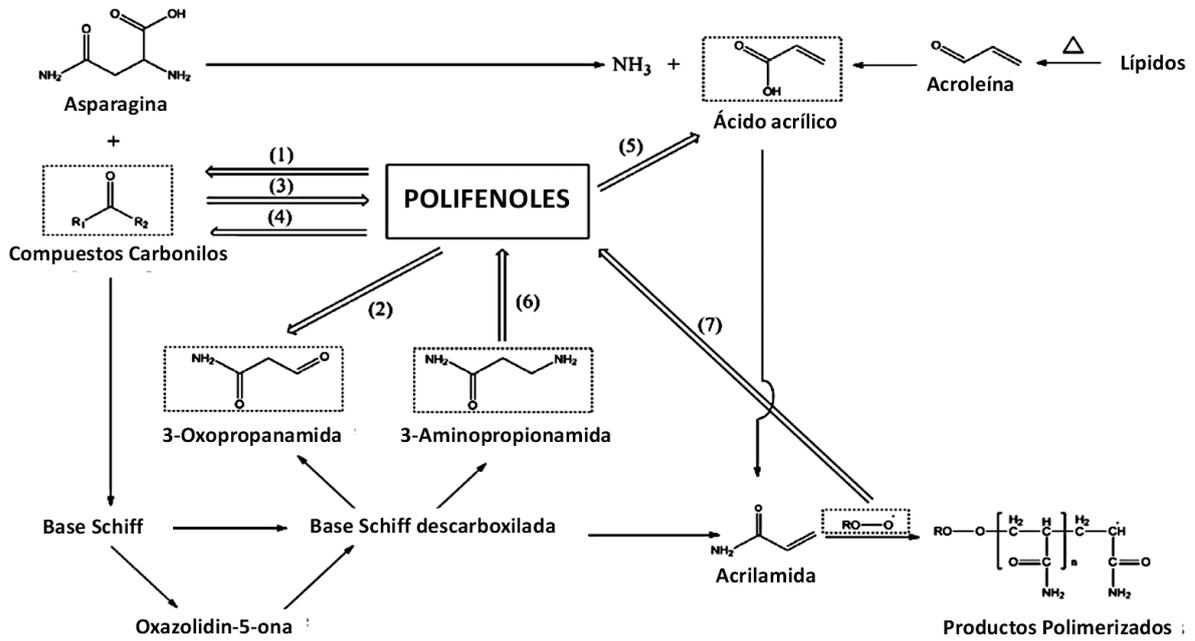


Figura 10. Posibles reacciones que los polifenoles podrían estar involucrados en (1 – 7). Las flechas que apuntan a los polifenoles significan que los pasos de las reacciones aumentan la formación de acrilamida. Las flechas que apuntan a intermedios significan que los pasos de reacción reducen la formación de acrilamida.

Fuente: Liu *et al.* (2015)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

La presente investigación se realizó en los laboratorios del área de Biotecnología Industrial & Bioprocesos del Instituto de Biotecnología (IBT) de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

3.2. MATERIA PRIMA

- Inca Muña (*Clinopodium bolivianum*) proveniente de la ciudad de Huancavelica, adquirida en el mercado La Parada de La Victoria - Lima.
- Papa variedad Canchan, Yungay y Capiro del mercado Santa Anita – Ate – Lima.

3.3. INSUMOS

- Aceite vegetal de Girasol Crisol - Alicorp

3.4. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

3.4.1. Materiales

- Cartucho de extracción Oasis HLB 6cc (200mg) (Waters, Irlanda)
- Columna Acquity UPLC[®] BEH C18 (1.7 μ m x 100 mm x 2.1 mm ID) (Waters, Irlanda)
- Columna Atlantis[®] dC18 (5 μ m x 150 mm x 4.6 mm ID) (Waters, Irlanda)
- Columna de vidrio para cromatografía de adsorción (4 cm x 44 cm)
- Columna HILIC Pack VG-50 4E (250 mmL x 4.6 mmID) (Shodex[™], Japón)
- Columna KINETEX HILIC (1.7 μ m, 100 x 2.1 mm id) (Phenomenex[®] USA)
- Columna UPLC HSS T3 (1.8 μ m x 100 mm x 2.1 mm ID) (Waters, Irlanda)
- Filtro membrana de 0.45 μ m de diámetro (Sigma-Aldrich, USA)
- Filtro PVDF 13 mm diámetro y tamaño de poro 0.22 μ m (BD, Franklin Lakes, NJ, USA)
- Materiales de plástico: puntas para micropipeta, tubos para centrífuga, etc.

- Materiales de vidrio: placas Petri, fiolas, probetas, tubos de ensayo, vasos de precipitado, pipetas, balones de evaporación, matraces Erlenmeyer, viales, insertos. entre otros.
- Micropipetas de 20-200 μL , 100-1000 μL y 500-5000 μL (Brand, Alemania)
- Otros: cuchillos, espátulas, bolsas ziploc, imanes, papel aluminio, etc.
- QuEChERS[®] dSPE (Phenomenex, USA)
- Resina de adsorción macroporosa DA-201C (Suqing Chemistry, China)

3.4.2. Equipos

- Agitador (Heidolph, modelo Polymax 2040, Alemania)
- Agitador de revolver para tubos centrífuga (Labnet, México)
- Agitador magnético (CAT, modelo M6, Alemania)
- Agitador térmico (Heidolph, modelo Pesacon, Alemania)
- Balanza analítica (OHAUS, modelo AR2140, USA)
- Balanza de precisión (OHAUS, modelo SC4010, China)
- Bomba de vacío (Vacuumbrand, modelo ME2C, Alemania)
- Bomba peristáltica (Masterflex, modelo 7523-70, USA)
- Centrífuga (Hettich, modelo 78532, Alemania)
- Centrífuga (Hettich, modelo Rotima 420, Alemania)
- Centrífuga (Hettich, modelo Rotofix 32, Alemania)
- Centrífuga refrigerada (Hettich, modelo Mikro 220R, Alemania)
- Cocina eléctrica (Magefesa, Modelo MGF811, España)
- Colorímetro (Konica Minolta, modelo R-400, Japón)
- Congeladora (Electrolux, modelo H300, Brasil)
- Cromatógrafo líquido de alta performance (HPLC) (Waters, modelo 2695, USA) con detector de arreglo de diodos PDA (Waters, modelo 2996, USA)
- Cromatógrafo líquido de ultra alta performance (UHPLC) (Thermo scientific, modelo Ultimate 3000, Alemania) con detector de masas (MS/MS) (Thermo scientific, modelo TSQ Quantum Access Max, San José, CA, USA)
- Espectrofotómetro (ThermoSpectronic, modelo Genesys 10 UV, USA)
- Estufa al vacío (VWR, 1400E-2, USA)
- Evaporador centrífugo (Labconco, modelo Centrivap, USA)
- Licuadora clásica tres velocidades (Oster, modelo BLSTBG4655G, México)
- Liofilizador (Labconco, modelo 117, USA)

- Molino de mano (IKA, modelo A11B, USA)
- Olla freidora (Imaco, modelo IDF25-W 2.5L, China)
- Potenciómetro (Thermo-Orion, modelo Star A211, USA)
- Refractómetro de mano 0-32 °Brix (VWR, BX Series)
- Refrigeradora (LG, modelo GR-482BEF, Corea)
- Rotavapor (Heidolph, modelo Laborotta 4000, Alemania)
- Selladora de bolsas (Machintek, modelo KF-300H, China)
- Sonicador (Branson, modelo 3510R-DTH, USA)
- Termómetro infrarojo (Benetech, modelo GM320, USA)
- Vórtex (CAT, modelo VM2, Alemania)

3.4.3. Reactivos

- 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) A1888 (Sigma-Aldrich, USA)
- Acetona (J.T. Baker, USA)
- Acetonitrilo (grado HPLC J.T. Baker, USA)
- Acetonitrilo (grado MS J.T. Baker, USA)
- Ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS) D-0550 (Sigma, USA)
- Ácido fórmico (p.a. Merck, Alemania)
- Agua grado MS (Merck, Alemania)
- Carbonato de sodio (J.T. Baker, USA)
- Cloruro de sodio (p.a. Dominion Salt Limited, Nueva Zelanda)
- Estándar 5-(Hydroxymethyl) furfural o HMF $\geq 98\%$ (Sigma, 53407, China)
- Estándar acrilamida $\geq 99\%$ (Sigma Aldrich, 23701, China)
- Estándar asparagina $\geq 99\%$ (Sigma Aldrich, A0884, USA)
- Estándar d3-acrilamida $\geq 99\%$ (Sigma Aldrich, 72834, Suiza)
- Estándar fructosa $\geq 99\%$ (Sigma Aldrich, Alemania)
- Estándar glucosa $\geq 99\%$ (Sigma, Alemania)
- Estándar sacarosa $\geq 99\%$ (Sigma Aldrich, Alemania)
- Etanol (p.a. J.T. Baker, USA)
- Fenol (Mallinckrodt, USA)
- Fenol según Folin- Ciocalteu (p.a. Merck, Alemania)
- Hexano (grado HPLC J.T. Baker, USA)

- Hexano (p.a J.T. Baker, USA)
- Hidróxido de sodio (Merck, Alemania)
- Kit de clarificación Carrez (Merck, 110537, Alemania)
- Metanol (grado HPLC J.T. Baker, Trinidad y Tobago)
- Metanol (grado MS J.T. Baker, Trinidad y Tobago)
- Sulfato de magnesio anhidro (Scharlau, España)

3.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS

3.5.1. Acidez titulable

Se determinó por el método de titulación potenciométrica con NaOH 0.01N. (Método 942.15 AOAC 2007) Dos gramos de papa fresca fueron licuados con 10 gramos de agua destilada libre de CO₂. El homogenizado fue decantado y filtrado con papel Whatman N°1. El filtrado fue titulado hasta alcanzar un pH 8.1. La acidez fue expresada como ácido ascórbico (g/100g).

3.5.2. Determinación de humedad

Se determinó según el método gravimétrico porcentual reportado por la A.O.A.C (1990).

3.5.3. Determinación de sólidos solubles

Se realizó por refractometría de acuerdo al Método 932.12 (AOAC 2007). Diez gramos de pulpa de papa fresca fueron mezclados con diez gramos de agua destilada. Se extrajo el líquido mediante presión; sobre este se realizó la medición de sólidos solubles y se procedió con el cálculo de éstos.

3.5.4. Determinación de compuestos fenólicos

Se empleó la metodología de Folin–ciocalteu reportada por Singleton y Rosi (1965). El método se basa en la reacción cromófora del extracto de la muestra con el reactivo Folin–ciocalteu en medio básico (Na₂CO₃), que será determinada espectrofotométricamente a una absorbancia de 755 nm. El procedimiento utilizado fue el siguiente:

Se homogenizó un gramo de muestra con 40 mL de etanol al 40 por ciento, durante 60 minutos a 70 °C. La mezcla fue centrifugada a 2,665 g durante 15 min, y el sobrenadante fue conservado a -20 °C. En el caso de analizar los compuestos fenólicos en papa fresca, se homogenizó dos gramos de pulpa con 25 mL de metanol al 80 por ciento; y en el caso de papa frita, previamente se desgrasó con éter anhidro en relación 1:10 tres veces (Qui *et al.* 2018 con algunas modificaciones) para luego continuar con la extracción con metanol al 80 por ciento.

Para la cuantificación de los compuestos fenólicos totales se tomó 500 µL de la muestra y se hizo reaccionar con 250 µL del reactivo Folin-ciocalteu 1N, a ello se le adicionó 1250 µL de carbonato de sodio 0.5 M. La mezcla fue agitada y dejada en reposo por 30 minutos bajo condiciones de oscuridad a temperatura ambiente, paralelamente se preparó un blanco con agua en lugar de la muestra y se trabajó bajo las mismas condiciones. Este blanco fue utilizado para calibrar el espectrofotómetro, La lectura de absorbancia se realizó a 755 nm. El contenido de compuestos fenólicos totales se estimó a partir de una curva estándar elaborada con una solución acuosa de ácido gálico como patrón. Los resultados se expresaron como mg de ácido gálico equivalente (AGE) por cada gramo de extracto o mililitro de solución.

3.5.5. Determinación de la capacidad antioxidante *in vitro*

Se determinó según el método de ABTS descrito por Arnao (2000). Este método permite evaluar la capacidad antioxidante de un compuesto frente a un radical libre previamente preparado; esta capacidad antioxidante es medida como la habilidad de los componentes de la muestra para disminuir la absorbancia a la longitud de onda de 734 nm. El procedimiento empleado fue el siguiente:

Se preparó la solución madre con partes iguales en volumen del reactivo: 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico) o ABTS y del reactivo persulfato de potasio; luego se homogenizó la solución y se dejó reposar por 12 horas en condiciones de oscuridad hasta su dilución con etanol (1:60).

Para proceder a la cuantificación de la capacidad antioxidante se hizo reaccionar 150 µL de muestra con 2850 µL de la solución diluida de ABTS•+ a temperatura ambiente, luego se agitó la mezcla y se dejó reaccionar por un periodo de 1 h en un ambiente oscuro bajo

agitación constante. Al concluir este tiempo, se procedió a la lectura en el espectrofotómetro a 734 nm. El análisis requirió de un blanco, el cual se preparó reemplazando los 150 µL de muestra por etanol y se siguió el mismo procedimiento arriba mencionado.

La capacidad antioxidante se estimó a partir de una curva estándar elaborada con trolox como patrón. Los resultados se expresaron como µmol de Trolox equivalente (TE) por gramo de muestra.

3.5.6. Determinación de azúcares

a. Determinación de glucosa, fructosa y sacarosa. La extracción de azúcares (glucosa, fructosa y sacarosa) en papa fresca se determinó de acuerdo a la metodología de Serpen y Gökmen (2009) con algunas modificaciones.

Se pesó cinco gramos de papa fresca (cortada finamente) en un tubo de 50 mL, se adicionó 25 mL de agua destilada y se procedió a licuar hasta obtener una mezcla homogénea. A continuación, la mezcla se lleva a 70 °C por 15 minutos con agitación constante. Posteriormente, se adicionó 1 mL de Carrez I (Ferrocianuro de potasio) y 1 mL de Carrez II (Acetato de zinc) se homogenizó por tres minutos y se dejó reposar por 20 minutos. Después, se filtra a vacío con papel filtro de paso rápido, seguidamente el filtrado se centrifuga a 1,520 g por 15 min. Luego, del sobrenadante se tomó seis mililitros, se concentró a vacío a 70 °C hasta dos mililitros y finalmente se filtró por 0.22 µm antes de inyectar al equipo cromatógrafo (HPLC) con un detector de índice de refracción (IR). La separación se llevó a cabo en una columna ShodexTM VG-50 4E (250 mmL x 4.6 mm ID) utilizando el software Empower II. El solvente de elución fue acetonitrilo:agua (80:20) a un flujo de 1 mL/min y 40 °C durante 20 minutos. El cálculo del contenido de azúcares se realizó mediante el empleo de curvas de calibración de fructosa, glucosa y sacarosa.

b. Determinación de azúcares reductores. Se usó el método del ácido 3,5 dinitrosalisílico, recomendado por Miller (1959), el resultado fue calculado como porcentaje de azúcares reductores expresados como glucosa.

El principio de acción de este método se basa en la reacción redox donde ocurre la oxidación de los grupos aldehídos de los azúcares a grupo carboxilo y la reducción del 3,5 dinitrosalicílico (DNS), a ácido 3, amino-5, nitrosalicílico en condiciones alcalinas.

3.5.7. Determinación de acrilamida

La extracción de acrilamida en papas fritas se determinó de acuerdo a la metodología descrita por Bertuzzi *et al.* (2017) con algunas modificaciones.

Se pesó dos gramos de hojuelas de papa frita molida las cuales fueron colocadas en un tubo de 50 mL. Luego, se añadió cinco mililitros de hexano, 10 mL de agua Milli Q y 10 mL de acetonitrilo y se mezcló vigorosamente durante un minuto. Posteriormente, se adicionó 8 g de sulfato de magnesio anhidro y 0.5 g de cloruro de sodio mezclándose por 5 minutos. Posteriormente se centrifugó a 1,520 g por un minuto a 15 °C y del sobrenadante (fase acetonitrilo) fue llevado a un tubo falcon de 50 mL. El pellet fue lavado con ocho mililitros de acetonitrilo, se centrifugó a 1520 g por 15 segundos a 15 °C, el sobrenadante obtenido se mezcló con la primera fase de acetonitrilo, y se completó al volumen de 20 mL con acetonitrilo.

Para la identificación y cuantificación de acrilamida en la muestra, el extracto fue analizado por HPLC y LC-Ms/Ms.

a. Cromatografía Líquida de alta performance – arreglo de diodos. Se realizó a partir del extracto obtenido para la determinación de acrilamida. Se tomó una alícuota de cuatro mililitros, se transfirió al tubo falcon de 15 mL para luego evaporar el acetonitrilo y resuspender con 270 μ L de agua Milli Q. Finalmente se filtró por 0.22 μ m y se inyectó en el HPLC con detector arreglo de diodos (PDA) a una longitud de onda de 226 nm. La separación se realizó en columna cromatográfica Atlantis[®] dC18 (5 μ m x 150 mm x 4.6 mm ID, Waters, Irlanda) a temperatura de 30°C y una inyección de muestra de 25 μ L. La fase móvil estuvo compuesta por Agua (solvente A) y Acetonitrilo al 80 por ciento (solvente B) a un flujo de 0.7 mL/min con el siguiente gradiente: 100 por ciento de A durante los 8 primeros minutos, luego se cambia por solvente B en el minuto 9 hasta el minuto 14 y finalmente retorna al solvente A en el minuto 15 hasta el minuto 20. Se construyó una curva de calibración de acrilamida en un rango de concentraciones de 0.01 a 2 ppm. Los resultados se expresaron como μ g de acrilamida por kilogramo de hojuela de papa frita. El tiempo total de la corrida fue de 20 minutos.

b. Cromatografía líquida acoplada a espectrómetro de masa (LC-MS/MS). Del extracto (adicionando al inicio de la extracción 500 μL de estándar interno d3-acrilamida 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) se tomó una alícuota de 1.5 mL, se transfirió al tubo QuEChERS[®], se agitó por tres minutos y centrifugó a 16060 g por 10 minutos. Después, se tomó un volumen de 800 μL del sobrenadante a un tubo de microcentrífuga y se evaporó el solvente a sequedad bajo corriente de N_2 gaseoso. Finalmente, se reconstituyó el residuo en 200 μL de agua Milli Q, se filtró por membrana de 0.22 μm y se inyectó en el cromatógrafo líquido UHPLC UltiMate 3000 (Thermo Scientific, Alemania) acoplado a un detector MS/MS TSQ Quantum Access Max (Thermo Scientific, San José, CA, USA).

El contenido de acrilamida fue determinado por inyección de un volumen de muestra de 2 μL en UHPLC usando en una columna UPLC HSS T3 (1.8 μm x 100 mm x 2.1 mm ID, Waters, Irlanda). La fase móvil fue agua con 0.5 por ciento de metanol y 0.05 por ciento de ácido fórmico a un flujo de 0.2 mL/min en modo isocrático. La temperatura de la columna fue de 30 °C mientras que las muestras se mantuvieron a 5 °C. La detección se realizó por espectrometría de masas triple cuadrupolo TSQ Quantum Access Max (Thermo Scientific, USA). La ionización se realizó por electrospray (ESI) en polaridad positiva y en modo SRM (*Single Reaction Monitoring*). Los parámetros de ionización fueron los siguientes: voltaje de spray 3.5 kV, temperatura del vaporizador 250 °C, temperatura del capilar 270 °C, presión de gas envolvente 30 (unidades arbitrarias), presión de gas auxiliar 5 (unidades arbitrarias). La acrilamida se detectó en la transición m/z 72.15 > 53.3 y el estándar interno d3-acrilamida en la transición m/z 75.15 > 58.3. Se construyó una curva de calibración de acrilamida en un rango de concentraciones de 0.005 a 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ con d3-acrilamida como estándar interno a una concentración de 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Se graficó la relación de áreas acrilamida/d3-acrilamida contra la concentración. El tiempo total de la corrida fue de 7 minutos. Los resultados fueron procesados con el programa XcaliburTM (versión 3.0).

