



Universidad Austral de Chile

Escuela de Ingeniería en Alimentos

“Estudio de Dieta Total: Estimación de la Ingesta de Acrilamida en la Población Valdiviana”

Tesis presentada como parte de los requisitos para optar al grado de Licenciado en Ciencia de los Alimentos

Corina Andrea Flores Calderón

Valdivia – Chile
2008

PROFESOR PATROCINANTE:

Sr. Ociel R. Muñoz Fariña
Bioquímico, Ph. D.
Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

PROFESORES INFORMANTES:

Sra. Marcia E. Costa Lobo
Ingeniero Civil Bioquímico
Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

Sr. Alejandro F. Romero Mella
Bioquímico, Ph. D.
Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

Dedico este trabajo a mis padres, a mi sobrinita Isabel y en especial a una mi abuelita Clara, aunque no esté conmigo, siempre la llevo en mi corazón.

AGRADECIMIENTOS

Antes que todo quiero agradecer a mis padres, Edita y Víctor, por su esfuerzo y amor incondicional, ya que sin su apoyo no estaría donde estoy en estos momentos. A mis hermanos Hugo y Jessica por su enorme cariño

A mi profesor Sr. Ociel Muñoz F. por su paciencia, consejos, apoyo y dedicación.

A mis grandes amigos de siempre, Madelaine, Karina, Reinaldo, Rodrigo, Ricardo, Alejandro, Sandy, Virginia y Barbara, gracias por estar siempre cuando los necesite.

También quiero agradecer a todo el personal de ICyTAI especialmente a la profesora Marcia Rojas y al profesor Fernando Asenjo, por su buena disposición y por ser grandes guías durante mi época de estudiante.

Al Instituto de producción animal por la acogida que nos brindaron después del lamentable suceso.

A todos aquellos que de una u otra forma me ayudaron en la realización de esta tesis.

Gracias a Dios...

INDICE DE MATERIAS

Capítulo		Página
1	INTRODUCCIÓN	1
1.1	Planteamiento del Problema	1
1.2	Importancia	1
1.3	Hipótesis	1
1.4	Objetivos	2
1.4.1	Objetivos Generales	2
1.4.2	Objetivos Específicos	2
2	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1	Dieta total	3
2.1.1	Antecedentes sobre el estudio de dieta total	3
2.1.2	Clasificación de Estudio de dieta total	4
2.1.3	Obtención del tamaño muestral	5
2.2	Tóxicos	5
2.3	Acrilamida	6
2.3.1	Antecedentes Generales	6
2.3.2	Propiedades fisicoquímicas	6
2.3.3	Rutas de formación	8
2.3.4	Importancia de la Asparagina	10
2.3.5	Usos actuales en la sociedad	12
2.4	Acrilamida en los alimentos	13
2.4.1	Grupos de alimentos con concentraciones importante de acrilamida	14
2.4.2	Exposición a la acrilamida	15
2.5	Efectos de la acrilamida en la salud humana	15
2.5.1	Metabolismo y reactividad	16
2.5.1.1	Metabolismo	16
2.5.1.2	Reactividad	17

2.5.2	Carcinogénesis, genotoxicidad y neurotoxicidad	17
2.5.2.1	Datos en animales	17
2.5.2.2	Datos en humanos	18
2.6	Estimaciones de ingesta	18
2.7	Prácticas recomendadas para reducir su formación	20
2.7.1	En papas	20
2.7.2	En cereales	21
2.7.3	En café	22
2.8	Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC)	23
2.9	Método propuesto en la literatura	23
3	MATERIAL Y METODOS	25
3.1	Ubicación del estudio	25
3.2	Material	25
3.3	Metodología	26
3.3.1	Dieta Total en la ciudad de Valdivia	26
3.3.2	Obtención de los datos de consumo	27
3.3.3	Tratamiento al material de laboratorio	28
3.3.4	Sistema de adquisición de las muestras	28
3.4	Elaboración	28
3.4.1	Productos que se consumen cocinados	28
3.4.2	Conservas	29
3.4.3	Muestra de consumo fresco	29
3.4.4	Contra muestra	29
3.4.5	Acondicionamiento y almacenamiento de las muestras	29
3.5	Análisis de acrilamida	29
3.5.1	Preparación de la muestra	29
3.5.2	Preparación de los estándares y curva de calibración	30
3.5.3	Límite de decisión, capacidad de detección	31
3.5.4	Validación	31
3.5.5	Control de calidad en los análisis de muestras	33
3.6	Determinación ingesta de acrilamida	33
3.7	Tratamiento estadístico de los resultados obtenidos	33

4	PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	34
4.1	Estudio de dieta total: Grupo de población estudiados	34
4.2	Resultados obtenidos en el estudio de dieta total	34
4.2.1	Agrupación de los alimentos	34
4.2.2	Preparación de la lista de alimentos	34
4.2.3	Cuantificación de datos de encuesta	35
4.2.4	Análisis de la composición de la dieta total en la ciudad de Valdivia	38
4.2.5	Comparación de estudio de dieta total en la ciudad de Valdivia/Santiago	39
4.3	Estudio dieta total es distintos países del mundo	40
4.4	Análisis estadístico de acrilamida concentraciones e ingesta	43
4.4.1	Análisis de la concentración de acrilamida en dieta total Valdiviana	43
4.4.2	Análisis de la ingesta media diaria de acrilamida en los distintos grupos de alimentos de la dieta total valdiviana	44
4.4.3	Comparación de concentración de acrilamida en grupos de alimentos según estimaciones FAO/OMS 2005	44
4.4.4	Comparación de ingesta de acrilamida en diferentes países	45
5	CONCLUSIONES	47
6	RECOMENDACIONES	48
7	RESUMEN – SUMMARY	49
8	BIBLIOGRAFÍA	51
9	ANEXOS	55