Para el análisis de acrilamida en las muestras líquidas obtenidas del Sistema Modelo descrito en el acápite 3.6.3, se tomó dos mililitros de solución reacción. Luego, se pasó por un cartucho Oasis HLB 6cc (previo acondicionamiento con metanol y agua Milli Q) para la limpieza de la muestra. Después, se recolectó 10 mL de la fracción acuosa (se adicionó estándar interno d3-acrilamida) de la cual se tomó un alícuota de 250 μL y se llevó a un mililitro con agua Milli Q. Finalmente esto fue filtrado por 0.22 μm e inyectado en el LC-MS/Ms con las condiciones cromatográficas mencionadas en el acápite 3.5.7.b.

3.5.8. Determinación de hidroximetilfurfural

La extracción de HMF en el Sistema Modelo se determinó de acuerdo a la metodología de Huang *et al.* (2019) con algunas modificaciones.

De las muestras líquidas obtenidas en el Sistema Modelo descrito en el acápite 3.6.3, se tomó dos mililitros de la solución reacción. Luego, se realizó una limpieza de la muestra con el cartucho Oasis HLB 6cc (previamente acondicionado con metanol y agua Milli Q) y en la elución con metanol se llevó hasta tres mililitros y se filtró a través de filtros PVDF de 0.22 μm .

A partir del extracto obtenido para la determinación de HMF, se inyectó 2 μL de muestra en un cromatógrafo UHPLC UltiMate 3000 (Thermo Scientific, Alemania). La separación se llevó a cabo usando una columna Acquity UPLC® BEH C18 (1.7 μm x 100 mm x 2.1 mm ID, Waters, Irlanda) a un flujo de 0.25 mL/min. Se utilizó agua con 0.5 por ciento de metanol y 0.05 por ciento de ácido fórmico (solvente A), metanol (solvente B) y acetonitrilo (Solvente C) como fase móvil en el siguiente gradiente: para el solvente B, dos por ciento durante los seis primeros minutos, luego en el minuto siete sube a diez por ciento y del minuto ocho al doce se mantiene en 40 por ciento para luego en el minuto 13 hasta el 20 regrese a dos por ciento; respecto al solvente C, los siete primeros minutos se mantiene en dos por ciento, después asciende a 60 por ciento por cuatro minutos, finalmente en el minuto 13 desciende a dos por ciento hasta el final de la corrida; el solvente A, completa las concentraciones el total de la fase móvil. La temperatura de la columna fue de 30 °C. La detección se realizó por espectrometría de masas triple cuadrupolo TSQ Quantum Access Max (Thermo Scientific, USA). La ionización se realizó por electrospray (ESI) en polaridad positiva y en modo SRM (Single Reaction Monitoring). Los parámetros de ionización fueron los siguientes: voltaje de spray 3.5 kV, temperatura del vaporizador 20 °C, temperatura del capilar 270 °C, presión de gas envolvente 30 (und. Arbitrarias), presión de gas auxiliar 5 (und. Arbitrarias). El escaneo fue llevado a cabo en modo SRM (Single Reaction Monitoring) con un tiempo de escaneo de 0.5 s. Las transiciones monitoreadas fueron 127.1 > 109.1; 127.1 > 81.3, y 127.1 > 53, la primera transición fue utilizada para la cuantificación y las otras dos para confirmación del compuesto. La energía de colisión fue optimizada para cada transición por infusión de solución estándar de 5-HMF al detector. El flujo proveniente de la columna fue introducido al detector durante los primeros 11 minutos y posteriormente derivado al desecho para evitar la contaminación del detector. Se construyó una curva de

calibración de HMF en un rango de concentraciones de 0.025 a 1 ppm. Los datos fueron adquiridos utilizando el software Chromeleon™ y TSQ Tune™ y posteriormente procesados con el programa Xcalibur™ (todos de Thermo Scientific) y se expresaron como mg de HMF por kilogramo de hojuela de papa frita. El tiempo total de la corrida fue de 20 minutos.

3.5.9. Determinación de asparagina

La extracción de asparagina en papas fresca se determinó de acuerdo a la metodología de Koklamaz *et al.* (2014) con algunas modificaciones.

Se pesó dos gramos de papa fresca (cortada finamente) en un tubo de 50 mL, se añadió 10 mL de agua Milli Q y se procedió a licuar hasta obtener una mezcla homogénea; la mezcla se mantuvo con agitación constante de cinco minutos, se centrifugó 1,520 g por 10 minutos. Después, se tomó el sobrenadante en un tubo centrífuga de 50 mL y la torta se recuperó para realizar una segunda extracción con cinco mililitros de agua Milli Q. Se agitó por cinco minutos y se centrifugó a 1,520 g por cinco minutos, repitiéndolo una vez más. Los tres sobrenadantes se recolectaron, mezclaron y se midió el volumen final. Posteriormente, se tomó un alícuota de un mililitro, se pasó por un cartucho Oasis HLB 6cc (previamente acondicionado con 2V de agua y 2V de metanol) descartando las ocho primeras gotas y recolectando el resto. Se realizó una dilución 1:1 con acetonitrilo, este diluido finalmente se filtró por un filtro de 0.22 µm y se inyectó en el LC-MS/MS.

El análisis cromatográfico se realizó en un cromatógrafo UHPLC UltiMate 3000 (Thermo Scientific, Alemania). La separación se realizó en una columna KINETEX HILIC (1.7 µm, 100 x 2.1 mm, Phenomenex® USA) a un flujo de 0.35 mL/min. Las fases móviles fueron agua Milli Q con 0.15 por ciento de ácido fórmico y 15 nM de formiato de amonio (solvente A) y acetonitrilo con 0.05 por ciento de ácido fórmico (solvente B). Se aplicó el siguiente gradiente: 90 por ciento B durante el primer minuto, luego en dos minutos a 75 por ciento B, en seis minutos a 50 por ciento B, en un minuto a 90 por ciento B y mantenido en dicha condición durante cinco minutos. La temperatura de la columna fue de 40 °C y el volumen de inyección fue de 2 µL. La detección se realizó en un espectrómetro de masa triple cuadrupolo TSW Quantum Access Max (Thermo Scientific, CA, USA) equipado con una fuente de ionización (H-ESI). Los parámetros de la fuente fueron los siguientes: voltaje de ionización 3.5 kV, temperatura de vaporizador 260 °C, temperatura del tubo capilar 270 °C, presión de gas envolvente 30 (unidades arbitrarias), presión de gas auxiliar 5 (unidades

arbitrarias). El escaneo fue llevado a cabo en modo SRM (*Single Reaction Monitoring*) con un tiempo de escaneo de 1.2 s y energía de colisión de 1.5 eV. Las transiciones monitoreadas fueron 133.1 > 74.4; 133.1 > 116.2 y 127.1 > 87.3; la primera transición fue utilizada para la cuantificación y las otras dos para la confirmación del compuesto. El flujo proveniente de la columna fue introducido al detector durante los primeros 13 minutos y posteriormente derivado al desecho para evitar la contaminación del detector. Los datos fueron adquiridos utilizando el software Chromeleon™ y TSQ Tune™, y posteriormente procesados con el programa Xcalibur™ (versión 3.0, todos de ThermoScientific).

3.5.10. Análisis de color

Se realizaron las mediciones de color utilizando un colorímetro de refracción mediante el metodo CIELab (luminosidad (L*), rojo-verde (a*), amarillo-azul (b)), valor del ángulo de matiz o tono (h*, hue) y el cambio de color total (ΔE), usando el método descrito por Serpen y Gökmen (2009). Se utilizó el equipo Konica Minolta modelo CR-400/410, el equipo se estandarizó con una placa de cerámica blanco (y=93.3; x=0.3161; y=0.3328). El cambio de color total (ΔE) y matiz (h*) se calculó mediante las ecuaciones 1 y 2:

$$\Delta E = \sqrt{(L_0^* - L^*)^2 + (a_0^* - a^*)^2 + (b_0^* - b^*)^2} \dots\dots\dots (Ec. 1)$$

$$h^* = \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \dots\dots\dots (Ec. 2)$$

Donde L_0^* , a_0^* y b_0^* , correspondieron a los parámetros de color CIELab de las hojuelas de papa frita control, mientras que L^* , a^* y b^* correspondieron a los parámetros de color CIELab de los tratamientos hojuelas de papa frita.

3.6. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Para la ejecución de la investigación se realizó el siguiente procedimiento:

3.6.1. Extracción de fenólicos de Inca Muña

Para la extracción de compuestos fenólicos a partir de Inca Muña se siguió la secuencia descrita por Yapuchura (2010) con algunas modificaciones (Figura 11). A continuación, se describe las operaciones unitarias realizadas.

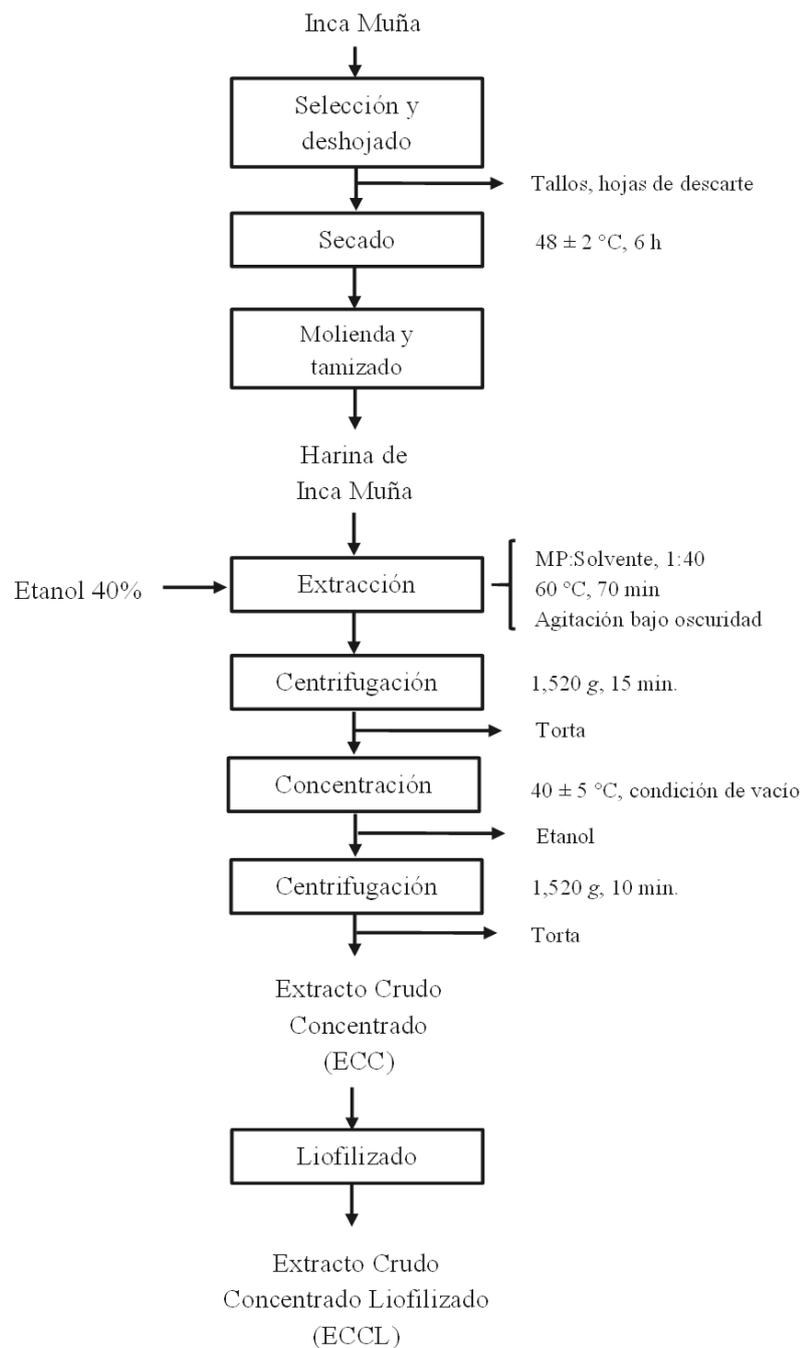


Figura 11. Flujo de operaciones para la obtención del extracto fenólico de Inca Muña

- a. Selección y deshojado.** La Inca Muña fue seleccionada y deshojada de tal forma que se eliminaron aquellas hojas que se encontraban en estado de deterioro.
- b. Secado.** Las hojas de Inca Muña fueron sometidas al proceso de secado en una estufa de aire caliente a $48\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ por seis horas aproximadamente, hasta llegar a una humedad de seis por ciento, para mejorar la preservación y evitar futuros daños microbiológicos.

c. Molienda y tamizado. Las hojas secas de Inca Muña se molieron con el objetivo de reducir el tamaño de las partículas y posteriormente se tamizaron con la ayuda de un tamiz N° 35 *mesh* para homogenizar el tamaño de partícula de la harina de Inca Muña. En la muestra se determinó humedad, fenólicos totales y capacidad antioxidante.

d. Extracción de fenólicos. La extracción de los compuestos fenólicos de las muestras se realizó siguiendo la metodología descrita por Yapuchura (2010) con algunas modificaciones. Se usó etanol al 40 por ciento como solvente de extracción y relación harina de Inca Muña:solvente fue de 1:40. El proceso se hizo bajo oscuridad con agitación constante a 60 °C por 70 minutos. Después del tiempo de extracción, la mezcla se centrifugó a 1,520 g por 15 minutos y el sobrenadante se recuperó para luego ser concentrado a vacío a una temperatura aproximada 40 ± 5 °C con la finalidad de remover el solvente de extracción (etanol) hasta un volumen de 15 mL aproximadamente. Después, el extracto acuoso fue llevado a centrifugar (1,520 g por 10 minutos) obteniéndose el Extracto Crudo Concentrado (ECC). Finalmente, el ECC fue liofilizado obteniendo una muestra en polvo llamada Extracto Crudo Concentrado Liofilizado (ECCL) como se presenta en la Figura 11.

3.6.2. Purificación parcial del extracto de Inca Muña por resina de adsorción

Para la purificación parcial del extracto se partió del ECC (ver Figura 11) el cual fue llevado a pH 3.5. Luego, se agregó 80 mL de esta solución sobre una columna de vidrio empacada con resina de adsorción macroporosa DA-201C (Suqing Chemistry) previamente acondicionada. La columna empacada fue equilibrada con agua Milli Q y la elución se realizó con agua Milli Q y etanol al 80 por ciento. En la fracción acuosa se eluyeron los azúcares de la muestra a un flujo de 2 mL/min por 14 horas; y en la fracción alcohólica se recuperaron los fenólicos a un flujo de 2 mL/min por 24 horas. Después de la elución, se recupera toda la fracción alcohólica y se concentró hasta eliminar el solvente. Posteriormente, este concentrado se liofilizó, denominándose Extracto Parcialmente Purificado Liofilizado (EPPL) y se guardó en congelación hasta un posterior análisis.

3.6.3. Sistema modelo glucosa - asparagina

El método de Oral *et al.* (2014) fue modificado para el Sistema Modelo glucosa - asparagina. Para el sistema se preparó una solución tampón fosfato (0.067 M) pH 6.5 el cual contenía, 0.1 M de asparagina y glucosa. A esta solución se le añadió EPPL, para alcanzar

concentraciones de 0 (control), 1.25; 5.0; 7.5; 10.0 y 20.0 mg AGE/mL. Dos mililitros de esta mezcla fue agregado a tubos de ensayo de 8 mL con tapa de teflón, se calentaron durante 15 min a 160 °C en un baño de aceite y después se enfriaron inmediatamente con agua fría para detener la reacción. Después de enfriar, se completó hasta 7 mL con agua Milli Q y se homogenizó. A esta solución se le llamó “Solución de Reacción”.

3.6.4. Selección de variedad de papa

Previo a la fritura de papas, se efectuó una selección de la variedad de este tubérculo. Para ello, se tomó en cuenta tres variedades, las más usadas para fritura: Canchan, Yungay y Capiro. Se evaluó los azúcares reductores de las mismas; aquella que presentó menor contenido de éstos y adicional a ello la disponibilidad de compra, fue elegida para el estudio.

3.6.5. Preparación de papas fritas tipo hojuelas

a. Selección. Esta operación se realizó para descartar las unidades de papa que presenten magulladuras o daño biológico.

b. Lavado de tubérculo. La papa se lavó con chorro de agua fría para retirar la tierra adherida y/o partículas extrañas.

c. Cortado. Las papas lavadas se cortaron en rodajas de 2 - 3 mm de espesor y ~ 60 mm de diámetro con ayuda de una cortadora de papa.

d. Lavado de rodajas de papa. Se lavaron las rodajas por 15 segundos con agua destilada para retirar el almidón superficial en ellas.

e. Inmersión. Las rodajas de papa se sumergieron en solución fenólica de EPPL (pH 6.5 – 7) bajo agitación y temperatura de 30 °C. Las concentraciones y tiempos usados se indican en el acápite 3.6.5. La relación de papa:solución fenólica fue de 1:9 (p/v). Para el tratamiento control, la solución usada fue agua destilada a pH 6.5 - 7. Respecto a la inmersión a vacío, las rodajas de papa fueron sometidas a las mismas condiciones descritas con la diferencia que se aplicó presión de vacío a 0.92 bar por tiempos de 15, 30, 60 y 120 segundos seguido de un tiempo de relajación de 10 minutos.

f. Ecurrido. Las rodajas de papa después de la inmersión fueron escurridas por 10 minutos a temperatura ambiente.

g. Fritura. Se colocó 600 mL de aceite en la freidora (Imaco IDF 25, China) y se calentó hasta 180 °C. Luego, 30 g de rodajas de papa se sumergieron en el aceite por cuatro minutos (Haizam *et al.* 2010 con algunas modificaciones).

e. Ecurrido. Se eliminó el exceso de aceite después de la operación de fritura.

f. Almacenamiento. Las hojuelas ya fritas se enfriaron, luego se molieron y posteriormente se almacenaron a -20°C en bolsas trilaminadas tipo ziplock para un análisis posterior.

3.6.6. Diseño experimental

El presente estudio tuvo etapas para evaluar la acción de los compuestos fenólicos de Inca Muña en la mitigación del compuesto carcinogénico acrilamida, como se presenta en la Figura 12.

a. Etapa I

En la Etapa I, antes de usar el extracto antioxidante en las papas, se realizó un procedimiento preliminar llamado Sistema Modelo en el cual se usó una solución de Glucosa-Asparagina 0.1 M y se evaluó el efecto de cinco concentraciones del EPPL (0, 1.25, 5.0, 7.5 y 20.0 mg AGE/mL) sobre la reducción de acrilamida en cada tratamiento. Adicionalmente se analizó también HMF. En esta etapa fue usado un Diseño Completamente al Azar (DCA).

b. Etapa II

La Etapa II se realizó en base de los resultados de la Etapa I. Se tomó como referencia aquel tratamiento que permitió disminuir el contenido de acrilamida usando la menor cantidad de extracto. Respecto a la matriz alimentaria (tubérculos de papa), se realizó una selección de la variedad en función del contenido de azúcares reductores y disponibilidad de adquisición. Con ambos resultados, se procede a fritar las papas. Las concentraciones próximas al valor obtenido en la Etapa I fueron aplicadas a las rodajas de papa seleccionada y posteriormente

se realizaron los ensayos de inmersión a presión atmosférica y presión de vacío por diferentes tiempos. En esta etapa fue usado un Diseño Completamente al Azar (DCA).