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Características químicas de una molécula de Acrilamida	7
2	Solubilidad de acrilamida en diferentes solventes	7
3	Niveles de acrilamida en diferentes alimentos y grupos alimenticios	14
4	Resultado de las valoraciones de exposición de acrilamida en diferentes países	15
5	Niveles establecidos (NOEL), basado en estudios experimentales con roedores	17
6	Ingesta potencial diaria de acrilamida en diferentes países	19
7	Parámetros instrumentales y experimentales para la determinación de acrilamida por HPLC	30
8	Parámetros, curva de calibración de acrilamida	30
9	Condiciones cromatograficas para la curva de calibración	30
10	Características analíticas de la metodología para la determinación de acrilamida.	32
11	Análisis antropométrico promedio de la ciudad de Valdivia	34
12	Guía de Compra de los Alimentos Constituyentes de la Dieta Total de la Población de Valdivia	35
13	Aporte (gramos/persona/día) de cada alimento en la Dieta Total y el % de cada uno para el posterior análisis	37
14	Concentración ($\mu\text{g/g}$ producto), e Ingesta ($\mu\text{g/persona/día}$), de acrilamida a través de la dieta total Valdiviana	43

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Molécula de acrilamida	6
2	Rutas de formación de acrilamida	8
3	Reacción de Maillard	9
4	Formación de asparagina a partir de acrilamida	10
5	Moléculas iniciales y precursoras para la formación de acrilamida en los alimentos.	11
6	Formación de compuestos mediante la aplicación de calor tanto en la cocina como en la industria	13
7	Metabolismo de acrilamida a glicidamida	16
8	Esquema aplicado a la obtención de datos en base a los hábitos comunes de la ciudad de Valdivia: “Estudio de dieta total”	27
9	Cromatograma obtenido para determinar el límite de detección	31
10	Ejemplo de análisis, utilizando una muestra de pan horneado, con y sin adición de patrón.	32
11	Alimentos consumidos (por grupo), por los habitantes de Valdivia	39
12	Comparación del consumo de alimentos en Valdivia y Santiago	40
13	Grafico comparativo del estudio de Dieta Total en diferentes países del mundo	42
14	Grafica de comparación de la concentración de acrilamida (ppb) encontrados en los grupos de alimentos y estimaciones de FAO/OMS	45
15	Ingesta potencial diaria de acrilamida en diferentes países (ug/Kg pc/día)	46

INDICE DE ANEXOS

Anexo		Página
1	Consentimiento informado: Estudio de Dieta Total	56
2	Encuesta nutricional recordatoria de 24 horas	58
3	Agrupación de los alimentos obtenidos en la encuesta de dieta total en la ciudad de Valdivia	64
4	Canasta de compra	65
5	Cuantificación de la porción (g o ml)	68
6	Obtención del consumo diario de alimentos	69
7	Alimentos consumidos por la población (gramos) los cuales representas un valor bajo el 2% del consumo total promedio	70
8	Preparación de la lista o canasta de compra de alimentos	71
9	Ingesta de alimentos a través de la dieta total Valdivia vs Santiago	72
10	Comparación dieta total en diferentes países	73
11	Curva de calibración	74
12	Limite de decisión	75
13	Capacidad de detección	76
14	Precisión y exactitud	77
15	Resultados obtenidos en la validación del método	78
16	Cálculos para determinar la concentración del elemento [ppb] (ng/g ó ug/kg) en los grupos de alimentos	78
17	Cálculos para determinar la ingesta del elemento [ug/día], a través de un grupo de alimentos, por cada persona	79
18	Control de calidad, análisis grupo vegetales	80
19	Comparación concentración de acrilamida con estimaciones de FAO	81

1. INTRODUCCIÓN

Los alimentos son muy complejos en cuanto a sus nutrientes, cuya ingesta es necesaria para el normal desarrollo de las funciones vitales. Los alimentos pueden también contener sustancias químicas potencialmente peligrosas que conforman un grupo variado de orígenes muy diversos, aunque su presencia en los alimentos no implica necesariamente que exista un riesgo real para la salud. La probabilidad de que se produzcan efectos tóxicos depende de la dosis y de las características de cada sustancia. En éste trabajo se determinó la presencia de una sustancia tóxica (acrilamida), la cual se presenta en mayor proporción en ciertos grupos de alimentos. Diferentes estudios han mostrado que esta sustancia es cancerígena en animales de laboratorio y probablemente también lo sea en seres humanos.

1.1 Planteamiento del problema

La acrilamida, es una de las últimas sustancias neurotóxicas y carcinogénicas descubierta en alimentos. En los seres humanos y en los animales, la neurotoxicidad es el riesgo más importante al ingerir acrilamida. La exposición a altas dosis de esta sustancia provoca cambios en el sistema nervioso central (SNC), mientras que la exposición prolongada a bajas dosis da como resultado neuropatía periférica en presencia o ausencia de complicaciones sobre el SNC.