Inmersión a presión atmosférica

Se iniciaron los tratamientos usando EPPL a 1.0 y 2.0 mg AGE/mL en solución para la inmersión de rodajas de papa a tiempos de 15, 30, 60 y 120 segundos. Luego, se frieron y se cuantificó el contenido de acrilamida y color en las papas fritas.

Inmersión a presión a vacío

Se preparó una solución acuosa conteniendo EPPL a concentración de 1.0 y 2.0 mg AGE/mL. Las rodajas de papa fueron sometidas a tiempos de 15, 30, 60 y 120 segundos de inmersión a presión de vacío 0.92 bar para luego freír y cuantificar acrilamida y color en las papas fritas.

3.6.7. Análisis estadístico

Para evaluar el error estándar de los tratamientos y los análisis posteriores, se realizaron por triplicado tanto en el Sistema Modelo como la aplicación del extracto fenólico en las papas fritas. Se calculó el promedio aritmético y la desviación estándar del contenido de los compuestos fenólicos totales de los extractos de Inca Muña, acrilamida, color y caracterización de la materia prima. Luego, se realizaron pruebas de comparación ANOVA ($p < 0.05$) y prueba HSD Tukey (para el contenido de acrilamida, y color) con el programa estadístico Statgraphic Centurion 18.0.

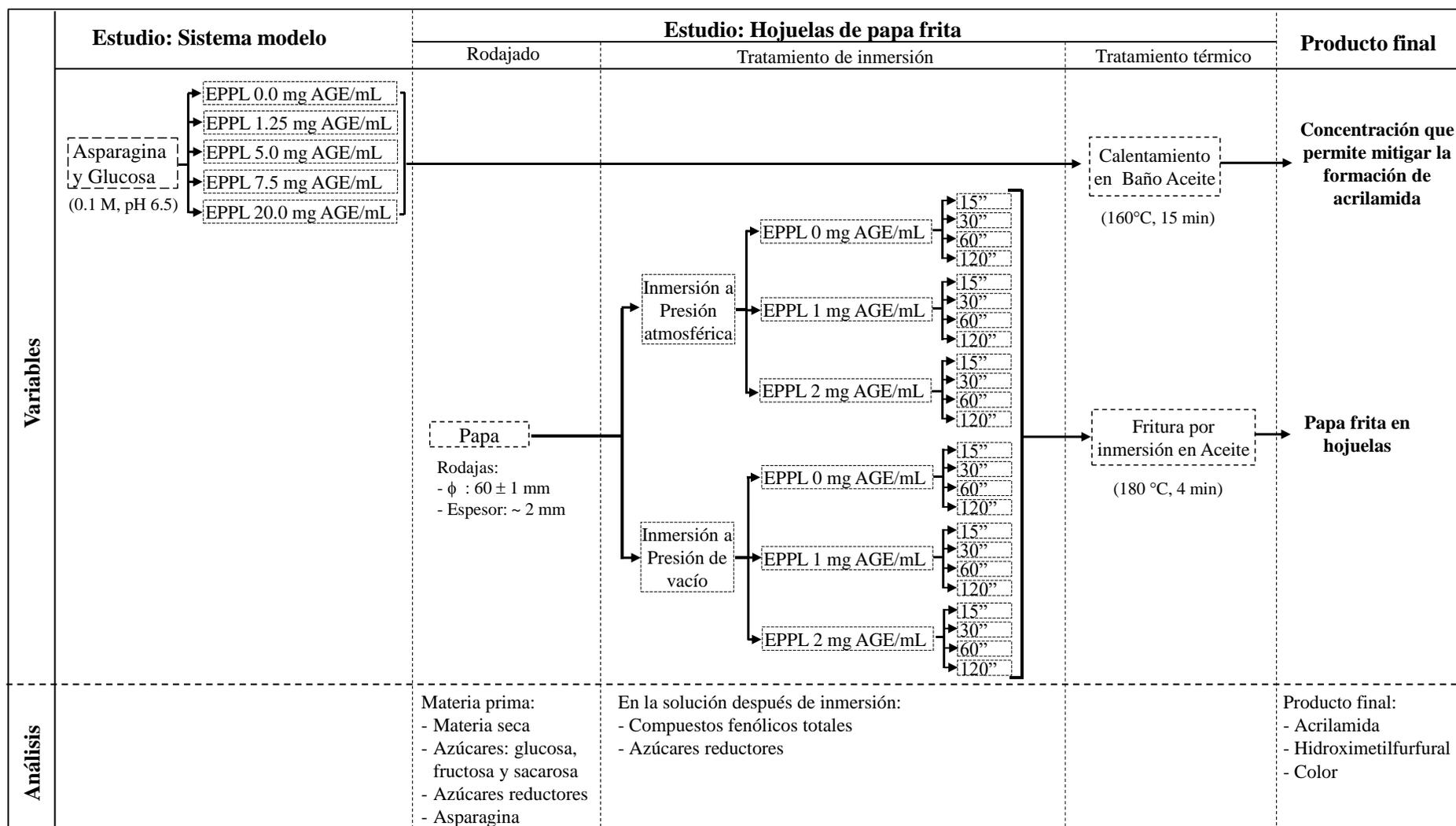


Figura 12. Diseño experimental del trabajo de investigación

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. CARACTERIZACIÓN DE LAS HOJAS DE INCA MUÑA Y SUS EXTRACTOS

La Inca Muña fue procesada (según lo mostrado en el acápite 3.6.1). A partir de sus hojas secadas y molidas, se obtuvo la harina de Inca Muña con seis por ciento de humedad. Posteriormente, a partir de las hojas de Inca Muña molida, siguiendo los procedimientos descritos (acápites 3.6.1 y 3.6.2) se obtuvo dos extractos: Extracto Crudo Concentrado y Liofilizado (ECCL) y extracto parcialmente purificado y Liofilizado (EPPL). La caracterización de las hojas, como de ambos extractos, se muestra en el Cuadro 1.

Cuadro 1: Caracterización de hojas de Inca Muña y sus extractos

Muestra	Compuestos fenólicos (mg AGE/g bs)	Capacidad antioxidante (μ mol TE/g bs)
Hojas	91.0 \pm 0.3	1,003.7 \pm 68.0
Extracto Crudo Concentrado y Liofilizado (ECCL)	234.6 \pm 8.0	2,354.2 \pm 114.5
Extracto Parcialmente Purificado y Liofilizado (EPPL)	258.9 \pm 3.7	3,109.4 \pm 35.9

Promedio de tres repeticiones \pm DS.

Yapuchura (2010) reportó en hojas de Inca Muña valores de compuestos fenólicos totales de 91.8 \pm 8.3 mg AGE/g y capacidad antioxidante de 1,004.1 \pm 36.7 μ mol TE/g, cantidades similares a la presente investigación. Por otro lado, Rivera y Ventura (2014) estudiaron el efecto gastroprotector de Inca Muña y cuantificaron los polifenoles totales obteniendo 92.12 \pm 0.43 mg AGE/g. Así mismo, Gutierrez (2017) caracterizó fenólicos totales y capacidad antioxidante de esta materia prima para su aplicación en queso, reportando valores de 117.15

mg AGE/g y 1,678.51 $\mu\text{mol TE/g}$, respectivamente. Por lo tanto, podemos indicar que el contenido de compuestos fenólicos en hojas de Inca Muña obtenido en el estudio son valores altos si comparamos con otras especias como la salvia (*Salvia officinalis*) con 17.1 mg AGE/g bs (Francik *et al.* 2020) o el romero (*Rosmarinus officinalis*) con 0.244 mg AGE/g bs (Abuashwashi 2018).

Al observar los resultados del Cuadro 1, podemos indicar que la etapa de purificación incrementó en 10.36 y 32.08 por ciento el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante, respectivamente. Así mismo, podemos indicar que se tiene valores específicos de 10.03 y 12.01 $\mu\text{mol TE/mg AGE}$ de poder antioxidante, para ECCL y EPPL, respectivamente. Al respecto, Bayçin *et al.* (2007) incrementaron la capacidad antioxidante de 880 a 1500 $\mu\text{mol TE/g}$ durante la purificación de extracto crudo de hojas de oliva por adsorción sobre un soporte de fibra de seda. Karakaya (2011) purificó un extracto etanólico de las hojas de olivo con resina XAD7HP, pasando de un valor de 4.02 hasta 7.0 mg AGE/mL.

4.2. SELECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PAPA FRESCA

Para la selección de la variedad de papa a usar, se realizó una evaluación previa de variedades de papa para freír en función al contenido de azúcares reductores. Los azúcares reductores son uno de los principales precursores en la formación de neotóxicos en la Reacción de Maillard (Gökmen 2016). Por ello, se recomienda un contenido entre 0.10 – 0.30 por ciento de azúcares reductores (Triveño *et al.* 2011). Tres variedades de papa para freír de producción nacional (Canchan, Yungay y Capiro) que se encuentran en los mercados locales fueron evaluadas, obteniendo 0.37, 0.52 y 0.10 por ciento de azúcares reductores, respectivamente. En base a estos resultados y la factibilidad de compra, se seleccionó la variedad Canchan. En el Cuadro 2 se presenta las características fisicoquímicas de la variedad seleccionada.

Cuadro 2: Caracterización fisicoquímica de la papa variedad Canchan

Análisis	Característica
Variedad	Canchan
Forma	Ovalada
Color	Piel rosada, pulpa blanca
Calibre	
Diámetro mayor (mm)	175.0 ± 18.4
Diámetro menor (mm)	155.0 ± 3.00
Peso (g)	116.4 ± 9.87
Materia seca (%)	24.0 ± 3.08
Densidad (g/mL)	1.15 ± 0.01
pH	5.73 ± 0.16
Acidez titulable (%)	0.21 ± 0.02
Sólidos solubles (°Brix)	5.07 ± 0.42
Azúcares Reductores (%)	0.37 ± 0.01
Fructosa (%)	0.18
Glucosa (%)	0.17
Sacarosa (%)	0.03
Asparagina (mg/kg)	1,670.0 ± 0.002

De acuerdo a la NTP 011.119, las características sensoriales de forma y color de la papa variedad Canchan son las características y la calidad de papa escogida para la investigación ha sido “Extra” tomando como referencia el calibre de este tubérculo (Anexo 1).

Respecto a materia seca, la NTP 011.119 indica que esta variedad debe de tener 22 por ciento y lo obtenido fue un promedio de 24 por ciento, siendo un valor cercano a lo que indica la norma, aunque el INIA (2012) indica que esta variedad puede llegar a tener hasta 25 por ciento de materia seca. El contenido de materia seca en la papa es variable y está influenciado por la variedad, localización, condiciones de cultivo y almacenamiento. Los valores de pH obtenidos estuvieron comprendidos entre 5.56 - 5.80, ligeramente bajo si lo comparamos con la papa blanca (pH 6.90) o con la papa nativa (pH 6.30 – 6.90) (Romero 2019; Obregón y Repo 2013). En relación a los valores de acidez se obtuvo de 0.19 a 0.22 por ciento; el contenido de ácidos orgánicos de la papa varía según su estado de madurez, aquellos tubérculos que son cosechados tempranamente presentan valores de acidez más bajos (Obregón y Repo 2013). Así también, en la materia prima se cuantificó 1,670 mg/kg de asparagina. Plata-Guerrero *et al.* (2009) reportan valores similares en papas españolas, 1,300 y 1,700 mg asparagina/kg; por el contrario, Vivanti *et al.* (2006) reportan en papa morada peruana valores inferiores, 496.7 mg asparagina/kg papa fresca y Serpen y Gökmen (2009)

reportaron valores ligeramente superiores, 2,000 y 5,000 mg asparagina /kg papa fresca de la variedad Agria.

4.3. ANÁLISIS DE ACRILAMIDA Y COLOR EN HOJUELAS DE PAPA FRITA IMPREGNADOS CON EXTRACTO DE INCA MUÑA

Se evaluaron las rodajas de papa frita antes y después de la fritura. Los análisis realizados antes de la fritura fueron azúcares y compuestos fenólicos en la solución fenólica de inmersión; y los análisis realizados después de la fritura fueron contenido de acrilamida y evaluación de color de las hojuelas de papa frita.

4.3.1. Ensayos preliminares

Se realizaron ensayos preliminares de inmersión de rodajas de papa con ECCL a concentraciones de 1.0, 3.0 y 5.0 mg AGE/mL, y tres tiempos (10, 30 y 50 minutos). Los resultados mostraron que, a mayor concentración de fenólicos, se incrementaba el contenido de acrilamida, alcanzándose hasta tres veces más dicho contenido respecto al control (sin compuestos fenólicos). Estos resultados son mostrados en el Anexo 2.

En investigaciones realizadas por otros autores, usando compuestos antioxidantes (estándar o extractos) para mitigar la acrilamida, se ha obtenido resultados que mitigan la formación de acrilamida, como algunos que la incrementan, tal como fue observado durante las pruebas preliminares. Al respecto se puede señalar que, los diversos antioxidantes tienen diferente efecto en el mecanismo de mitigación o formación de acrilamida en alimentos. Así, Jin *et al.* (2013) señalaron que el incremento de acrilamida podría deberse al cambio en la reacción del antioxidante al aumentar su concentración y como consecuencia participar de otras reacciones. Zhang y Zhang (2007) evaluaron la adición de fenólicos liofilizados de bambú y té verde (obtenidos de un extracto bruto hidroalcohólico) en palitos de pan frito (*bread sticks*) a concentraciones de 0.002, 0.01, 0.1, 1, 2.5 y 4.9 g de extracto liofilizado por kg de harina obteniéndose la mayor mitigación de acrilamida en los tratamientos de concentraciones intermedias: 1 y 0.1 g/kg de harina para bambú y té verde con 82.9 y 72.5 por ciento de reducción, respectivamente; sin embargo, en concentraciones inferiores o mayores (0.002, 0.01, 2.5 y 4.9 g/kg harina) a dichos valores mostraron formación de acrilamida, llegando algunos a ser casi igual a la muestra control. De igual manera Kotsiou *et al.* (2010) trabajaron un sistema de modelo (mezcla de almidón de papa con glucosa y

asparagina) y evaluaron diferentes concentraciones de extracto fenólico obtenido de aceite de oliva virgen obteniéndose que la concentración más baja (2.2 mg AGE/kg) mitigó un 15 por ciento; mientras que, con las concentraciones más elevadas (23.0; 46.1; 92.3 y 216.9 mg AGE/kg) se incrementó el contenido de acrilamida entre un 21 y 49 por ciento. Un fenómeno similar ocurrió con el ácido ascórbico donde a bajas concentraciones (0.2; 0.5; 0.8 y 1.2 por ciento) inhibió la formación de acrilamida, con una tasa de reducción de hasta 58 por ciento. Sin embargo, la concentración de 1.5 por ciento de ácido ascórbico propició la formación de acrilamida en más del 90 por ciento en un Sistema Modelo Asparagina-Glucosa (Yuan *et al.* 2011). Esto se debe a que los compuestos fenólicos a altas concentraciones ejercerían un efecto prooxidante.

Otro factor que influye en el contenido de acrilamida en un alimento usando como aditivo mitigante o como antioxidante, es el método de preparación del extracto. El procedimiento de preparación, que a menudo incluye etapas de extracción o concentración asistidas por calor puede cambiar la composición del extracto respecto al presentado en la materia prima o el componente mitigante, especialmente para los antioxidantes inestables al calor. Además, dado que el extracto es relativamente complejo en comparación con los compuestos puros, se debe tener en cuenta el efecto de los componentes del extracto y la interacción entre ellos. Zhu *et al.* (2009) indicaron que los extractos brutos de plantas contienen además de metabolitos secundarios, otros componentes naturales como aminoácidos, proteínas y sacáridos solubles en agua haciendo que la muestra sea muy compleja. Al respecto, Mohanty *et al.* (2017) identificaron en la Inca Muña compuestos fenólicos del tipo Luteolina-7-O-glucósido, Eriodictiol-7-O-ruthinósido, ácido rosmarínico, Apigenina-7-O-apioglucósido, y Eriodictiol-glucósido. También Serrano *et al.* (2016) determinaron que esta materia prima contiene ácidos triterpénicos (ácido ursólico y ácido oleanólico) y ácido rosmarínico. Así mismo, Yapuchura (2010) determinó la presencia de compuestos fenólicos como derivados de ácidos fenólicos hidroxicinámicos del tipo ácido cafeico y *p*-cumárico, derivados de flavanonas del tipo eriodictiol y derivados de flavonoles del tipo rutina en hojas de Inca Muña. Se evidencia que esta planta contiene una variedad de metabolitos secundarios, siendo los extractos muestras complejas. Por ejemplo, Kotsiou *et al.* (2010) al evaluar los estándares químicos de tirosol, oleuropeína y 4-hidroxifenil ácido acético (componentes fenólicos del aceite de oliva virgen) demostraron que fueron eficaces en la inhibición de la formación de acrilamida; por el contrario, el extracto obtenido a partir de aceite de oliva virgen, potenció la formación de acrilamida, justificando esta diferencia a que la oleuropeína se hidroliza

durante la extracción, formando derivados dialdehídicos o aldehídicos; compuestos que favorecen la formación de acrilamida como carbonilos reactivos (Jin *et al.* 2013). Por tanto, durante la obtención del ECCL de Inca Muña, se pudo dar transformaciones en los compuestos fenólicos presentes en hojas de Inca Muña que favorecieron la formación de acrilamida; así mismo la presencia de clorofila, minerales y otros pueden actuar como prooxidantes.

Por otro lado, el pH también tiene un efecto sobre formación de acrilamida. Yuan *et al.* (2011) indicaron que si el pH del sistema se encuentra entre 5.0 y 7.5, el contenido de acrilamida tiende a incrementar; sin embargo, cuando el valor de pH oscila entre 7.5 y 9, la cantidad de acrilamida tiende a bajar. El ECCL usado en las pruebas preliminares tuvo un pH de 5.45 y el pH de la papa fue de 5.73 ± 0.16 ; por tanto, el pH del sistema posiblemente favoreció la formación de acrilamida en el producto final.

Respecto al contenido de azúcares reductores, se determinó valores de 0.13; 0.39 y 0.63 por ciento de azúcares reductores para las soluciones de ECCL a 1; 3 y 5 mg AGE/mL de fenólicos, respectivamente; y, sumados con 0.37 por ciento de azúcares reductores en la papa (Cuadro1) favoreció el incremento de acrilamida, por el aporte de grupos carbonilo a la reacción.

En tal sentido, el ECCL utilizado en las pruebas preliminares influyó en el incremento de acrilamida, debido posiblemente a los diversos factores mencionados o interacción de éstos favorecieron en dicho aumento.

Por todo lo expuesto y con el fin de eliminar posibles compuestos presentes en el extracto de Inca Muña que estarían favoreciendo la formación de acrilamida, se procedió a la purificación parcial del extracto mediante cromatografía de adsorción usando resina DA201-C (utilizada principalmente para la adsorción de compuestos fenólicos y otros compuestos aromáticos) obteniéndose un producto denominado Extracto Parcialmente Purificado Liofilizado (EPPL). En un primer momento se le evaluó en un Sistema Modelo el cual nos permitió obtener valores de referencia para mitigar la formación de acrilamida; y en una segunda etapa, se utilizó este valor como referencia para realizar los ensayos en un sistema real: hojuelas de papa frita.