1.2 Importancia

En abril de 2002, la Administración Nacional de Alimentos de Suecia (NFA) e investigadores de la Universidad de Estocolmo, anunciaron la presencia de acrilamida en alimentos la cual es una sustancia química tóxica y potencialmente cancerígena, y que se forma en muchos tipos de alimentos preparados/cocidos a temperatura elevadas. La NFA comunicó su descubrimiento a autoridades y organizaciones regionales e internacionales con el fin de iniciar la colaboración internacional como una prioridad. Más aún, se consideraron urgentemente necesarias las iniciativas internacionales para comenzar una investigación multidisciplinaria ya que la formación de acrilamida durante el proceso de cocción tenía probabilidad de ser un fenómeno general (FAO/WHO, 2002).

Al reconocer la acrilamida como un riesgo para la salud, resulta interesante realizar un estudio en nuestra población, enfocado como un estudio de dieta total, donde se determinará cuales son los principales alimentos consumidos por la población en estudio y al mismo tiempo determinar si estos alimentos contienen acrilamida a niveles que puedan representar un riesgo para la salud.

1.3 Hipótesis

- Los contenidos e ingesta de acrilamida en los alimentos que conforman la dieta típica en la población de Valdivia no representan un riesgo para la salud humana.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivos Generales

- Estimar la ingesta de acrilamida en los alimentos constituyentes de la dieta total de la población de Valdivia y evaluar el riesgo para la salud de los mismos.

1.4.2 Objetivos Específicos

- Determinar los grupos de alimentos de mayor consumo por parte de la población de Valdivia mediante una encuesta recordatoria de 24 horas.
- Desarrollar, implementar y validar una metodología analítica rápida para la determinación de acrilamida en alimentos.
- Estimar la ingesta promedio de acrilamida por la población de Valdivia, y el riesgo para la salud.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Los tratamientos térmicos son muy comunes durante el procesado, cocinado así como también en la preservación de alimentos, tales como esterilización, fritura, tostado, horneado, etc., alcanzan temperaturas superiores a 120°C, donde se llevan a cabo una serie de transformaciones en el alimento las que conducen a la formación de nuevos compuestos, provocando a veces la aceptabilidad del consumidor como es el caso del tostado o reacción de Maillard en productos de panadería. En algunos casos estas transformaciones pueden dar lugar a la formación de compuestos tóxicos que reducen su valor biológico, incidiendo en la inocuidad de los mismos, denominándose contaminantes químicos de procesado, ya que ellos no se encuentran presente en los alimentos frescos y su formación está relacionada directamente con su proceso tecnológico o culinario aplicado. La mayoría de estos compuestos está relacionado con actividades mutagénicas, teratogénicas, carcinogénicas, etc., en organismos vivos y por ello debe evaluarse y si es necesario ejercer medidas de control necesarias. Se conocen una serie de contaminantes químicos de procesado, entre ellos las aminas heterocíclicas, los hidrocarburos aromáticos policíclicos (benzopireno), N-nitrosaminas, furano y la más reciente descubierta acrilamida (JIMÉNEZ *et al.*, 2007).

En este sentido, y para estimar el riesgo a la salud humana, la FAO/OMS recomienda el uso del enfoque de “Estudio de Dieta Total”, el cual se define como un diseño que representa el patrón de ingesta de contaminantes químicos para una persona que consume una dieta típica (URIETA *et al.*, 1991).

2.1 Dieta Total

2.1.1 Antecedentes sobre el estudio de dieta total. Según la Organización Mundial de la Salud, se realiza un estudio de dieta total para mejorar la inocuidad de los alimentos, ya que existen productos químicos que afectan en muchos aspectos el metabolismo de los seres humanos. La presencia de estas sustancias, las cuales son responsables de una serie de problemas de salud humana, incluso de propiciar o causar el cáncer, disfunciones renales y hepáticas, desequilibrios hormonales, inmunosupresión, enfermedades osteomusculares, y anomalías congénitas. Por consiguiente, una de las funciones esenciales de la salud pública de cualquier país debe ser proteger la dieta en la población frente a estos peligros. Éste es el propósito principal de los estudios de la dieta total (INFOSAN, 2006).

Uno de los aspectos fundamentales es la estimación de la ingesta de contaminantes y nutrientes a través de la dieta y para lograr un doble objetivo: mantener la ingesta de los contaminantes por debajo de los valores considerados como seguros y mantener la ingesta de los nutrientes en los niveles recomendados. Hay países que realizan estimaciones de ingesta desde hace muchos años. La Organización Mundial de la Salud (OMS), reconociendo la necesidad de disponer de datos de este tipo, editó en 1985 una publicación titulada “Orientaciones para el estudio de las ingestas alimentarias de contaminantes químicos” con la que pretendía promover la realización

de estos estudios en todo el mundo, estableciendo criterios homogéneos para permitir la comparación de los resultados (URIETA *et al.*, 1991).

2.1.2 Clasificación de Estudio de dieta total. Un estudio de la dieta total consiste en lo siguiente: se compran al por menor alimentos que se consumen comúnmente; se procesan como si se fueran a consumir; se homogenizan, y se analizan los productos químicos tóxicos y/o determinados nutrientes. Los estudios de la dieta total están diseñados para medir la cantidad promedio de cada producto químico ingerido por diferentes grupos etarios y de sexo que viven en un país o sector determinado. Esos datos son necesarios para evaluar si ciertos productos químicos específicos representan un riesgo para la salud. Para la estimación de la ingesta de contaminantes en la dieta y nutrientes en alimentos se distinguen tres aproximaciones: alimentos individuales, canasta de compra y porción duplicada. El segundo es el más utilizado debido a que presenta una relación costo / beneficio más ventajosa que las otras alternativas (INFOSAN, 2006).

Para la realización de los dos primeros, se necesitan dos tipos de datos: datos sobre consumo de alimentos y datos analíticos sobre los niveles de cada contaminante en los mismos. En ambos casos se seleccionan los alimentos mayoritarios de la dieta, que son adquiridos, preparados para su consumo y analizados. La diferencia está en que en el primero se analizan los alimentos uno por uno y en el segundo los alimentos se reúnen en grupos afines (carne, verduras, etc.) y se analizan los grupos. Es evidente que con el primero se obtiene mucha más información ya que se identifica directamente el alimento o alimentos que más contribuyen a las ingestas de un contaminante o nutriente dado. Además permite la estimación no sólo de las ingestas de la media de la población en general sino de las ingestas por estratos de población definidos (por edad, distribución geográfica, etc.) e incluso permite hacer estimaciones precisas de los valores de las ingestas de los consumidores extremos. El principal inconveniente es el elevado coste que supone su realización y por ello, aunque es el sistema utilizado por algunos países como EEUU, en muchos estudios llevados a cabo en otros países se utiliza el segundo método. Con el método de la canasta de la compra sólo se obtienen las ingestas medias de la población, pero la relación costo/información obtenida es muy ventajosa al reducirse considerablemente el número de análisis necesarios. Permite evaluar tendencias en las ingestas e identificar los grupos de alimentos que más contribuyen a la ingesta de cada contaminante, pero cuando se detectan concentraciones excepcionalmente elevadas en un grupo, es preciso un análisis posterior individualizado de los alimentos que lo componen para localizar el origen de la contaminación. Los estudios de duplicación de raciones consisten en el análisis de una réplica de la ración (diaria) ingerida por los participantes y tienen la ventaja de que no se necesita conocer los patrones de consumo alimentario y el número de análisis es reducido. No obstante, se necesita un gran esfuerzo de los participantes, no siempre fácil de conseguir y no se puede realizar durante periodos de tiempo prolongados. Además parece probado que los patrones alimentarios se modifican durante la prueba. Más que para estudios de consumo "medio", son especialmente útiles cuando se trata de estudiar las ingestas de contaminantes muy concretos en grupos especiales de población (cuya representación en un estudio en que haya que englobar a toda la población sería muy escasa) (URIETA *et al.*, 1991).

2.1.3 Obtención del tamaño muestral. Para que un estudio sea considerado fehaciente, debe cumplir con una etapa de diseño, Para esto es necesario determinar el tamaño muestral de la población en estudio para que los resultados sean representativos. Esto se llevo a cabo mediante Inferencia Estadística, herramienta matemática que nos permite conocer “n” número total de encuestados, con un mínimo de parámetros conocidos. (CONTANDRIOPOULOS, 1991). El no realizar este proceso, puede provocar dos complicaciones: desarrollar el estudio con un número inadecuado de encuestados, lo que conllevaría a una imprecisión en la estimación de los parámetros en análisis, además de no encontrar diferencias significativas cuando en la realidad sí existen. Por otra parte, se puede estudiar un número innecesario de personas, generando una pérdida de tiempo y un gasto extra de recursos.

La formula está dada por:

$$n = \frac{N \times Z_{\alpha}^2 \times p \times q}{d^2 \times (N-1) + Z_{\alpha}^2 \times p \times q}$$

Donde:

N: n^o total de la población

$Z_{\alpha}^2 = 1.96^2$ Coeficiente de seguridad (1.96 correspondiente a una seguridad de un 95%)

d: Precisión que se desea obtener (5%)

p: Proporción esperada (50%= 0.5)

q: 1-p (en este caso 1-0.5 = 0.5)

2.2 Tóxicos

El único factor que determina el grado de nocividad de un compuesto es su dosis. Si una dosis suficiente se introduce en el organismo o entra en contacto con un mecanismo biológico, un efecto nocivo será la consecuencia de que la capacidad de este mecanismo biológico para llevar a cabo una función resulte destruida o seriamente dañada. A medida que aumente la dosis de cualquier agente químico desde niveles mínimos a máximos, no aparecen súbitamente efectos indeseables sino que la respuesta, sea beneficiosa o perjudicial, es gradual y está relacionada con los progresivos cambios en la dosis. Una de las observaciones más fundamentales que puede hacerse con respecto a cualquier efecto biológico de un agente químico es la relación existente entre la dosis (o concentración) y la respuesta obtenida (LOOMIS, 1982).

La palabra “tóxico” debe ser considerada como sinónimo de nocivo o perjudicial. Con respecto a los efectos de las sustancias químicas, ciertamente muchas de ellas son tan “no selectivas” en su acción sobre tejidos o células, que puede decirse que ejercen un efecto indeseable o nocivo sobre toda materia viva. Además estas sustancias pueden ser activas a concentraciones más bien baja. Frente a esto, una determinada sustancia química puede ser lo suficientemente selectiva en su capacidad para

producir un daño, de manera que sólo actúe sobre células específicas. Una sustancia química puede ser nociva para sistemas esenciales presentes en varias especies de organismos, pero capaz de ejercer su efecto perjudicial sólo en unas pocas de estas especies debido a mecanismos protectores presentes en las especies resistentes (LOOMIS, 1982).