4.3.2. Evaluación en Sistema Modelo

Previo al estudio de la aplicación del EPPL en la fritura de las papas, y considerando la complejidad de esta matriz alimenticia, se evaluó la mitigación de acrilamida y adicionalmente se analizó el contenido de hidroximetilfurfural (HMF) en Sistemas Modelo. Este sistema consistió en la reacción de un azúcar reductor (como donante de grupos carbonilo) y un aminoácido (Liu *et al.* 2018). Entonces, siguiendo ese mismo contexto, el Sistema Modelo fue elaborado con los componentes básicos de formación de acrilamida: glucosa y asparagina, ambos en solución buffer (pH 6.5) y se realizaron los ensayos a 160 °C por 15 minutos, utilizando un baño de aceite (simulando los parámetros de fritura de hojuelas de papa) en presencia del extracto purificado a diferentes concentraciones 0.0, 1.25, 5.0, 7.5 y 20.0 mg AGE/mL, con el fin de verificar el poder mitigador del EPPL sobre la acrilamida y HMF. Los resultados obtenidos de acrilamida y HMF son reportados en porcentaje respecto al tratamiento control (sin adición de antioxidante), y se presentan en la Figura 13.

Respecto a la mitigación de acrilamida en el Sistema Modelo, se observa en la Figura 13 (A) que el EPPL logró reducir el contenido de acrilamida a medida que se incrementa la concentración de fenólicos de Inca Muña. Los resultados muestran que no hay reducción de acrilamida de la concentración de 1.25 mg de AGE/g respecto al control; mientras que a partir de 5 mg de AGE/g se observa una reducción, aunque a este valor no es significativo. La mitigación de acrilamida para las concentraciones de 5, 7.5 y 20 mg de AGE/g fueron 32.2, 51.7 y 97.1 por ciento respectivamente, siendo a las dos primeras concentraciones estadísticamente similares (Anexo 3). En base a estos resultados podemos decir que para el sistema modelo la máxima reducción de acrilamida (97.1 por ciento) se obtuvo una concentración de 20 mg de AGE/g.

Esta reducción de acrilamida puede deberse a los principales compuestos fenólicos que tiene la Inca Muña: derivados del ácido cafeico, *p*- cumárico, eriodictiol, rutina y apigenina (Yapuchura 2010) los cuales pueden donar el átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo del fenólico al radical libre deteniendo así las reacciones en cadena de propagación durante el proceso de oxidación; y mientras más números OH tenga el fenólico mayor es su poder antioxidante (Ranalli *et al.* 2003) ocurriendo más en los fenólicos del grupo flavonoide.

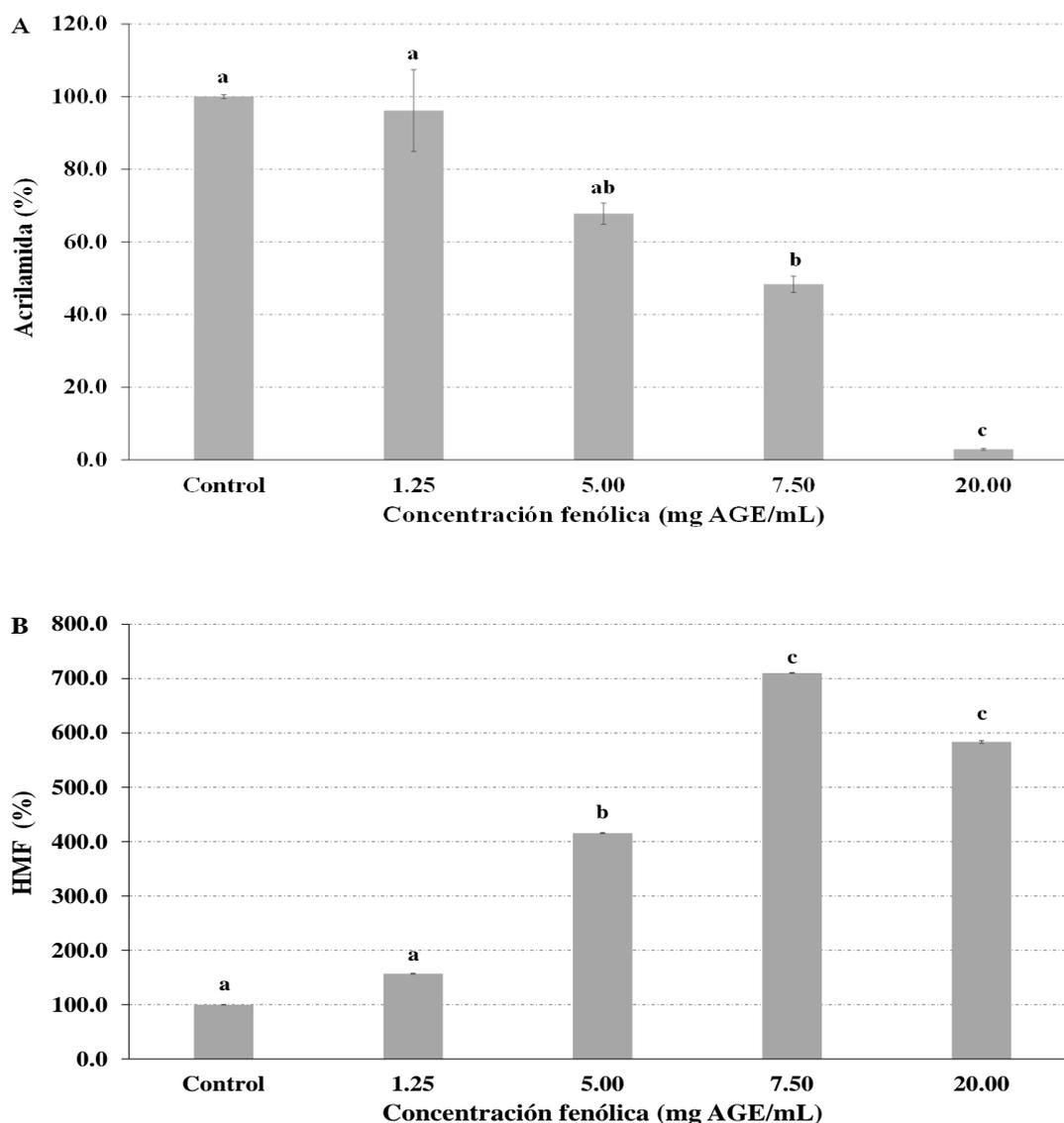


Figura 13. Cuantificación de acrilamida (A) y HMF (B), en el Sistema Modelo glucosa – asparagina usando diferentes concentraciones de extracto purificado de Inca Muña.

Letras diferentes muestran diferencia significativa a través de la prueba de Tukey. Promedio de tres repeticiones (n= 3)

Mohanty *et al.* (2017) y Serrano *et al.* (2016) indicaron que esta planta Inca Muña también contiene ácido rosmarínico, el cual también tiene un papel importante en la reducción de acrilamida. Este fenólico en específico posee dos grupos de catecol en los anillos A y B que pueden ser oxidadas a o-quinonas y son capaces de inactivar péptidos uniéndose a ellos (Pirker *et al.*, 2009); entonces, los átomos de hidrógeno del hidroxilo adyacente en el doble anillo de ácido rosmarínico son atrapados por completo por la acrilamida y finalmente se forma una estructura quinoide estable, reduciendo así este neotóxico (Yuan *et al.* 2019). Adicionalmente, Cheng *et al.* (2009) indicaron que el mecanismo de inhibición de acrilamida

de la flavanona naringenina (un tipo de flavonoide) podría deberse a la oxidación para formar quinonas que reaccionarían con intermediarios quinónicos de acrilamida como el 3-aminopropionamida (3-APA) por medio de la interacción quinona–amina; en otras palabras, es capaz de atrapar la fuente amida de las vías que conducen a la formación de acrilamida.

Los resultados obtenidos usando EPPL en el Sistema Modelo coinciden con lo reportado por Cheng *et al.* (2010) quienes también evaluaron un Sistema Modelo de glucosa-asparagina y extractos purificados (con resina XAD16) de cinco frutas (manzana, arándano, mangostán, longan, fruta del dragón pulpa blanca y pulpa roja), logrando incrementar la mitigación de acrilamida proporcionalmente a la concentración de antioxidante a excepción de la fruta del dragón cuyo efecto fue contrario. Así mismo, Zhu *et al.* (2009) estudiaron extractos fenólicos de 35 especies entre las cuales se encontraban hojas de menta, orégano, curry y té verde (concentración 0.1 mg/mL) en un Sistema Modelo de asparagina-glucosa en buffer fosfato a pH 6.58 resultando una reducción de acrilamida de 74.5; 46.1; 49.7 y 46.8 por ciento, respectivamente. Por otro lado, se ha utilizado este método adicionando compuestos fenólicos puros: Yuan *et al.* (2019) evaluaron en un Sistema Modelo (glucosa y asparagina) el efecto de ácido rosmarínico en la mitigación de acrilamida, llegando a una máxima reducción de un poco más del 90 por ciento (respecto al control) a una concentración fenólica de 10^{-1} mmol/L seguido de 10^{-5} mmol/L; sin embargo, a 10^{-2} mmol/L se reportó sólo reducción de 42.93 por ciento. De igual forma, Cheng *et al.* (2015) evaluaron el efecto de tres tipos de flavonas (luteolina, apigenina y tricina) e isoflavona (aidzin, genistin, daidzeína y genisteína) en la mitigación de acrilamida encontrando que la fuerza de la inhibición de acrilamida fue de las flavonas llegándose hasta un 52.9 por ciento de inhibición. También Bassama *et al.* (2010) usaron diferentes concentraciones de tres sustancias distintas (catequina, ácido cafeico y cloruro de calcio) en un Sistema Modelo obteniendo mayor reducción de acrilamida con la concentración de catequina a 10 mM y cloruro de calcio a 20 mM; con el ácido cafeico el efecto fue contrario. Además, Zhu *et al.* (2009) estudiaron el efecto de 11 compuestos fenólicos (entre ellos ácido p-cumárico, rutina, ácido gálico, quercitina y ácido felúrico) en la disminución de acrilamida en un Sistema Modelo (glucosa y asparagina, pH 6.8) obteniendo como resultado la reducción de acrilamida en 53.4; 49.4; 47.7 y 38.4 por ciento, respectivamente a excepción de ácido felúrico (incrementó la acrilamida en 4.5 por ciento). Por lo anterior expuesto, observamos que fenólicos como ácido p-cumárico, rutina, apigenina (componentes de la Inca Muña, como ya se indicó), ayudan a la mitigación de acrilamida.

Otro factor que pudo influenciar en los resultados es el contenido de azúcares reductores de la solución fenólica (EPPL) usado en el estudio del Sistema Modelo: para las concentraciones de 1.25, 5.0, 7.5 y 20.0 mg AGE/mL el contenido de azúcares reductores (expresados como glucosa) fueron 0.13, 0.47, 0.81 y 1.56 por ciento, respectivamente. Si se compara el porcentaje de azúcares reductores de la solución fenólica de ECCL (acápite 4.3.1, pruebas preliminares) y EPPL a concentración de 5 mg AGE/mL, el contenido de azúcares reductores disminuyó con la purificación (0.63 a 0.47 por ciento). Esta variación en el contenido de azúcares reductores en el extracto fenólico, podría haber influido en la formación de acrilamida: el ECCL pudo haber aportado azúcares a las rodajas de papa favoreciendo el incremento de acrilamida en los ensayos preliminares. Dai y Mumper (2010) y Zhu *et al.* (2009) indicaron que en los extractos crudos de plantas hay presencia de azúcares con lo cual se baja la concentración fenólica y, el proceso de purificación permite eliminar esos interferentes como azúcares; por ello, se observa en los resultados que el EPPL presenta menor porcentaje de azúcares reductores comparado con el ECCL.

Con respecto a los valores de HMF, en la Figura 13 (B) se observa un comportamiento contrario al obtenido para acrilamida: a medida que aumenta la concentración de compuestos fenólicos aumenta el contenido de HMF. Si bien a la concentración de 20 mg de AGE/g se nota una disminución respecto a la concentración previa de compuestos fenólicos, el valor obtenido sigue siendo mayor que el control. También se observa que, entre el Control y el tratamiento de menor concentración fenólica son no significativos, pero si lo comparamos con las demás concentraciones, si existe diferencia significativa (Anexo 4). Este comportamiento de incremento de HMF coincide con algunas investigaciones en las cuales usaron ácido ascórbico como antioxidante, concluyendo que este compuesto fue considerado como un precursor importante del furano, especialmente en Sistema Modelo (Locas y Yaylayan 2008, Fan 2005). Fan (2005) realizó Sistemas Modelos usando como sustratos azúcares (fructosa y glucosa) y ácidos orgánicos (ácido ascórbico y ácido málico), buffer fosfato de sodio 50 mM ajustando el valor de pH en 3 y 7, y autoclavado por 25 minutos, observándose el efecto significativo del pH y el uso de buffer sobre la formación de furanos. Por ejemplo, usando glucosa a pH 7, se obtuvo mayor cantidad de furanos comparado al pH 3; y, si se contrasta los tratamientos que usaron buffer frente a los que no utilizaron buffer, el primer grupo tuvieron significancia en la cuantificación de furanos. Es decir, la solución tampón y el pH 7 aumentaron la sensibilidad de los azúcares en respuesta del tratamiento

térmico. Respecto al efecto del pH puede ser una consecuencia de la protonación y la desprotonación de varios restos de los azúcares en la reacción de Maillard.

Otro motivo por el cual la cuantificación de HMF incrementó en este Sistema Modelo podría deberse al fenómeno de pirólisis de la glucosa: la acción de alta temperatura de reacción logra que la glucosa se transforme en un anillo abierto para luego deshidratarse y pasar a ciclación del 3-desoxiglucosona, siendo este precursor de HMF (Locas y Yaylayan 2008). Si el extracto fenólico contiene restos de glucosa que no reaccionaron con la asparagina, pueden reaccionar con otros componentes intermedios en la reacción de Maillard.

Así mismo, es posible que presencia de iones metálicos en el extracto o la presencia del catión Na^+ (buffer fosfato de sodio usado en el Sistema Modelo) haya influido en la formación de HMF, tal como lo señalan diversos estudios. Gökmen y Seyunva (2006) y Wen *et al.* (2015) señalaron que el catión Ca^{2+} es el mayor generador de HMF y mitigador de acrilamida, seguido de Mg^{2+} y Fe^{3+} ; el ion Na^+ no tiene efecto reductor de acrilamida, pero si ligero incremento de HMF. Wen *et al.* (2015) obtuvieron que la glucosa se descomponía más rápido en presencia de cationes durante el calentamiento; sin embargo, la velocidad de descomposición de la asparagina disminuía a medida que aumentaba la concentración del catión en la mezcla de reacción, esto podría atribuirse a la reacción de quelación entre cationes metálicos y asparaginas para inhibir la formación de la base de Schiff; si no hay asparagina disponible se evita la formación de acrilamida, pero si la glucosa se descompone, hay más probabilidad de generación de HMF. Por lo tanto, en el nuestro Sistema Modelo con EPPL, podría estar ocurriendo que el catión Na^+ está quelando a la asparagina, con lo cual no habría asparagina libre para la reacción, pero sí glucosa disponible, la cual bajo las condiciones de altas temperaturas podría deshidratarse dando pase a la formación de 3-deoxiosona, principal precursor del HMF.

Finalmente, de los resultados presentados en la Figura 13 se observa que el EPPL de Inca Muña reduce significativamente la acrilamida ($p < 0.05$) aplicando un modelo de asparagina-glucosa; sin embargo, aumenta la concentración de HMF (Anexo 3 y 4); obteniéndose la correlación de Pearson inversa más alta (-0.81) en el intervalo de 0 a 7.5 mg AGE/mL. En este sentido, y entendiéndose que se busca la mayor reducción de acrilamida, sin la formación o menor formación de HMF, se decidió trabajar en el sistema hojuelas de papas con concentraciones de compuestos fenólicos menores a 5 mg AGE/ml.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el Sistema Modelo, se consideró evaluar las concentraciones de 2 mg AGE/mL y 1 mg AGE/mL (0.2 y 0.1 por ciento, respectivamente) por tiempos de 15, 30, 60 y 120 s de inmersión de rodajas de papa a presión atmosférica y de vacío, y posterior fritura de éstas.

4.3.3. Evaluación de la fritura de papa con extracto purificado e inmersión a presión atmosférica

Después de haber evaluado el poder mitigador de acrilamida del extracto EPPL en un Sistema Modelo, se procedió a evaluar dicho extracto en papas fritas. Las rodajas de papa fresca fueron colocadas en inmersión a presión atmosférica por 15, 30, 60 y 120 s con solución fenólica de EPPL a concentraciones de 2 y 1 mg AGE/mL; después se frieron y se obtuvieron los siguientes resultados presentados en el Cuadro 3 y Figura 14.

Cuadro 3: Análisis de acrilamida y color en rodajas de papa frita con Inmersión de solución fenólica de Inca Muña a presión atmosférica

Tratamiento		Neotóxico	Color		Solución después de la Inmersión	
CFT (mg AGE/mL)	Tiempo inmersión (s)	Mitigación Acrilamida (%)	h*	ΔE	CFT* (mg AGE/mL solución)	Azúcares Reductores (%)
2	15	26.7 ± 2.7 ^b	89.9 ± 1.2 ^a	3.7 ± 0.3 ^a	2.38 ± 0.13 ^a	0.23 ± 0.00 ^b
	30	50.8 ± 6.0 ^a	88.5 ± 2.0 ^a	3.9 ± 0.6 ^a	1.97 ± 0.05 ^b	0.28 ± 0.00 ^a
	60	50.9 ± 7.4 ^a	90.3 ± 1.0 ^a	3.0 ± 0.9 ^a	2.01 ± 0.03 ^b	0.28 ± 0.00 ^a
	120	19.7 ± 9.8 ^b	89.6 ± 2.5 ^a	3.2 ± 2.0 ^a	2.08 ± 0.07 ^b	0.28 ± 0.01 ^a
1	15	20.9 ± 3.3 ^b	90.1 ± 1.7 ^a	2.7 ± 1.9 ^a	1.14 ± 0.04 ^c	0.11 ± 0.02 ^c
	30	51.0 ± 5.9 ^a	87.8 ± 5.3 ^a	4.1 ± 2.2 ^a	1.21 ± 0.06 ^c	0.11 ± 0.01 ^c
	60	22.3 ± 2.1 ^b	86.8 ± 1.2 ^a	2.6 ± 0.7 ^a	1.15 ± 0.03 ^c	0.11 ± 0.00 ^c
	120	15.1 ± 1.6 ^b	88.7 ± 1.3 ^a	5.9 ± 2.0 ^a	1.12 ± 0.03 ^c	0.12 ± 0.01 ^c

CFT: Compuestos fenólicos totales. Letras diferentes muestran una diferencia significativa a través de la prueba de Tukey. Promedio de tres repeticiones ± DS.

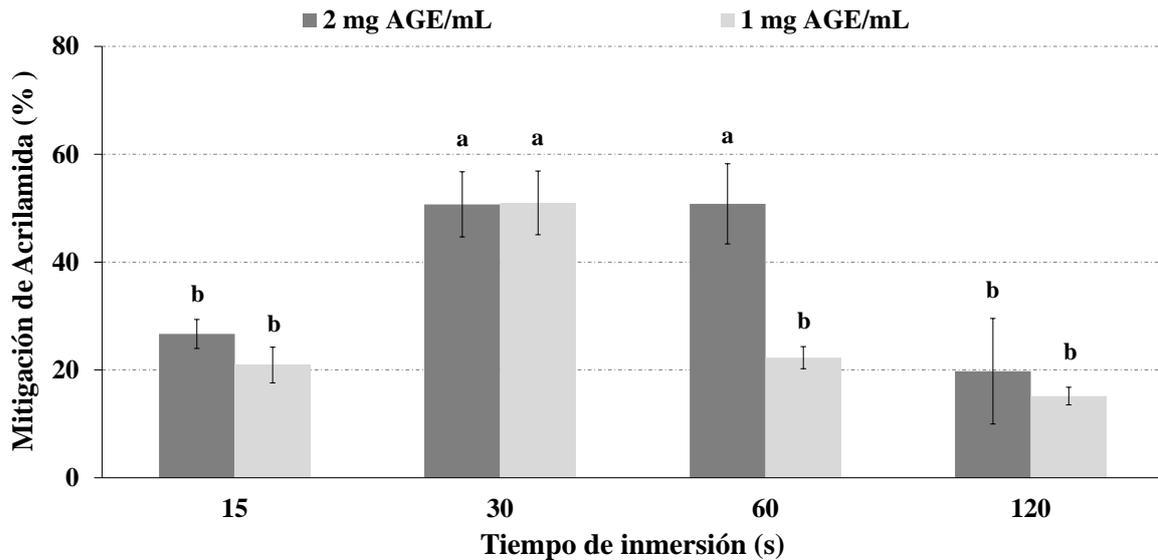


Figura 14. Mitigación de acrilamida en papas fritas utilizando compuestos fenólicos de Inca Muña (2 y 1 mg AGE/mL) mediante inmersión a presión atmosférica.