La toxicidad es un término relativo comúnmente usado al comparar una sustancia química con otra. Es frecuente afirmar que una sustancia es más tóxica que otra. Tal información es escasamente informativa a no ser que los datos incluyan el mecanismo biológico afectado así como las condiciones en las cuales lo es (LOOMIS, 1982).

Uno de los objetivos perseguidos por Codex Alimentarius, es promover la inocuidad de los alimentos definiéndose como la garantía de que los alimentos no causarán daño al consumidor cuando se preparen y/o consuman de acuerdo con el uso a que se destinan. Estando estos libres de cualquier contaminante que pueda afectar a la salud del consumidor.

2.3 Acrilamida

2.3.1 Antecedentes Generales. Estudios dirigidos en Suecia (2002) mostraron que niveles altos de acrilamida se forman durante el proceso de fritura o cocinado de una variedad de alimentos. Sobre la base de los datos disponibles, se estima que los alimentos contribuyen en forma significativa a la exposición de la población a acrilamida (FAO/WHO, 2002).

2.3.2 Propiedades fisicoquímicas. Acrilamida, clasificada en el año 1994 como "Probable carcinogénico para los humanos" del grupo 2A por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC), (CAS-Nr. 79,06-1) es una molécula relativamente pequeña (FIGURA 1) y muy soluble en agua (CUADRO 2).

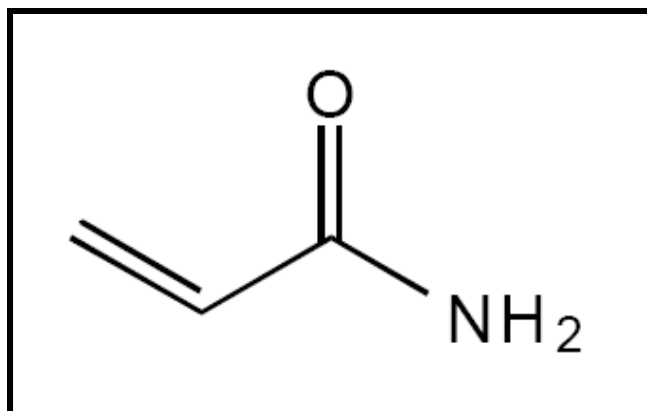


FIGURA 1 Molécula de acrilamida

CUADRO 1 Características químicas de una molécula de acrilamida

Acrilamida	(CH ₂ =CH-CO-NH ₂ ; 2-propenamida)
Peso Molecular	71,08
Punto de Fusión	84,5±0,3 °C
Presión de Vapor Baja	0,007 mm Hg a 25 °C; 0,03 mm Hg a 40 °C; 0,07 mm Hg a 50 °C y 0,14 a 55 °C
Punto de Ebullición	146 °C a 3,3 kPa/25 mmHg
Sinónimos	2-propenamida, etilén carboxamida, amida acrílica, vinil amida, amida del ácido propenoico.

FUENTE: AMREIN (2005).

CUADRO 2 Solubilidad de acrilamida en diferentes solventes

Solventes	g/100 ml a 30°C
Agua	215,5
Metanol	155
Dimetil sulfóxido	124
Dimetil formamida	119
Etanol	86,2
Acetona	63,1
Piridina	61,9
Acetonitrilo	39,6
Etilenglicol monobutil eter	31
Dioxano	30
Etil acetato	12,6

Cloroformo	2,66
1,2-Dicloroetano	1,50
Benceno	0,35
Tetracloruro de carbono	0,038
n-heptano	0,0068

FUENTE: ERIKSSON (2005).

2.3.3 Rutas de formación. Existen muchos trabajos sobre la pérdida del valor nutritivo de los alimentos cuando presentan reacciones de oscurecimiento. La sola condensación azúcar-aminoácido reduce el valor nutritivo de la proteína. Además existe la posibilidad que los compuestos intermedios que se forman durante la reacción de Maillard (FIGURA 3) sean tóxicos para el humano (BADUI, 1984).

La reacción de Maillard es una de las vías más importantes entre las que se tiene lugar en los alimentos. Juega un papel clave en la aparición de pigmentos y de numerosos productos responsables del sabor y olor de los alimentos elaborados. Por otro lado, existe cierta preocupación por las modificaciones negativas del valor nutritivo que pueda producir y por la posible aparición, a su través, de sustancias tóxicas y mutagénicas (WONG, 1995).

Acrilamida es un sólido cristalino blanco, una molécula pequeña y simple. Se forma en los alimentos calentados a través de varios mecanismos diferentes que pueden incluir reacciones de carbohidratos, proteínas y aminoácidos, lípidos y posiblemente otros componentes menores de los alimentos. Algunas de las posibilidades que se proponen son, formación a través de acroleína, o ácido acrílico que puede provenir de la degradación de lípidos, carbohidratos o aminoácidos libres, Formación mediante la deshidratación/descarboxilación de ciertos ácidos orgánicos comunes incluyendo ácido málico, ácido láctico y ácido cítrico y formación directa a partir de aminoácidos (FIGURA 2) (FAO/OMS, 2002).

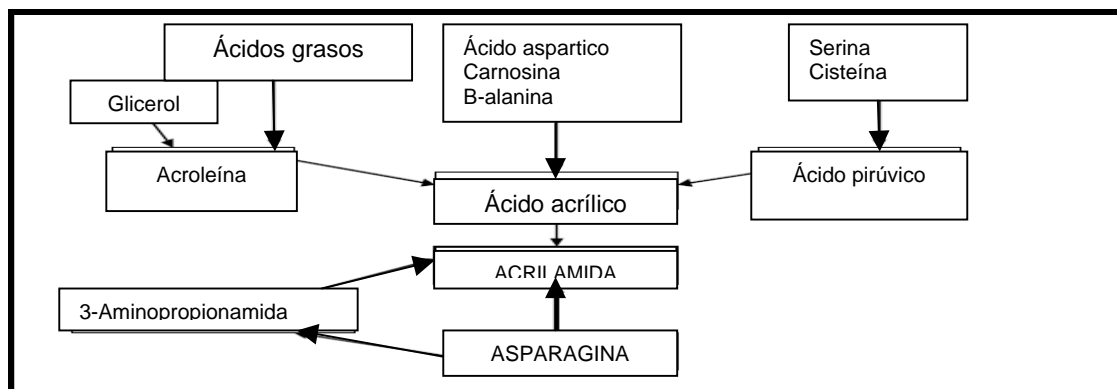


FIGURA 2 Rutas de formación de acrilamida

FUENTE: ERIKSSON (2005).

Como aún no se han informado estudios sistemáticos, no hay evidencias para identificar alguna ruta específica de formación, ni para excluir ninguna posibilidad. La acrilamida también podría provenir de fuentes no alimentarias. Es muy probable que haya una cantidad de mecanismos de reacción involucrados, dependiendo de la composición del alimento y de las condiciones de procesamiento. Esto hace difícil por el momento sacar conclusiones sobre la influencia de diversos procesos alimentarios o brindar recomendaciones sobre cómo minimizar los niveles de acrilamida. Las pocas observaciones que se han hecho indican que la temperatura y la duración del procesamiento con calor son factores importantes. Los niveles de acrilamida aumentan muy marcadamente con el tiempo. De modo similar, se ha informado un incremento de 10 a 20 veces en los niveles de acrilamida entre papas fritas cocidas y excesivamente cocidas. En contraposición, no se ha demostrado formación de acrilamida con temperaturas inferiores a 120°C. La formación de acrilamida parece ser un fenómeno de superficie y el contenido de agua también puede ser un factor importante. En estos dos casos, hay también similitudes con las reacciones de Maillard, al dorarse los alimentos cuando se los calienta (FAO/OMS, 2002).

Estudios recientes sugirieron que la acrilamida en alimentos se deriva principalmente de las reacciones inducidas por calor entre el grupo amino del aminoácido libre asparagina y los grupos carbonilos de los azúcares reductores como glucosa, durante el proceso de cocinado o fritura. Alimentos ricos en estos dos precursores, son principalmente derivados de fuentes como papas y cereales (cebada, arroz, el trigo) y aparentemente no de carne, pescado y pollo (ZHANG *et al.*, 2005).