Letras diferentes muestran diferencia significativa a través de la prueba de Tukey. Promedio de tres repeticiones (n= 3).

En la Figura 14 se observa que la adición de EPPL mitigó la acrilamida en este sistema alimenticio: papas fritas tipo hojuelas. También se aprecia que mientras mayor es la concentración fenólica, aumenta la mitigación; sin embargo, no se requirió largo tiempo de inmersión para llegar al objetivo, ya que sólo se necesitó 30 y 60 s para obtener el más alto porcentaje de inhibición de acrilamida.

Esta reducción del neotóxico estaría vinculado a los compuestos fenólicos presentes en el EPPL. Los fenólicos podrían estar interactuando con los precursores de la acrilamida en dos de las reacciones más importantes para su formación, dentro de un proceso de fritura: la reacción de Maillard y la oxidación lipídica (Zhang *et al.* 2007; Ciesarová *et al.* 2008). En la reacción de Maillard se propone una combinación de mecanismos: un fragmento del azúcar reductor reacciona con el sistema fenólico, evitando que el azúcar se una a la asparagina (Ciesarová *et al.* 2008); la eliminación de radicales y efecto de captura de carbonilos reactivos (Piedrahita *et al.* 2015).

Respecto a la oxidación lipídica, se produce la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados que pueden producir acroleína (Mohammad, 2014) la cual reacciona mediante oxidación generando ácido acrílico o un radical acrílico que induce a la formación de acrilamida en

presencia de una fuente de nitrógeno (Zhang y Zhang 2007); sin embargo, la presencia de compuestos fenólicos en el EPPL estaría inhibiendo la oxidación de ácidos grasos poliinsaturados y por ende bloqueando la formación de acroleína tal como lo señala Babu *et al.* (2016). Durante el proceso de fritura, en la etapa de calentamiento de la superficie del alimento el vapor de agua es liberado del alimento (Montes *et al.*, 2016) ingresando el aceite en ebullición en la matriz alimentaria y entra en contacto con el compuesto fenólico, pero debido a su mecanismo de atrapar radicales, brindará cierta estabilidad oxidativa al aceite, pudiéndose convertir en otro mecanismo para disminuir la formación de acrilamida en las papas fritas tipo hojuelas.

Al respecto, en la Figura 14 se aprecia que con la concentración de 2 mg AGE/mL y los tiempos de 30 y 60 s se obtuvieron la mayor mitigación de acrilamida con 50.8 y 50.9 por ciento. Del mismo modo, para la concentración de 1 mg AGE/mL con el tiempo de 30 s se obtuvo 51.0 por ciento de mitigación. Los tres tratamientos (30 s, 1 y 2 mg/mL; 30 s 1 mg/mL) no presentan diferencia significativa entre ellos, mientras que los otros tratamientos son de menor poder mitigador (entre 15.1 y 26.7 por ciento) y sin diferencia significativa (Anexo 5). A pesar que estadísticamente no hay diferencia significativa a tiempo de 30 s entre las dos concentraciones, se observa que la concentración de 2 mg AGE/mL reduce más acrilamida que 1 mg AGE/mL. Esto puede deberse a que, a más concentración fenólica, mayor presencia de compuestos fenólicos (principalmente derivados del ácido cafeico, p -cumárico, eriodictiol, rutina, apigenina y ácido rosmarínico) en la solución de inmersión donde las papas puedan tomar más de esos fenólicos por difusión o absorción; por lo tanto, durante la fritura exista más zonas de acción del fenólico sobre la mitigación de acrilamida en las papas fritas.

A pesar que diversos estudios han demostrado que diferentes concentraciones de un mismo antioxidante presentan diferentes efectos sobre la acrilamida, un estudio con resultados similares a lo trabajado con extracto de Inca Muña fue el de Cheng *et al.* (2010) quienes indicaron que entre 0.01 y 0.05 por ciento de concentración fenólica de manzana, el tratamiento con 0.05 por ciento logró menor formación de acrilamida (reducción de 30 por ciento) en papas fritas. Por otro lado, Zhang *et al.* (2007) estudiaron el efecto del extracto de hojas de bambú en la mitigación de acrilamida en papas fritas tipo hojuelas obteniendo como tratamiento óptimo 0.1 por ciento de fenólico con 60 s de inmersión seguido de 30 s con 35 y 15 por ciento de reducción de acrilamida, respectivamente. El extracto de bambú es rico

en polifenoles, especialmente de flavonoides como quercitina, rutina y luteolina (Lu *et al.* 2005) los cuales confieren un efecto protector en el proceso de fritura reduciendo de esta manera la formación de acrilamida. Estos resultados son similares al estudio con EPPL de Inca Muña, esto puede deberse a que este extracto también es rico en flavonoides teniendo en común a la rutina, así podría estar ejerciendo la misma función protectora en el producto final.

Por otra parte, el color de las rodajas de papa frita es el primer rasgo de calidad evaluado por los consumidores y es fundamental en la aceptación del producto. Este factor se debe a reacciones químicas como la caramelización, reacciones no enzimáticas (reacción de Maillard), así como de los grupos aldehído de las moléculas de triglicéridos y derivados de la degradación de los lípidos quienes reaccionan con los grupos amino formando compuestos de color (Wani *et al.* 2017). Los valores más característicos que se ha tomado como referencia para observar algún cambio de color en el producto fueron el ángulo matiz (h^* , de rojo 0° a amarillo 90°) y la diferencia de color total (ΔE , comparación numérica de una muestra con el control). Las fotografías de las muestras de papas fritas tipo hojuelas con inmersión a presión atmosférica se presentan en las Figura 15.

Por el lado, los valores de h^* oscilan entre 86.8 y 90.3, similar a lo reportado por Lopez *et al.* (2019) en papa frita con previa inmersión a presión atmosférica en té verde, quienes obtuvieron valores de h^* entre 81 y 84. En paralelo, se observa que las muestras de inmersión en solución fenólica a 2 mg AGE/mL tuvieron valores de h^* ligeramente mayor a los que se encontró con 1 mg AGE/mL percibiéndose el color de las hojuelas fritas como un naranja más intenso. Sin embargo, no existe una relación o tendencia con los tratamientos de mayor mitigación de acrilamida y estadísticamente no se evidencia diferencia significativa entre todos los tratamientos (Anexo 6). Esto puede deberse a que la solución fenólica tiene un color particular (naranja-marrón) y al sumergir las rodajas en dicha solución, les confiere un color naranja a las rodajas después de la inmersión y un dorado homogéneo después de la fritura. Es decir, el color de las papas fritas tipo hojuelas está influenciado más por la difusión de pigmentos que le brinda la solución de inmersión con EPPL que por las mismas melanoidinas producidas en la Reacción de Maillard, y a la par el EPPL ejerce su función de inhibición del neotóxico.

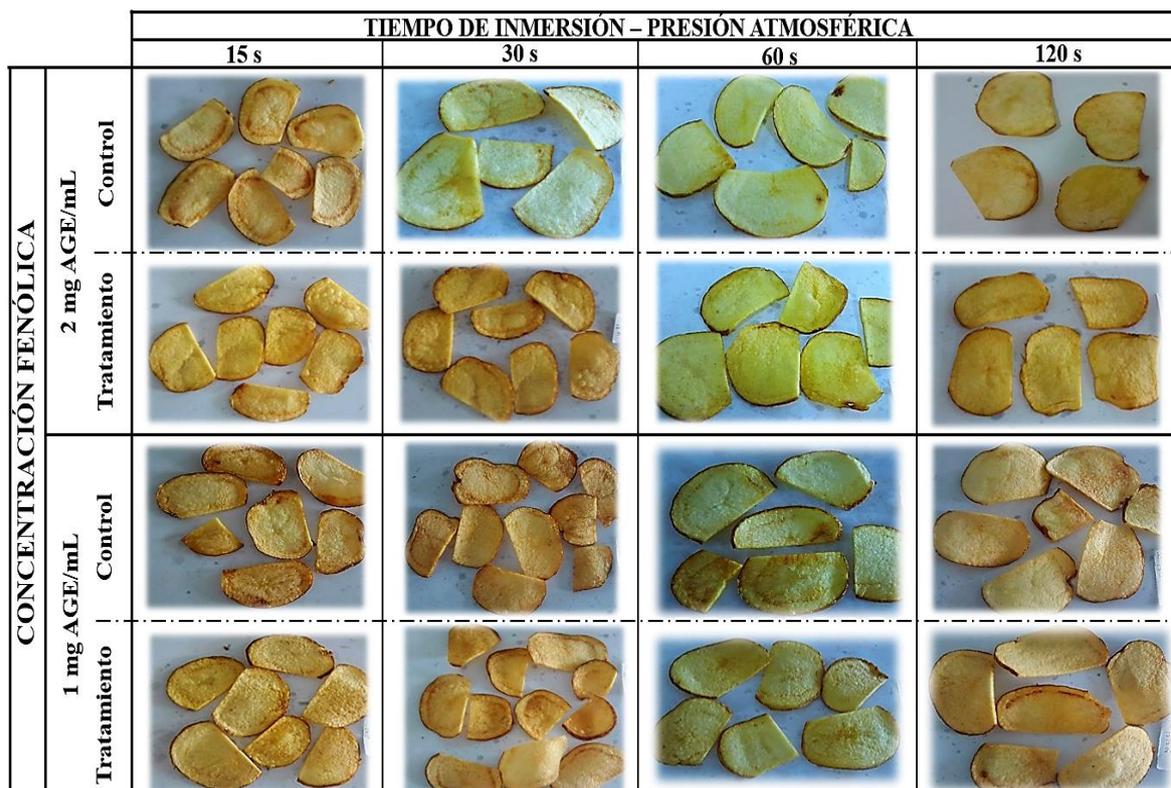


Figura 15. Muestras de papa frita tipo hojuelas con inmersión en solución fenólica de Inca Muña a presión atmosférica.

Respecto al valor ΔE presenta valores entre 2.6 y 5.9, indicando que mientras más alto es el valor ΔE mayor es la diferencia de color respecto al tratamiento control. Estos resultados al igual que el valor del ángulo hue están influenciados por el color del EPPL. A pesar que los tratamientos con inmersión de 2 mg AGE/mL presentan valores más homogéneos y relativamente mayores comparados a la concentración de 1 mg AGE/mL, estadísticamente no existe diferencia significativa entre ambas concentraciones y tiempos (Anexo 7). Si observamos la Figura 15, sensorialmente no se aprecia diferencia de color entre los tratamientos, coincidiendo con lo que obtenemos en la parte estadística. Los valores de ΔE obtenidos corresponden a diferencias bajas ($\Delta E < 3.5$), medias ($\Delta E = 3.5 - 5$) y muy altas ($\Delta E > 5$) tal como lo clasifica Sobol *et al.* (2020) quienes reportaron valores de ΔE entre 1.72 y 9.35 en papa frita tipo francesa aplicando la operación de escaldado previo a la fritura.

También en el Cuadro 3 observamos que el contenido de compuestos fenólicos en la solución usada después de inmersión a presión atmosférica fue menor en los tratamientos con mayor mitigación de acrilamida (30 y 60 s a concentración de 2 mg AGE/mL) lo cual indica que las rodajas de papa absorbieron más fenólicos en esos tiempos y por ende se relaciona con

la mayor inhibición de acrilamida. Esto podría estar relacionado con el cambio de las concentraciones de componentes propio de la matriz alimentaria (papa), gracias a que el proceso de inmersión conduce a una mayor lixiviación azúcares, fenólicos, etc de la papa a la solución y absorción de otros compuestos propios de la solución (como fenólicos) hacia a la papa por transferencia de masa. Entonces, en el tiempo de 30 y 60 s puede que haya sido el tiempo óptimo de absorción de fenólicos a comparación de 120 s en el cual pudo haber habido mayor transferencia de masa de la papa a la solución fenólica. Sin embargo, estadísticamente existe no existe diferencia significativa entre los tratamientos a una misma concentración (Anexo 8). En paralelo, si observamos los azúcares (expresado en porcentaje de glucosa) de la solución de inmersión, no se aprecia cambio entre un tiempo y otro dentro de una misma concentración, coincidiendo con la parte estadística que indica que no hay diferencia significativa entre tratamientos de una misma concentración (Anexo 9). Este comportamiento puede deberse a que en la solución fenólica es mayor la cantidad de fenólicos que de glucosa y, por parte de las rodajas de papa, su aporte es tan pequeño para la solución que por ello no se aprecia grandes cambios entre cada tratamiento.

Un aspecto importante en la mitigación de acrilamida en papas fritas es saber cuánto de este neotóxico es aceptado en el producto estudiado. De acuerdo a la normativa de la Unión Europea (UE) 2017/2158 dado por la AESAN (2018) indica como nivel máximo permitido para frita tipo hojuelas o “chips” la cantidad de 750 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Entonces, se podría indicar que el tratamiento de 30 s a concentración de 2 mg AGE/mL estarían cumpliendo esta normativa, con valores de 738.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

4.3.4. Evaluación de la fritura de papa con extracto purificado e inmersión a presión de vacío

Al igual que en el acápite 4.3.3, las rodajas de papa fresca fueron sumergidas en solución fenólica de EPPL a concentraciones de 2 y 1 mg AGE/mL pero esta vez la inmersión fue realizada a presión de vacío; después se frieron y se obtuvieron los resultados presentados en el Cuadro 4 y Figura 16.

Cuadro 4: Análisis de acrilamida y color en rodajas de papa frita con inmersión de solución fenólica de Inca Muña a presión de vacío

Tratamiento		Neotóxico	Color		Solución después de la Inmersión	
CFT (mg AGE/mL)	Tiempo inmersión (s)	Mitigación Acrilamida (%)	h*	ΔE	CFT* (mg AGE/mL solución)	Azúcares Reductores (%)
2	15	59.3 ± 3.8 ^a	78.8 ± 3.6 ^b	7.6 ± 1.2 ^a	2.24 ± 0.06 ^a	0.17 ± 0.04 ^{abc}
	30	19.8 ± 0.8 ^d	84.1 ± 0.9 ^a	4.8 ± 0.9 ^a	2.19 ± 0.04 ^a	0.17 ± 0.04 ^{ab}
	60	15.6 ± 3.1 ^d	84.1 ± 0.5 ^a	5.8 ± 0.9 ^a	2.29 ± 0.12 ^a	0.20 ± 0.00 ^a
	120	40.6 ± 5.5 ^b	84.5 ± 2.0 ^a	4.8 ± 0.9 ^a	2.27 ± 0.01 ^a	0.20 ± 0.00 ^a
1	15	29.4 ± 2.3 ^c	81.1 ± 0.9 ^{ab}	5.9 ± 1.1 ^a	1.22 ± 0.06 ^b	0.13 ± 0.00 ^{bc}
	30	28.4 ± 2.5 ^c	82.6 ± 1.4 ^{ab}	5.3 ± 1.2 ^a	1.18 ± 0.07 ^b	0.11 ± 0.01 ^{bc}
	60	35.4 ± 0.5 ^{bc}	81.1 ± 0.5 ^{ab}	7.2 ± 0.8 ^a	1.19 ± 0.04 ^b	0.12 ± 0.01 ^c
	120	67.4 ± 1.0 ^a	85.4 ± 0.9 ^a	5.2 ± 1.7 ^a	1.10 ± 0.00 ^b	0.12 ± 0.01 ^{bc}

*CFT: Compuestos fenólicos totales. Letras diferentes muestran una diferencia significativa a través de la prueba de Tukey. Promedio de tres repeticiones ± DS.

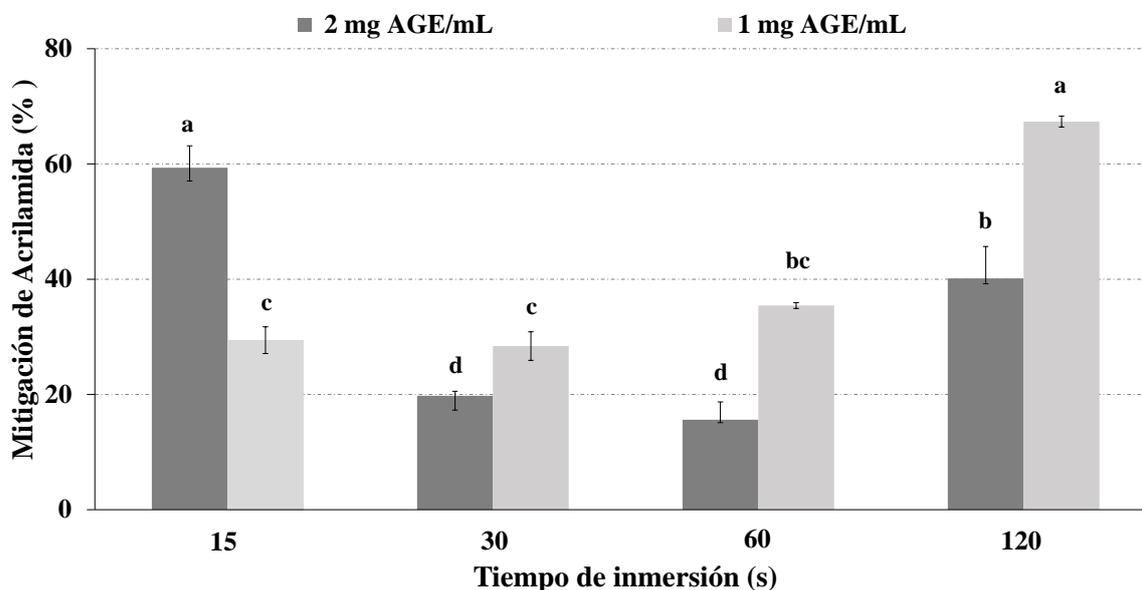


Figura 16. Mitigación de acrilamida en papas fritas utilizando compuestos fenólicos de Inca Muña (2 mg AGE/mL y 1 mg AGE/mL) mediante inmersión a presión de vacío.

Letras diferentes muestran diferencia significativa a través de la prueba de Tukey. Promedio de tres repeticiones (n= 3)

En relación a los tratamientos de inmersión a presión de vacío, se verifica el efecto mitigador del EPPL sobre la acrilamida; sin embargo, la influencia de los compuestos fenólicos fue diferente comparado a los tratamientos de inmersión a presión atmosférica. Aquellos tratamientos de mayor mitigación de acrilamida fueron el tiempo de 120 s a 1 mg AGE/mL seguido del tiempo de 15 s a 2 mg AGE/mL, no observándose diferencias significativas entre ambos tratamientos ($p < 0.05$), pero si comparamos en ambas concentraciones a 120 s, si existe diferencia significativa (Anexo 10). Como ya se mencionó en el acápite 4.3.3, los fenólicos del EPPL podrían estar interactuando con los precursores de la acrilamida mediante la Reacción de Maillard o en la oxidación lipídica (Zhang *et al.* 2007; Ciesarová *et al.* 2008) y de esa manera inhibirían al neotóxico.