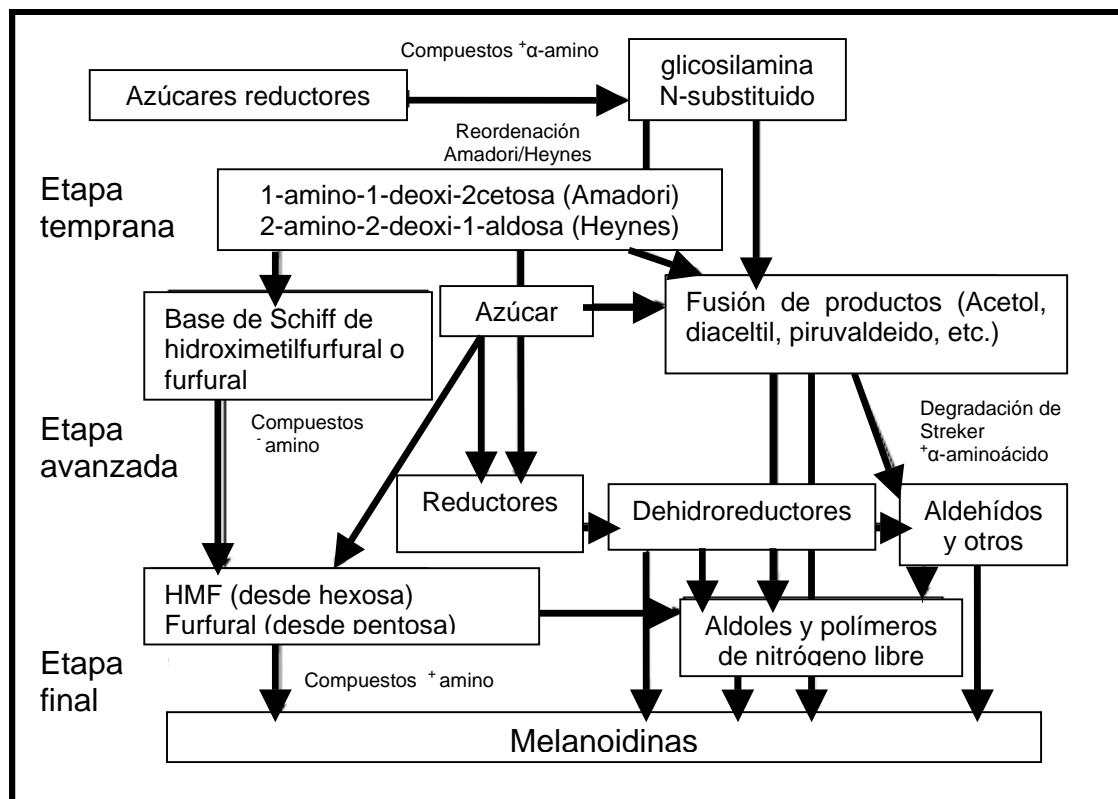


FIGURA 3 Reacción de Maillard

FUENTE: ERIKSSON (2005).

2.3.4 Importancia de la asparagina. Uno de los principales precursores de acrilamida es la asparagina (FIGURA 4), apoyado por varios indicios. Las cadenas laterales de la molécula de asparagina y acrilamida se parecen. Desde un punto de vista estequiométrico, la descarboxilación y desaminación de asparagina llevarían a la formación de acrilamida. Se han encontrado cantidades altas de acrilamida en papas y productos de papas fritas, donde se conoce que contienen grandes cantidades de asparagina libre. La asparagina libre también se encuentra en otras plantas comestible, incluso cereales que podrían explicar la presencia de acrilamida en comida calentadas (AMREIN, 2005).

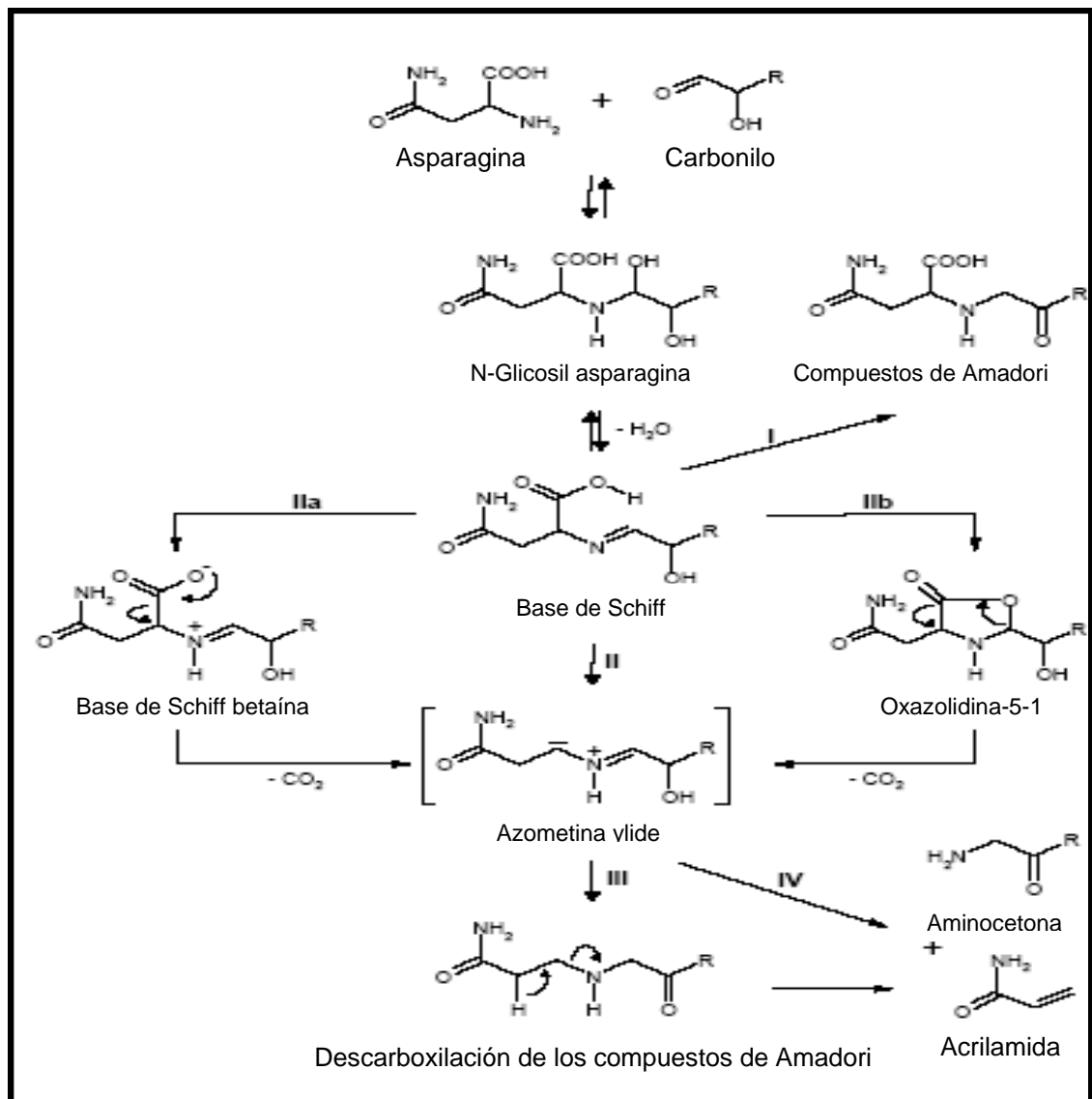


FIGURA 4 Formación de acrilamida a partir de asparagina en presencia de α -hidroxicarbonilos
FUENTE: STUDER et al., (2004).