Respecto a la concentración, se observa que a 1 mg AGE/mL hubo más mitigación de acrilamida comparado al de 2 mg AGE/mL (excepto en el tiempo de 15 s). Corrêa *et al.* (2009) mencionaron que en el proceso de osmodeshidratación a vacío, las soluciones concentradas pueden promover la formación de una capa densa de solutos en la superficie de los alimentos actuando como barrera contra la penetración de los solutos en el alimento y hace la transferencia de masa más difícil. Betalleluz *et al.* (2010) indicaron que soluciones más concentradas limitan la penetración del líquido por incrementar su viscosidad, aumentando la rigidez de la capa celular externa debido al efecto del endurecimiento y se favorece la salida de agua desde el alimento por una mayor presión osmótica. Entonces, este comportamiento puede estar sucediendo en los tratamientos con Inca Muña: con la menor concentración de EPPL (1 mg AGE/mL) el ingreso de la solución fenólica a la matriz alimentaria (papa) fue más fácil, y en el mayor tiempo de inmersión (120 s) retuvo más cantidad de compuestos fenólicos desplazando así al oxígeno dentro de los tejidos disminuyendo así la oxidación lipídica en el producto; por ende, mayor mitigación de acrilamida como se presenta en la Figura 16. Sin embargo, se observa que el tiempo de 15 s a 2 mg AGE/mL es el segundo tratamiento con más mitigación de acrilamida a pesar de ser el menor tiempo de inmersión; probablemente se deba a que, gracias a este corto tiempo de inmersión no permitió que se forme una barrera en la superficie como indica Betalleluz *et al.* (2010) cuando son soluciones más concentradas; por el contrario, logró ingresar la solución fenólica y al ser más concentración indica más compuestos fenólicos, observándose como mayor mitigación de acrilamida.

También se observa que el tratamiento de mayor mitigación de acrilamida fue el de inmersión con vacío de 120 s. Zhang *et al.* (2007) reportaron que tiempos prolongados de inmersión (hasta 300 s) en extracto liofilizado de bambú al 0.01 por ciento mitigaba la formación de acrilamida en papa frita; lo que estaría acorde a los resultados obtenidos con el uso de presión a vacío.

Moreira y Almohaimed (2018) evaluaron la impregnación de fenólicos de betarraga en rodajas de papa a diferentes tiempos y tipos de presión obteniendo que las rodajas de papa impregnadas al vacío (600 mm Hg ó 0.80 bar) con tiempo de relajación de 10 min tuvieron el incremento de fenólicos más altos y, cuanto mayor es la concentración de la solución de impregnación (siete por ciento), menor es la impregnación lo que hace que el agua de la papa se difunda debido a la diferencia de concentraciones entre el agua de la papa y la solución. A pesar que no analizaron acrilamida en el producto final, el comportamiento de disminuir los fenólicos de betarraga en la papa frita cuanto más incrementa la solución fenólica de inmersión a presión de vacío, podría explicar lo que ocurre con los tratamientos usando EPPL de Inca Muña.

Por el lado de la variable color, en la Figura 17 se presentan las rodajas de papa frita las cuales se les aplicó inmersión a presión de vacío previo a la fritura.

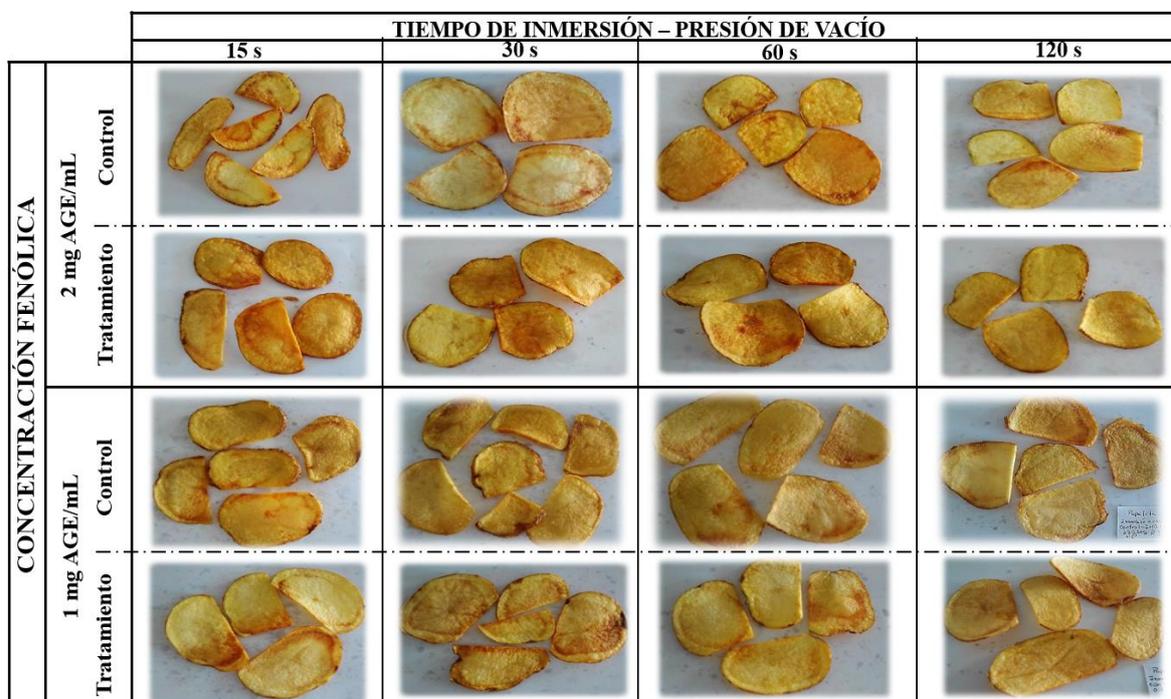


Figura 17. Muestras de papa frita tipo hojuelas con inmersión en solución fenólica de Inca Muña a presión de vacío.

Como se ha mencionado, el color es un atributo importante que afecta a la calidad de las papas fritas como producto final y en la aceptación de los consumidores. El color de este producto suele ser un dorado suave; sin embargo, esto puede cambiar con el tipo de tratamiento previo que recibieron las rodajas de papa, así como temperatura y tiempo de fritura. En este estudio podemos observar que el EPPL juega un papel importante en este parámetro y, comparado con los tratamientos de inmersión atmosférica, en estas muestras a las que se le aplicó inmersión a vacío, las rodajas de papa frita se aprecian un color naranja-dorado más marcado.

Los valores de h^* oscila entre 78.8 y 85.4. Al igual que los tratamientos con inmersión a presión atmosférica, el color de las hojuelas fritas puede estar influenciado por color de la solución fenólica y la aplicación de presión de vacío durante la inmersión, ayuda a que la solución ingrese más fácil a la matriz de la papa confiriéndole más color. Entonces, las hojuelas de papa frita, al ser más doradas, se refleja en valores bajos de h^* (llegado hasta 78.8) dando un matiz más naranja comparado a los tratamientos de inmersión a presión atmosférica, como se observa en las Figura 17. Por otro lado, se contempla diferencia significativa entre el tratamiento de 15 s a 2 mg AGE/mL y 120 s a 1 mg AGE/mL, pero no entre los tratamientos de 2 mg AGE/mL a 30, 60 y 120 s (Anexo 11).

Respecto al valor ΔE , se observa que los valores son mayores a los tratamientos con inmersión de presión atmosférica, coincidiendo esta tendencia con los datos de h^* . Los valores de ΔE oscilan entre 4.8 y 7.6. Estos resultados al igual que el valor de h^* están influenciados por el color del EPPL y la aplicación de presión de vacío durante la inmersión. Observamos que el valor más alto de ΔE coincide con el valor más bajo de h^* con lo cual nos indica que las rodajas de papa fueron más doradas con matiz naranja comparado con los otros tratamientos. Sin embargo, estadísticamente no se evidencia diferencia significativa entre todas las muestras (Anexo 12), coincidiendo con los tratamientos de inmersión a presión atmosférica.

Por otra parte, en el Cuadro 5 se aprecia la cuantificación de compuestos fenólicos en la solución de inmersión. Se observa que la menor concentración de fenólicos residual fue en el tratamiento de 1 mg AGE/mL a 120 s, relacionándose con el tratamiento de más inhibición de acrilamida lo cual indica que las rodajas de papa absorbieron más fenólicos en el tratamiento de mayor tiempo. Como ya se explicó anteriormente, el uso de presión a vacío

permite el ingreso de la solución fenólica en la matriz del alimento y a esto sumado que ocurre en el sistema una transferencia de masa, ambos mecanismos ayudaron a que las rodajas de papa ganaran más fenólicos; por ende, en la solución después de la inmersión a presión de vacío se observa como una disminución de los mismos. Sin embargo, estadísticamente, hay diferencia significativa entre concentraciones mas no entre tratamientos de un mismo grupo (Anexo 13). En el caso de la concentración de azúcares reductores (Anexo 14) no hubo mucha variación entre los diferentes tratamientos de una misma concentración, pero estadísticamente si hay diferencia entre tratamientos de diferente concentración fenólica; por tanto, el proceso de inmersión ha conducido a una mayor lixiviación de un precursor importante de acrilamida: la glucosa, siendo más notorio en los tratamientos de inmersión a presión atmosférica. Entonces, en las rodajas de papa al haber más compuestos fenólicos y menos azúcares reductores, la probabilidad de formación de acrilamida es menor.

Por otro lado, tal como se mencionó en el acápite 4.3.4, es importante saber si la mitigación de acrilamida en las papas fritas del estudio ha logrado cumplir con la normativa de la Unión Europea (UE) 2017/2158 dado por la AESAN (2018). Para el caso de los tratamientos de rodajas de papa con inmersión a vacío, el tratamiento de 120 s a concentración de 2 mg AGE/mL contiene 654.3 µg/kg, cumpliendo con la norma.

4.3.5. Análisis de rodajas de papa frita - mejores tratamientos

Se realizó un análisis del contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de las papas fritas obtenidas con los mejores s tratamientos, aquellos con los que se obtuvo mayor inhibición de acrilamida. Los resultados obtenidos se reportan en el en el Cuadro 5.

Como se puede apreciar en el Cuadro 5, las rodajas de papa frita que pasaron por inmersión en solución fenólica previo a la fritura presentaron incremento de fenólicos y capacidad antioxidante comparado con sus respectivos controles. Estos resultados tienen similitud a lo obtenido respecto al porcentaje de mitigación de acrilamida: los tratamientos con más capacidad antioxidante coinciden con aquellos que mitigaron la formación de acrilamida, lo cual indica que el efecto protector de la Inca Muña sobre las papas fritas. Tal como se mencionó anteriormente en el acápite 4.3.2, el extracto de esta planta es caracterizada por tener compuestos fenólicos principalmente derivados del ácido cafeico, ρ - cumárico, eriodictiol, rutina, apigenina y ácido rosmarínico (Mohanty *et al.* 2017, Serrano *et al.* 2016,

Yapachura 2010) de los cuales se ha demostrado el efecto mitigador de acrilamida en Sistemas Modelos.

Cuadro 5: Incremento en el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de papa frita, previa inmersión en solución de compuestos fenólica de Inca Muña

Presión	Concentración fenólica (mg AGE/mL)	Tiempo de inmersión (s)	Δ CFT (%)	Δ CA (%)	*Mitigación Acrilamida (%)
Vacío	1	120	80.0 \pm 12.2 ^a	36.6 \pm 7.7 ^a	67.4 \pm 1.0
Vacío	2	15	55.7 \pm 5.3 ^b	17.5 \pm 3.9 ^b	59.3 \pm 3.8
Atmosférica	2	30	37.6 \pm 7.2 ^b	15.9 \pm 3.3 ^{bc}	50.8 \pm 6.0
Atmosférica	2	60	6.5 \pm 2.4 ^c	4.2 \pm 0.8 ^c	50.9 \pm 7.4

*Tomado del Cuadro 3. CFT: Compuestos fenólicos totales; CA: Capacidad antioxidante. Δ CFT: diferencia de compuestos fenólicos totales entre tratamiento y control en papas fritas; Δ CA: diferencia de capacidad antioxidante entre tratamiento y control en papas fritas. Promedio de tres repeticiones \pm DS

Además, los tratamientos que pasaron por inmersión a presión de vacío incrementaron su capacidad antioxidante en mayor proporción, comparado con los de impregnación a presión atmosférica; por ello, se observa diferencia significativa entre los tratamientos de inmersión 120 s a presión vacío e inmersión 30 s de presión atmosférica (Anexo 15 y Anexo 16). Esto coincide con diversas investigaciones: Tiwari *et al.* (2018) estudiaron el efecto de la impregnación a vacío de una solución de calcio en papa (previo a la fritura) llegando a incrementar de 154.65 mg Ca a 700 mg Ca/100 g. También Lopez *et al.* (2019) estudiaron el efecto de la impregnación de fenólicos de té verde en papa llegando a la conclusión que la presión a vacío ayuda a incrementar los CFT en la papa frita.

V. CONCLUSIONES

- El extracto de Inca Muña es un antioxidante natural y ha demostrado ser una alternativa para bloquear la formación de acrilamida durante la fritura de papas.
- Las hojas de Inca Muña son fuente de compuestos fenólicos presentando 91.0 mg AGE/g (bs) de fenólicos totales y una capacidad antioxidante de 1,003.7 μ mol TE/g (bs).
- El extracto parcialmente purificado liofilizado (EPPL) en un sistema modelo Asparagina-Glucosa disminuyó mitiga la formación de acrilamida; sin embargo, en el sistema modelo, se observó aumento en el contenido de 5-hidroximetilfurfural (HMF).
- La aplicación del EPPL como solución de inmersión en hojuelas de papa previo a la fritura de éstas permite mitigar la formación de acrilamida. El nivel de mitigación depende de la forma de aplicación (inmersión a presión atmosférica o inmersión a presión de vacío), de la concentración de compuestos fenólicos y del tiempo de inmersión.
- Los tratamientos que dieron mejores resultados en la mitigación de acrilamida, que permiten obtener un contenido de acrilamida menor al límite permitido en normas internacionales (UE 2017/2158) fueron la impregnación al vacío en solución de EPPL con 2 mg AGE/mL durante 120 s e inmersión atmosférica con 2 mg AGE/mL por 30 s, con contenidos de 654.3 y 738.0 μ g Acrilamida/kg de hojuelas fritas, respectivamente.
- Los tratamientos de impregnación con polifenoles de Inca muña también permiten incrementar el contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante en la rodaja de papa. Mediante la impregnación al vacío (1 mg AGE/mL por 120 s) se incrementa el

contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante en 80.0 y 36.6 por ciento, respectivamente. Mediante la impregnación a presión atmosférica (2 mg AGE/mL por 120 s) se incrementa el contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante en 37.6 y 15.9 por ciento, respectivamente.

VI. RECOMENDACIONES

- Realizar una evaluación sensorial de los productos obtenidos con los mejores tratamientos. Evaluar la mitigación de acrilamida haciendo uso de la solución fenólica de Inca Muña en un proceso de fritura a vacío.
- Evaluar la mitigación de acrilamida con otras variedades de papa (por ejemplo: papas nativas) y el uso de solución fenólica de Inca Muña.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abuashwashi, M. 2018. Estudio analítico y de la actividad antioxidante de "*Rosmarinus officinalis*" L. de la Península Ibérica. Tesis doctoral. Madrid, España, Universidad Complutense de Madrid.

AESAN (Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición). 2019. Recomendación (UE) 2019/1888 de la comisión de 7 de noviembre de 2019 relativa al control de la presencia de acrilamida en determinados alimentos. *Diario Oficial de la Unión Europea*. Disponible en <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:32019H1888&qid=1573477019285&from=ES>

AESAN (Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición). 2017. Guidance on the implementation of commission regulation (EU) 2017/2158 of 20 november 2017 establishing mitigation measures and benchmark levels for the reduction of the presence of acrylamide in food. *Diario Oficial de la Unión Europea*. Disponible en http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/web/noticias_y_actualizaciones/noticias/2017/acrilamida_reducir_alimentos.htm

Agraria.pe (Agencia Agraria de Noticias). 2020. Perú podría ser un gran productor de papas fritas en el mundo. Disponible en <https://agraria.pe/noticias/peru-podria-ser-un-gran-productor-de-papas-fritas-en-el-mund-20747>

Agrodataperu. 2019. Papa Snacks Perú Exportación noviembre 2020. Disponible en <https://www.agrodataperu.com/2020/12/papa-snacks-peru-excportacion-2020-noviembre.html>

Aherne, SA; O'brien, NM. 2002. Dietary Flavonols: Chemistry, Food Content, and Metabolism. *Nutrition* 18:75– 81.

Arapitsas, P. 2012. Hydrolyzable tannin analysis in food. *Food Chemistry* 135:1708–1717. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.05.0

Arias, A., Jhoncon, J., Martínez, J., Stashenko, E. 2014. Estudio de los componentes del aceite esencial y extracto de *Clinopodium bolivianum* (inca muña) obtenidos por hidrodestilación y extracción con CO₂ super crítico. Colombia. Disponible en https://www.researchgate.net/profile/Anderson_Arias/publication/284365330_Estudio_de_los_componentes_del_aceite_esencial_y_extracto_de_Clinopodium_bolivianum_Inca_Mu%C3%B1a_obtenidos_por_hidrodestilacion_y_extraccion_con_CO2_supercritico/links/565231a108ae1ef9

AOAC (Association of Official Analytical Chemists International). 1990. Official Methods of Analysis of AOAC International. 16ed. Washington DC, USA.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists International). 2007. Official Methods of Analysis of AOAC International. 18ed. Washington DC, USA.

Arribas, L. 2013. Análisis, inhibición e ingesta de nuevos contaminantes químicos de procesado en alimentos. Tesis doctoral. Madrid, España, Universidad Complutense de Madrid. Disponible en <http://eprints.ucm.es/22281/1/T34594.pdf>.

Atanacković, M; Petrović, A; Jović, S; Bukarica, L; Bursać, M; Cvejić, J. 2012. Influence of winemaking techniques on the resveratrol content, total phenolic content and antioxidant potential of red wines. *Food Chemistry* 131(2):513-518. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.09.015

Babu, P; Aafrin, V; Archana, G; Sabina, K; Sudharsan, M; Sivarajan, M; Sukumar, M. 2016. Effects of Polyphenoles from *Caralluma Fimbriata* on Acrylamide Formation and Lipid Oxidation –An Integrated Approach of Nutritional Quality and Degradation of Fried Food. *International Journal of Food Properties*: 1532-2386. DOI: 10.1080/10942912.2016.1210161

Badui, S. 2006. Química de los alimentos (6ta ed.): 61 - 71. Pearson Education: México.

Balasundram, N; Sundram, K; Samman, S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industria lby-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1): 191-203. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.07.042

Baldeón, E. 2015. Desarrollo de la lengua electrónica voltamétrica para la determinación de la capacidad antioxidante total de extractos de plantas y frutas peruanas. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia, Valencia. Disponible en <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/54116/BALDEON%20-%20Desarrollo%20de%20la%20t%E9cnica%20de%20lengua%20electr%F3nica%20volta m%E9trica%20para%20la%20determinaci%F3n%20de%20la....pdf?sequence=8>

Bassama, J; Brat, P; Bohoun, P; Boulanger, R; Günata, Z. 2010. Study of acrylamide mitigation in model system: Effect of pure phenolic compounds. *Food Chemistry* 123:558-562. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.04.071

Bayçin, D; Altıok, E; Ülkü, S; Bayraktar O. 2007. Adsorption of Olive Leaf (*Olea europaea* L.) Antioxidants on Silk Fibroin. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 55:1227-1236.

Becalski, A; Benjamin P.-Y. Lau; Lewis, D; Seaman, S. 2003. Acrylamide in Foods: Occurrence, Sources, and Modeling. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 51: 802–808.

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: 1-14. DOI: 10.1080/19393210.2017.1351498

Betalleluz, I; Betoret, N; Campos, D; Fito, P. 2010. Prebiotic fortification of apple by vacuum impregnation. *International Conference on Food Innovation Food Innova*. Valencia, España. 1-6.

Capuano, E; Fogliano, V. 2011. Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies. *Journal of Food Science and Technology* 44(4):793-810. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.11.002>.

Castañeda, A; Pacheco, MI; Páez, Me; Rodríguez, Ja; Galán, Ca. 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry* 113: 859–871. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.09.001

Cheng, J; Chen, X; Zhao, S; Zhang, Y. 2015. Antioxidant-capacity-based models for the prediction of acrylamide reduction by flavonoids. *Food Chemistry* 168: 90-99. DOI:10.1016/j.foodchem.2014.07.008

Cheng, K; Shi, J; Ou, S; 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. DOI: 10.1021/jf902529v

Cheng, K; Zeng, X; Tang, Ys; Wu, Jj; Liu, Z; Sze, Kh; Chu, I; Chen, F; Wang, M. 2009. Inhibitory Mechanism of Naringenin against Carcinogenic Acrylamide Formation and Nonenzymatic Browning in Maillard Model Reactions. *Chemical Research in Toxicology* 22: 1483–1489. DOI: 10.1021/tx9001644

Chirinos, R; Huaman, M; Betalleluz, I; Pedreschi, R; Campos, D. 2011. Characterisation of phenolic compounds of Inca muña (*Clinopodium bolivianum*) leaves and the feasibility of their application to improve the oxidative stability of soybean oil during frying. *Food Chemistry* 128(1):711-716. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.03.093

Ciesarová, Z; Suhaj, M; Horváthová, J. 2008. Correlation between acrylamide contents and antioxidant capacities of spice extracts in a model potato matrix. *Journal of Food and Nutrition Research* 47(1): 1-5.

Corrêa, J.; Pereira, L.; Vieira, G.; Hubinger, M. 2009. Mass transfer kinetics of pulsed vacuum osmotic dehydration of guavas. *Journal of Food Engineering*. 96: 498-504.

Del Rio, D; Rodriguez, A; Spencer, J; Tognolini, M; Borges, G; Crozier, A. 2013. Dietary (Poly)phenolics in Human Health: Structures, Bioavailability, and Evidence of Protective Effects Against Chronic Diseases. *Antioxidants & Redox Signaling* 18(14):1818–1892. DOI: 10.1089/ars.2012.4581

Fan, X. 2005. Formation of furan from carbohydrates and ascorbic acid following exposure to ionizing radiation and thermal processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(20):7826-7831. Disponible en <https://doi.org/10.1021/jf051135x>.

FDA (Food and Drug Administration). Survey Data on Acrylamide in Food: Individual Food Products - Data through November 15, 2004. Disponible en <https://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/ChemicalContaminants/ucm053549.htm#u1004>

Fito, P; Chiralt, A; Betoret, N; Gras, M; Cháfer, M; Martínez –Monzó, J; Andrés, A; Vidal, D. 2001. Vacuum impregnation and osmotic dehydration in matrix engineering. Application in functional fresh food development. *Journal of Food Engineering*. 49: 175-183.

Francik, S; Francik, R; Sadowska, U; Bystrowska, B; Zawislak, A; Knapczyk, A; Nzeyimana, A. 2020. Identification of Phenolic Compounds and Determination of Antioxidant Activity in Extracts and Infusions of Salvia Leaves. *Materials* 13 (5811): 1-15. DOI: [doi:10.3390/ma13245811](https://doi.org/10.3390/ma13245811)

Friedman, M. 2003. Chemistry, biochemistry and safety of acrylamide. A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 4504-4528.

GBIF (Global Biodiversity Information Facility). *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kuntze. Disponible en <https://www.gbif.org/es/species/3888090>

Gökmen, V. 2016. Acrylamide in Food: Analysis, content and potential health effects (en línea). *Elsevier*. Turquía. 552p. Disponible en <https://www.elsevier.com/books/acrylamide-in-food/gokmen/978-0-12-802832-2>

Gökmen, V; Şenyuva, H. 2006. Improved Method for the Determination of Hydroxymethylfurfural in Baby Foods Using Liquid Chromatography–Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 2845–2849. DOI: [10.1021/jf053091y](https://doi.org/10.1021/jf053091y)

Granda, C; Moreira, R; Tichy, S. 2004. Reduction of Acrylamide Formation in Potato Chips by Low-temperature Vacuum Frying. *Journal of Food Science* 69(8):406-411.

Gresele, P; Cerletti, C; Guglielmini, G; Pignatelli, P; De Gaetano, G; Violi, F. 2011. Effects of resveratrol and other wine polyphenols on vascular function: an update. *Journal of Nutritional Biochemistry* 22(3):201–211. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2010.07.004

Gutierrez, W. 2017. Evaluación de los compuestos fenólicos del extracto de las hojas de muña (*Minthostachys spicata*) en el queso tipo Paria. Tesis para optar el título de Ingeniero Industrial. Universidad Nacional del Altiplano, Puno.

Haizam, A; Tarmizi, A; Niranjan, K. 2010. The Possibility of Lowering Oil Content of Potato Chips by Combining Atmospheric Frying with Postfrying Vacuum Application. *Journal of Food Science* 75(9). Disponible en <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01819.x>.

Haminiuk, C; Maciel, G; Plata-Oviedo, M; Peralta, R. 2012. Phenolic compounds in fruits – an overview. *International Journal of Food Science and Technology*

Herrera, O; Ventura, F; Rivera, A; Valenzuela, R; Condorhuamán, M. 2015. Efecto gastroprotector de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kuntze “Inca Muña” sobre lesiones gástricas inducidas en ratones. *Ciencia e Investigación* 18(2): 69-72.

Huang, Y; Li, C; Hu, H; Wang, Y; Shen, M; Nie, S; Chen, J; Zeng, M; Xie, M. 2019. Simultaneous Determination of Acrylamide and 5-Hydroxymethylfurfural in Heat-Processed Foods Employing Enhanced Matrix Removal - Lipid as a New Dispersive Solid-Phase Extraction Sorbent Followed by Liquid Chromatography - Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 67: 5017–5025. DOI: 10.1021/acs.jafc.8b05703

INIAP (Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias). 2016. Evaluar la calidad industrial de seis variedades de papa disponibles en el mercado con aptitud para procesamiento de prefrita congelada tipo bastón. Consultado el 30 set. 2018. Disponible en http://cipotato.org/wp-content/uploads/2016/04/poscosecha_-C_Monteros.pdf

JECFA (Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios). 2002. Consecuencias para la salud de Acrilamida en los alimentos. Informe de la Consulta Conjunta FAO/OMS. Suiza, Ginebra. Disponible en <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42635/9243562185.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

JECFA (Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios). 2008. Programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias comité del CODEX sobre contaminantes de los alimentos: anteproyecto de código de prácticas para reducir el contenido de acrilamida en los alimentos (N06-2006). Países Bajo, La Haya.

Jin, Ch; Wu, X; Zhang, Y. 2013. Relationship between antioxidants and acrylamide formation: A review. *Food Research International* 51: 611-620. Disponible en <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2012.12.047>

Karakaya, A. 2011. Purification of polyphenolic compounds from crude olive leaf extract. Tesis de maestría, Escuela de Ingeniería y Ciencia, Izmir.

Khoddami, A; Wilkes, Ma; Roberts, Th. 2013. Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules* 18(2): 2328-2375. Disponible en <https://doi.org/10.3390/molecules18022328>.

Koklamaz, E; Palazoglu, K; Kocadagl, T; Gökmen, V. 2014. Effect of combining conventional frying with. *Journal of the Science of Food Agriculture* 94(10):2002-2008. DOI: 10.1002/jsfa.6516

Kotsiou, K; Tasioula-Margari, M; Kukurová, K; Ciesarová, Z. 2010. Impact of oregano and virgin olive oil phenolic compounds on acrylamide content in a model system and fresh potatoes. *Food Chemistry* 123: 1149-1155. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.05.078

Kowalski, S; Lukasiewicz, M; Duda-Chodak, A; Zięc, G. 2013. 5-hydroxymethyl-2-furfural (HMF) -heat-induced formation, occurrence in food and biotransformation - A review. *Journal of Food and Nutrition Sciences* 63(4):207-225. Disponible en <https://doi.org/10.2478/v10222-012-0082-4>.

Lingnert, H; Grivas, S; Jägerstad, M; Skog, K; Törnqvist, M; Åman, P. 2002. Acrylamide in food: Mechanisms of formation and influencing factors during heating of foods. *Scandinavian Journal of Nutrition/Naringsforskning* 46(4): 159-172. Disponible en <https://doi.org/10.1080/110264802762225273>.

Liu, P; Lu, X; Li, N; Zheng, Z; Qiao, X. 2018. Characterization, Variables, and Antioxidant Activity of the Maillard Reaction in a Fructose–Histidine Model System. *Molecules* 24(56):1-15. DOI: 10.3390

Liu, Y; Wang, P; Chen, F; Yuan, Y; Zhu, Y; Yan, H; Hu, X. 2015. Role of plant polyphenols in acrylamide formation and elimination. *Food Chemistry* 186:46-53. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.122>.

Liu, P. 2012. Composition of hawthorn (*Crataegus* spp.) fruits and leaves and emblic leafflower (*Phyllanthus emblica*) fruits. Tesis doctoral, Universidad de Turku, Finlandia. Disponible en https://www.utupub.fi/bitstream/handle/10024/76646/PhD_Thesis_Pengzhan_Liu.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Locas, CP; Yaylayan, VA. 2008. Isotope labeling studies on the formation of 5-(hydroxymethyl)-2-furaldehyde (HMF) from sucrose by pyrolysis-GC/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56(15):6717-6723. Disponible en <https://doi.org/10.1021/jf8010245>.

Lopez, S; Moreira, R. 2019. Increased Phenolic Compounds in Potato Chips Vacuum Impregnated with Green Tea. *Journal of Food Science*. DOI: 10.1111/1750-3841.14492

Lu, B; Wu, X; Tie, X; Zhang, Y; Zhang, Y. 2005. Toxicology and safety of anti-oxidant of bamboo leaves. Part 1: Acute and subchronic toxicity studies on anti-oxidant of bamboo leaves. *Food and Chemical Toxicology* 43: 783–792. DOI: 10.1016/j.fct.2005.01.019

Ma, Y; Shao, J; Fan, X; Zhuang, X; He, F. 2018. Optimization of isolation and purification of total flavonoids from *Ardisia mamillata* Hance roots using macroporous resins, and determination of their antioxidant activity. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 17(5): 897-904. Disponible en <https://doi.org/10.4314/tjpr.v17i5.21>.

Macbride, J.F. (1960). Flora of Peru. Botanical series field museum of natural history, 12, 754.

Mallma, F; Hospino, L. 2019. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de Inca Muña en estado fresco y seco. Tesis de pregrado, Universidad Nacional del Centro del Perú, Huancayo. Disponible en http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/5650/T010_48351331_T%20%282%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Manzocco, L; Anese, M; Nicoli, MC. 1998. Antioxidant properties of tea extracts as affected by processing. *Journal of Food Science and Technology* 31(7-8):694-698. Disponible en <https://doi.org/10.1006/fstl.1998.0491>.

Mariotti, M; Cortes, P; Fromberg, A; Bysted, A; Pedreschi, F; Granby, K. 2015. Heat toxicant contaminant mitigation in potato chips. *Food Science and Technology* 60:860-866.

Masson, L; Muñoz, Jr; Romero, N; Conrado, C; Encina, C; Hernández, L; Castro, J; Robert, P. 2007. Acrilamida en patatas fritas: revisión actualizada. *Grasas y aceites* 58 (2): 185 - 193. Disponible en <https://doi.org/10.3989/gya.2007.v58.i2.84>.

MINAGRI (Ministerio de Agricultura y Riego). 2012. Papa: Principales Aspectos de la Cadena Agroproductiva. Consultado el 25 set. 2018. Disponible en <http://repositorio.minagri.gob.pe/bitstream/handle/MINAGRI/54/papa.cadena%202012.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

MINAGRI (Ministerio de Agricultura y Riego). 2000. Muña. Disponible en www.minagri.gob.pe/portal/download/pdf/sectoragrario/agricola/.../MUNA.pdf

Mohamed, A; El-Zamzamy, F; Mekky, T. 2014. Reduction of Acrylamide Formation in Potato Chips Using Natural Antioxidants Sources from Plant Extracts. *Middle East Journal of Agriculture Research* 3(1): 89-99.

Mohanty, S; Kamolvit, W; Zambrana, S; Sandström, C, Gonzales, E; Östenson, Cg; Braunerf, A. 2007. Extract of *Clinopodium bolivianum* protects against *E. coli* invasion of uroepithelial cells. *Journal of Ethnopharmacology*: 1 - 23. Disponible en <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2017.01.011>

Montes, N; Millar, I; Provoste, R; Martínez, N; Fernández, D; Morales, G; Valenzuela, R. 2016. Absorción de aceite en alimentos fritos. *Revista Chilena de Nutrición* 43(1): 87-91.

Morales, G. 2009. Efecto de antioxidantes naturales sobre la formación de acrilamida en papas fritas. Tesis Magíster en Ciencias Alimentarias. Veracruz, México, Universidad Veracruzana. Disponible en <https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/123456789/46791/MoralesOlanGema.pdf;jsessionid=C07B0D126CDF933071B1E2DC48949B2F?sequence=2>

Moreira, R; Almohamed, S. 2018. Technology for Processing of Potato Chips Impregnated with Red Rootbeet Phenolic Compounds. *Journal of Food Engineering*. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2018.02.010

Muñoz, C. 2015. Mitigación de la formación de acrilamida en hojuelas de papas mediante el uso de fritura al vacío. Santiago, Chile: Repositorio Académico de la Universidad de Chile. Disponible en <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/134944>

NTP (Norma Técnica Peruana) 011.119. 2010. Papa y derivados. Papa. Definiciones y requisitos. 2da ed.

Obregón, A; Repo, R. 2013. Evaluación fisicoquímica y bromatológica de cuatro variedades nativas de papa (*Solanum SPP.*). *Ciencia e Investigación* 16(1):38-40. Disponible en <https://doi.org/10.15381/ci.v16i1.8634>.

Oral, R; Dogan, M; Sarioglu, K. 2014. Effects of certain polyphenols and extracts on furans and acrylamide formation in model system, and total furans during storage. *Food Chemistry* 142: 423–429. Disponible en <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.077>

Pedreschi, F; Cortés, P; Mariotti, M. 2018. Potato Crisps and Snack Foods. *Elsevier*.

Peñarrieta, J; Tejada, L; Mollinedo, P; Vila, P; Bravo, J. 2014. Phenolic compounds in food. *Revista Boliviana de Química* 31(2): 68-81.

PERÚRETAIL (web de retail y canales comerciales). 2018. Perú: PepsiCo compra más de 23 mil toneladas de papa al año. Disponible en <https://www.peru-retail.com/peru-pepsico-compra-23-mil-toneladas-papa-ano/>

Piedrahita, AM; Peñaloza, J; Cogollo, A; Rojano, BA. 2015. Kinetic Study of the Oxidative Degradation of Choibá Oil (*Dipteryx oleifera* Benth.) with Addition of Rosemary Extract (*Rosmarinus officinalis* L.). *Food and Nutrition Sciences* 6: 466-479. Disponible en <http://dx.doi.org/10.4236/fns.2015.65048>

Pinelo, M; Sineiro, J; Núñez, M. 2006. Mass transfer during continuous solid–liquid extraction of antioxidants from grape byproducts. *Journal of Food Engineering* 77: 57-63. DOI:10.1016/j.jfoodeng.2005.06.021

Pirker, K; Kay, C; Stolze, K; Tunega, D; Reichenauer, T; Goodman, B. 2009. Free radical generation in rosmarinic acid investigated by electron paramagnetic resonance spectroscopy. *Free Radical Research* 43(1): 47 - 57. DOI: 10.1080/10715760802585236

Plata-Guerrero, R; Guerra-Hernández, E; García-Villanova, A. 2009. Determination of Reducing Sugar and Asparagine in Potatoes. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 32: 2556–2568. DOI: 10.1080/10826070903249732

Qi, Y; Zhang, H; Wu, G; Zhang, H; Wang, L; Qiana, H; Qia, X. 2017. Reduction of 5-hydroxymethylfurfural formation by flavan-3-ols in Maillard reaction models and fried potato chips. *Journal of Science Food and Agriculture*. DOI:10.1002/jsfa.9068.

Quiñones, M; Miguel, M; Aleixandre, A. 2012. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria* 27(1), 76-89. Disponible en http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v27n1/09_revision_08.pdf

Rajamanikandan, S; Sindhu, T; Durgapriya, D; Sophia, D; Ragavendran, P; Gopalakrishnan, VK. 2011. Radical Scavenging and Antioxidant Activity of Ethanolic Extract of *Mollugo nudicaulis* by Invitro Assays. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research* 45(4): 310-316.

Ranalli, A; Lucera, L; Contento, S. 2003. Antioxidizing Potency of Phenol Compounds in Olive Oil Mill Wastewater. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 7636-7641. DOI: 10.1021/jf034879o

Rice-Evans, C; Miller, N; Paganga, G. 1996. Structure - antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology & Medicine* 20(7): 933-956. DOI:10.1016/0891-5849(95)02227-9

Rivera, A; Ventura, F. 2014. Efecto gasiroprotector del extracto etanólico de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kuntze "sayqa muña" sobre lesiones ulcerosas inducidas en ratones albinos Balb·C. Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico, Universidad Nacional San Luis Gonzaga, Ica.

Robards, K; Prenzler, P; Tucker, G; Swatsitang, P; Glover, W. 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry* 66: 401-436. DOI:10.1016/s0308-8146(99)00093-x

Romero, V. 2019. Deshidratación de la papa (*Solanum tuberosum*) De descarte del mercado mayorista de piura para la obtención de papa seca para uso alimenticio. Tesis de pre-grado, Universidad Nacional de Piura.

Routray, W; Orsa, V. 2012. Microwave-Assisted Extraction of Flavonoids: A Review. *Food Bioprocess Technology* 5: 409–424. DOI:10.1007/s11947-011-0573-z

Sarría, A. 2004. Flavonoides: compuestos bioactivos de los alimentos. *Boletín de la Sociedad de Pediatría de Aragón, La Rioja y Soria* 34: 88-92.

Schettgen, T; Kütting, B; Hornig, M; Beckmann, Mw; Weiss, T; Drexler, H; Angerer, J. 2004. Trans-placental exposure of neonates to acrylamide - A pilot study. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 77(3): 213-216. Disponible en <https://doi.org/10.1007/s00420-003-0496-8>.

Serpen, A; Gökmen, V. 2009. Evaluation of the Maillard reaction in potato crisps by acrylamide, antioxidant capacity and color. *Journal of Food Composition and Analysis* 22: 589–595

Serrano, C; Calsino, B; Tupa, A; Huamán, R; Ludeña, M; Rodríguez, E. 2016. Q Cuantificación de ácidos oleanólico, ursólico y rosmarínico en tres especies de *Clinopodium* (Lamiaceae, Nepetoideae, Mentheae). *Arnaldoa* 23 (1): 333 - 350.

Sobol, Z; Jakubowski, T; Nawara, P. 2020. The Effect of UV-C Stimulation of Potato Tubers and Soaking of Potato Strips in Water on Color and Analyzed Color by CIE L*a*b*. *Sustainability* 12(3487): 1 - 11. DOI: 10.3390/su12083487

Tiwari, P; Joshi, A; Varghese, E; Thakur, M. 2018. Process standardization and storability of calcium fortified potato chips through vacuum impregnation. *Journal of Food Science and Technology*. Disponible en <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3254-3>

Tritscher, AM. 2004. Human health risk assessment of processing-related compounds in food. *Toxicology Letters* 149(1-3):177-186. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2003.12.059>.

Triveño, G; Ordinola, M; Samanamud, K; Fonseca, C; Manrique, K; Quevedo, M. 2011. Buenas prácticas para el desarrollo de la cadena productiva de la papa: 8-15 p. Disponible en <http://cipotato.org/wp-content/uploads/2011/07/005738-1.pdf>.

Valencia, E; Ignacio, I; Sosa, E; Bartolomé, M; Martínez, H; García, M. 2017. Polifenoles: propiedades antioxidantes y toxicológicas. *Revista de la Facultad de Ciencias Químicas* 16: 15-29. Disponible en <https://publicaciones.ucuenca.edu.ec/ojs/index.php/quimica/article/view/1583/1238>

Venereo Gutiérrez, JR. 2002. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de Medicina Militar* 31(2):126-133.

Vivanti, V; Finotti, E; Friedman, M. 2006. Level of Acrylamide Precursors Asparagine, Fructose, Glucose, and Sucrose in Potatoes Sold at Retail in Italy and in the United States. *Food Chemistry and Toxicology* 71(2): 81 - 85.

Wen, Ch; Shi, X; Wang, Z; Gao, W; Jiang, L; Xiao, Q; Liu, X; Deng, F. 2015. Effects of metal ions on formation of acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural in asparagine–glucose model system. *International Journal of Food Science and Technology* 51:279–285

Yapuchura, R. 2010. Estudio de los componentes antioxidantes de las hojas de muña (*Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb.) e inca muña (*Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kuntze) . Tesis de maestría, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima. Disponible en <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/1700/TAL%2015-124-TM.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Yu Zhang, Jie Chen, Xiaoling Zhang, Xiaoqin Wu, Ayz. 2007. Addition of Antioxidant of Bamboo Leaves (AOB) Effectively Reduces Acrylamide Formation in Potato Crisps and French Fries. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 55(2): 523-528. Disponible en <https://doi.org/10.1021/jf062568i>.

Yuan, Y; Qi, M; Liu, H; Yan, H. 2019. Study of acrylamide mitigation in model systems and potato crisps: effect of rosmarinic acid. *International Journal of Food Science and Technology*. DOI:10.1111/ijfs.14180

Yuan, Y; Shu, C; Zhou, B; Qi, X; Xiang, J. 2011. Impact of selected additives on acrylamide formation in asparagine/sugar Maillard model systems. *Food Research International* 44(1):449-455. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.09.025>.

Zhang, B; Cai, J; Duan, C; Reeves, M; He, F. 2015. A Review of Polyphenolics in Oak Woods. *International Journal of Molecular Sciences* 16:6978-7014. DOI:10.3390/ijms16046978

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 Agriculture and Food Chemistry* 55: 523-528. DOI:10.1021/jf062568i

Zhang, Yu; Zhang, Ying. 2007. Study on reduction of acrylamide in fried bread sticks by addition of antioxidant of bamboo leaves and extract of green tea. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 16(1): 131-136.

Zhu, F; Cai, Y; Ke, J; Corke, H. 2009. Evaluation of the effect of plant extracts and phenolic compounds on reduction of acrylamide in an asparagine/glucose model system by RP-HPLC-DAD. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 89: 1674-1681. DOI: 10.1002/jsfa.3640

Zou, Y; Pei, K; Peng, X; Bai, W; Huang, C; Ou, S. 2016. Possible adducts formed between hydroxymethylfurfural and selected amino acids, and their release in simulated gastric model. *International Journal of Food Science and Technology* 51(4): 1002-1009. Disponible en <https://doi.org/10.1111/ijfs.13057>.

Zyzak, D; Sanders, R; Stojanovic, M; Tallmadge, D; Eberhart, L; Ewald, D; Gruber, D; Morsh, T; Strothers, M; Rizzi, G; Villagran, M. 2003. Acrylamide Formation Mechanism in Heated Foods. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 51(16): 4782-4787. DOI:10.1021/jf034180

VIII. ANEXOS

Anexo 1: NTP 011-119 “PAPA Y DERIVADOS. Papa. Definiciones y requisitos”

De acuerdo a la norma (inciso 4), se presenta tres de diecisiete definiciones básicas para evaluar la calidad de una papa son lo siguiente:

4.2. Calibre o tamaño: Es una relación entre el peso y los diámetros (mayor/menor) de los tubérculos de papa. En la presente Norma Técnica Peruana se definen 3 tipos de calibres: Extra, Primera y Segunda.

4.10. Materia seca: Es una medida de la masa del tubérculo de papa cuando está completamente seca. Es la porción de sólidos del tubérculo de papa excluyendo el agua. La materia seca se expresa en porcentaje (%).

4.15. Variedad: Grupo de individuos con características genotípicas y fenotípicas comunes, y que pertenecen a la misma especie vegetal.

Respecto al calibre se presenta la Tabla 1 y las principales características de cada variedad en Anexo A.

Tabla 1 - Rangos de diámetros* mayor y menor (mm) y peso (g) según el calibre y variedad de papa, tomada de la NTP 011.119

Variedad		Calibres		
		Extra	Primera	Segunda
Canchan	D mayor (mm)	134 – 102	101 – 75	74 – 49
	D menor (mm)	107 – 72	71 – 51	50 – 38
	Peso (g)	639 -320	319 – 155	154 – 29
Perricholi	D mayor (mm)	127 – 101	100 – 76	75 – 55
	D menor (mm)	108 – 80	79 – 55	54 – 44
	Peso (g)	615 – 382	381 – 179	178 – 50
Yungay	D mayor (mm)	151 – 104	103 – 73	72 – 45
	D menor (mm)	101 – 61	60 – 45	44 – 32
	Peso (g)	710 – 321	320 – 132	131 – 20
Tumbay	D mayor (mm)	94 – 77	76 – 58	57 – 30
	D menor (mm)	83 – 64	63 – 47	46 – 32
	Peso (g)	361 – 202	201 – 99	98 – 20
Huayro	D mayor (mm)	167 – 132	131 – 90	89 – 43
	D menor (mm)	66 - 53	52 – 45	44 – 35
	Peso (g)	432 – 253	252 – 118	117 – 20
Peruanita	D mayor (mm)	130 – 88	87 - 60	59 – 50
	D menor (mm)	98 – 63	62 – 45	44 – 40
	Peso (g)	509 – 265	264 – 56	55 – 45

* Los diámetros mayor y menor están referidos a las dimensiones máximas y mínimas de los ejes longitudinal y transversal del tubérculo cuando se intersectan en ángulo recto

Anexo A (Informativo)

Características de las variedades de papa mejorada y nativa

Variedad	Forma	Piel	Pulpa	Características físicas y uso sugerido
Canchan	Redondeada	Piel de color rojo, ojos superficiales.	Blanca a blanca cremosa	22 % de materia seca, gravedad específica de 1.115. Uso sugerido: para frituras.
Yungay	Oval-chatos tamaño grande y compactas	Piel amarillenta con jaspes rojizos, ojos superficiales y en poco número	Cremosa-amarillenta	26 % de materia seca, gravedad específica de 1.091. Uso sugerido: sancochado
Perricholi	Redondeada	Piel blanca con pigmentos morados, pero más concentrados en las cejas	Blanca marfil	20 % de materia seca, gravedad específica de 1.089. Uso sugerido: fritura.
Amarilla Tumbay	Redondeada en forma de piña	Piel de color amarillo claro, ojos profundos	Amarilla	25 % de materia seca, gravedad específica de 1.156. Uso sugerido: sancochado, fritura, puré
Huayro	Alargado-alargados	Piel de color ojo morado, con cejas moradas y ojos profundos.	Crema amarilla con áreas rojas y moradas.	28 % de materia seca, gravedad específica de 1.109. Uso sugerido: sancochado, puré.
Peruanita	Oblongos	Piel 2 colores: rojo – morado y amarillo, ojos semi profundos	Amarilla	30 % de materia seca, gravedad específica de 1.108. Uso sugerido: sancochado, puré

Anexo 2: Análisis de acrilamida de pruebas preliminares – inmersión a presión atmosférica con ECCL

Tratamiento en hojuelas de papa		Análisis de hojuelas de papa frita			
Tiempo inmersión (minutos)	Concentración fenólica (mg AGE/mL)	Repetición	Acrilamida ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	ΔE	
10	Control	1	2,001.5	-	
		2	4,602.5	-	
		3	3,302.0	-	
	1	1	1	11,734.9	16.6
			2	3,734.8	12.6
			3	7,734.9	11.6
	3	3	1	13,643.8	17.6
			2	5,973.3	11.3
			3	9,808.55	4.5
	5	5	1	5,299.6	13.4
			2	3,443.2	11.8
			3	4,371.4	6.1
30	Control	1	7,815.6	-	
		2	4,312.4	-	
		3	6,064.0	-	
	1	1	1	4,929.4	4.8
			2	1,366.3	8.4
			3	3,147.9	9.1
	3	3	1	4,618.6	6.5
			2	3,315.6	13.5
			3	3,967.1	17.4
	5	5	1	4,791.3	7.2
			2	2,888.3	6.4
			3	3,839.9	13.6
50	Control	1	3,376.1	-	
		2	1,265.4	-	
		3	2,320.8	-	
	1	1	1	5,481.4	15.5
			2	5,099.7	8.6
			3	5,290.6	17.1
	3	3	1	3,202.9	11.7
			2	5,584.6	9.1
			3	4,393.8	12.1
	5	5	1	5,860.2	14.3
			2	6,859.9	12.1
			3	6,360.1	16.0

Anexo 3: Análisis estadístico - Cuantificación de Acrilamida en el Sistema Modelo usando EPPL de Inca Muña

Tabla ANOVA para Acrilamida por Concentración Fenólica de Inca Muña

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2621.43	4	655.357	22.98	0.0001
Intra grupos	285.168	10	28.5168		
Total (Corr.)	2906.6	14			

Pruebas de Múltiple Rangos para Acrilamida por Concentración Fenólica de Inca Muña

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
20	3	1.07333	X
7.5	3	17.9667	X
5	3	25.2333	XX
1.25	3	35.7667	X
Control	3	37.1667	X

Anexo 4: Análisis estadístico - Cuantificación de HMF en el Sistema Modelo usando EPPL de Inca Muña

Tabla ANOVA para HMF por Concentración Fenólica de Inca Muña

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	467.044	4	116.761	72.37	0.0000
Intra grupos	16.1333	10	1.61333		
Total (Corr.)	483.177	14			

Pruebas de Múltiple Rangos para HMF por Concentración Fenólica de Inca Muña

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Control	3	2.36667	X
1.25	3	3.7	X
5	3	9.8	X
20	3	13.8	X
7.5	3	16.7667	X

Anexo 5. Análisis estadístico - Mitigación de acrilamida en papa frita tipo hojuelas con previa inmersión a presión atmosférica usando EPPL de Inca Muña

Tabla ANOVA para Mitigación de Acrilamida por Tratamiento - Inmersión a presión atmosférica

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	5250.62	7	750.089	24.18	0.0000
Intra grupos	496.3	16	31.0187		
Total (Corr.)	5746.92	23			

Pruebas de Múltiple Rangos para Mitigación de Acrilamida por Tratamiento - Inmersión a presión atmosférica

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.1%-120s	3	15.1667	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.2%-120s	3	19.7	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.1%-15s	3	20.8333	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.1%-60s	3	22.2667	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.2%-15s	3	26.6667	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.2%-30s	3	50.8	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.2%-60s	3	50.8333	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.1%-30s	3	50.9667	X

Anexo 6. Análisis Estadístico del valor de tono o hue (h*) en rodajas de papa frita con inmersión a presión atmosférica

Tabla ANOVA para h* por Tratamiento con inmersión a presión atmosférica

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	31.8896	7	4.55566	0.81	0.5952
Intra grupos	90.5309	16	5.65818		
Total (Corr.)	122.421	23			

Pruebas de Múltiple Rangos para h* por tratamiento con inmersión a presión atmosférica

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.1%-60s	3	86.7567	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.1%-30s	3	87.8267	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.2%-30s	3	88.5467	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.1%-120s	3	88.7433	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.2%-120s	3	89.5733	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.2%-15s	3	89.8633	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.1%-15s	3	90.1467	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.2%-60s	3	90.2533	X

Anexo 7. Análisis Estadístico del valor de Diferencial de Color Total (ΔE) en rodajas de papa frita con inmersión a presión atmosférica.

Tabla ANOVA para ΔE por tratamiento en rodajas de papa frita con inmersión a presión atmosférica.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	23.5034	7	3.35763	1.49	0.2414
Intra grupos	36.1649	16	2.2603		
Total (Corr.)	59.6683	23			

Pruebas de Múltiple Rangos para ΔE por tratamiento en rodajas de papa frita con inmersión a presión atmosférica.

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.1%-60s	3	2.6	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.1%-15s	3	2.65	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.2%-60s	3	3.02	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.2%-120s	3	3.16667	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.2%-15s	3	3.74333	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.2%-30s	3	3.87333	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.1%-30s	3	4.05667	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.1%-120s	3	5.86	X

Anexo 8. Análisis Estadístico de los Compuestos Fenólicos Totales de la solución fenólica después de cada inmersión a presión atmosférica

Tabla ANOVA para CFT de solución de inmersión a presión atmosférica

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	5.77552	7	0.825074	196.84	0.0000
Intra grupos	0.0670667	16	0.00419167		
Total (Corr.)	5.84258	23			

Pruebas de Múltiple Rangos para CFT de solución de inmersión a presión atmosférica

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.1%-120s	3	1.12	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.1%-15s	3	1.14333	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.1%-60s	3	1.15333	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.1%-30s	3	1.21333	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.2%-30s	3	1.97	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.2%-60s	3	2.01333	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.2%-120s	3	2.08	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.2%-15s	3	2.38	X

Anexo 9. Análisis Estadístico de los Azúcares Reductores de la solución fenólica después de cada inmersión a presión atmosférica

Tabla ANOVA para Azúcares Reductores de solución de inmersión a presión de atmosférica

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.150983	7	0.021569	345.10	0.0000
Intra grupos	0.001	16	0.0000625		
Total (Corr.)	0.151983	23			

Pruebas de Múltiple Rangos para Azúcares Reductores de solución de inmersión a presión atmosférica

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.1%-15s	3	0.106667	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.1%-60s	3	0.106667	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.1%-30s	3	0.113333	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.1%-120s	3	0.12	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.2%-15s	3	0.226667	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.2%-60s	3	0.276667	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.2%-30s	3	0.28	X
Inmersión P. atm. Inca Muña 0.2%-120s	3	0.283333	X

Anexo 10. Análisis estadístico - Mitigación de acrilamida en papa frita tipo hojuelas con previa inmersión a presión de vacío usando EPPL de Inca Muña

Tabla ANOVA para Mitigación de Acrilamida por tratamiento - inmersión a presión de vacío

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	6943.52	7	991.931	117.67	0.0000
Intra grupos	134.88	16	8.43		
Total (Corr.)	7078.4	23			

Pruebas de Múltiple Rangos para Mitigación de Acrilamida por tratamiento - inmersión a presión de vacío

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.2%-60s	3	15.5667	X
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.2%-30s	3	19.7333	X
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.1%-30s	3	28.4	X
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.1%-15s	3	29.4	X
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.1%-60s	3	35.4333	XX
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.2%-120s	3	40.0667	X
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.2%-15s	3	59.1667	X
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.1%-120s	3	67.3667	X

Anexo 11. Análisis Estadístico del valor de tono o hue (h*) en rodajas de papa frita con inmersión a presión de vacío

Tabla ANOVA para h* por tratamiento con inmersión a presión de vacío

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	105.922	7	15.1318	5.49	0.0023
Intra grupos	44.1097	16	2.75685		
Total (Corr.)	150.032	23			

Pruebas de Múltiple Rangos para h* por tratamiento con inmersión a presión de vacío

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.2%-15s	3	78.77	X
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.1%-15s	3	81.1033	XX
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.1%-60s	3	81.1167	XX
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.1%-30s	3	82.6067	XX
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.2%-30s	3	84.1033	X
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.2%-60s	3	84.1033	X
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.2%-120s	3	84.5267	X
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.1%-120s	3	85.4433	X

Anexo 12. Análisis Estadístico del valor de Diferencial de Color Total (ΔE) en rodajas de papa frita con inmersión a presión de vacío.

Tabla ANOVA para ΔE por Tratamiento en rodajas de papa frita con inmersión a presión de vacío.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	23.6416	7	3.37737	2.72	0.0462
Intra grupos	19.8731	16	1.24207		
Total (Corr.)	43.5147	23			

Pruebas de Múltiple Rangos para ΔE por Tratamiento en rodajas de papa frita con inmersión a presión de vacío.

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.2%-30s	3	4.76333	X
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.2%-120s	3	4.83667	X
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.1%-120s	3	5.15	X
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.1%-30s	3	5.27333	X
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.2%-60s	3	5.79	X
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.1%-15s	3	5.86	X
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.1%-60s	3	7.14667	X
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.2%-15s	3	7.63333	X

Anexo 13. Análisis Estadístico de los Compuestos Fenólicos Totales de la solución fenólica después de cada inmersión a presión de vacío

Tabla ANOVA para CFT de solución de inmersión a presión de vacío

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	7.0028	7	1.0004	273.15	0.0000
Intra grupos	0.0586	16	0.0036625		
Total (Corr.)	7.0614	23			

Pruebas de Múltiple Rangos para CFT de solución de inmersión a presión de vacío

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.1%-120s	3	1.1	X
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.1%-30s	3	1.17667	X
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.1%-60s	3	1.18333	X
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.1%-15s	3	1.21667	X
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.2%-30s	3	2.19	X
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.2%-15s	3	2.24667	X
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.2%-120s	3	2.26667	X
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.2%-60s	3	2.28333	X

Anexo 14. Análisis Estadístico de los Azúcares Reductores de la solución fenólica después de cada inmersión a presión de vacío

Tabla ANOVA para Azúcares Reductores de solución de inmersión a presión de vacío

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.0307292	7	0.00438988	8.23	0.0003
Intra grupos	0.00853333	16	0.000533333		
Total (Corr.)	0.0392625	23			

Pruebas de Múltiple Rangos para Azúcares Reductores de solución de inmersión a presión de vacío

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.1%-60s	3	0.106667	X
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.1%-30s	3	0.116667	XX
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.1%-120s	3	0.12	XX
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.1%-15s	3	0.126667	XX
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.2%-15s	3	0.166667	XXX
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.2%-30s	3	0.173333	XX
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.2%-120s	3	0.2	X
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.2%-60s	3	0.2	X

Anexo 15. Análisis estadístico de Compuestos Fenólicos de papa frita tipo hojuelas - los mejores tratamientos

Tabla ANOVA para Compuestos Fenólicos Totales por mejores tratamientos papa frita

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	8643.5	3	2881.17	49.41	0.0000
Intra grupos	466.487	8	58.3108		
Total (Corr.)	9109.99	11			

Pruebas de Múltiple Rangos para Compuestos Fenólicos Totales por mejores tratamientos papa frita

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Inmersión P. atm Inca Muña 0.2%-60s	3	6.5	X
Inmersión P. atm Inca Muña 0.2%-30s	3	37.6	X
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.2%-15s	3	55.7	X
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.1%-120s	3	80.0667	X

Anexo 16. Análisis estadístico de Capacidad Antioxidante de papa frita tipo hojuelas - los mejores tratamientos

Tabla ANOVA para Capacidad antioxidante por mejores tratamientos papa frita

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1622.95	3	540.984	25.04	0.0002
Intra grupos	172.813	8	21.6017		
Total (Corr.)	1795.77	11			

Pruebas de Múltiple Rangos para Capacidad antioxidante por mejores tratamientos papa frita

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Inmersión P. atm Inca Muña 0.2%-60s	3	4.16667	X
Inmersión P. atm Inca Muña 0.2%-30s	3	15.8667	XX
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.2%-15s	3	17.5	X
Inmersión P. vacío Inca Muña 0.1%-120s	3	36.6	X