Las primeras evidencias concretas sobre el origen de la acrilamida en los alimentos que involucraban a la asparagina se publicaron en el año 2002 por varios grupos de investigadores, que trabajaron de forma independiente en los Estados Unidos, Canadá, Suecia, Alemania e Inglaterra. Utilizando asparagina marcada con nitrógeno radioactivo y posterior detección por espectrometría de masa, se demostró que los tres carbonos del esqueleto y la amida que forman la acrilamida corresponden a la molécula de asparagina. En la FIGURA 5 se ilustra un esquema simplificado con las moléculas iniciales y los precursores que se han propuesto para la formación de acrilamida en los alimentos. Se encontró que a altas temperaturas, la descarboxilación y desaminación de la asparagina producía acrilamida. Sin embargo, otros estudios no detectaron formación de acrilamida al someter asparagina por sí sola a altas temperaturas. Finalmente, se estableció que la formación de acrilamida requería la presencia de azúcares reductores y temperaturas sobre 100°C. Esto llevó a la conclusión de que la formación de acrilamida está íntimamente ligada a la bien conocida reacción de Maillard (VALENZUELA *et al.*, 2007).

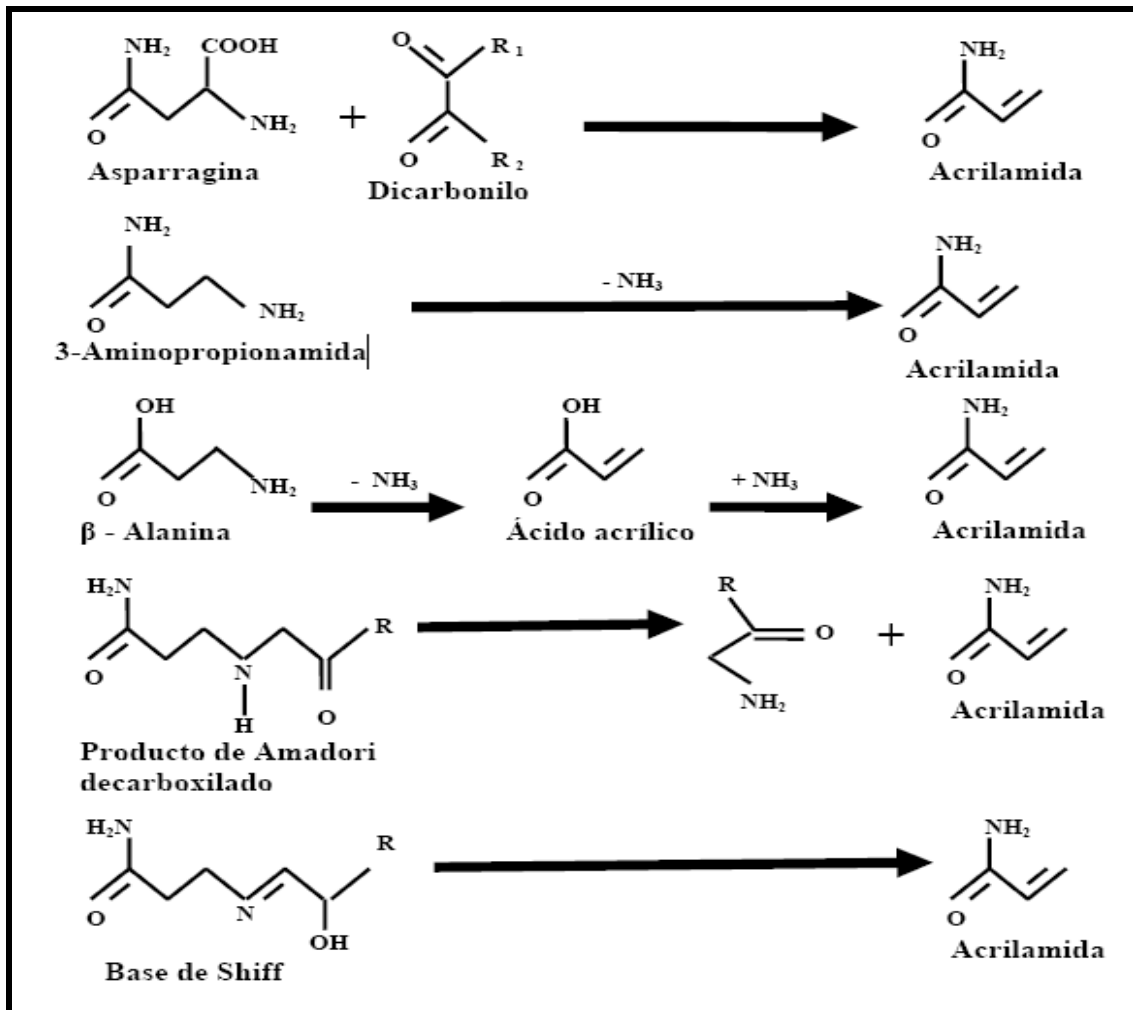


FIGURA 5 Moléculas iniciales y precursoras para la formación de Acrilamida en los alimentos

FUENTE: Valenzuela (2007).

2.3.5 Usos actuales en la sociedad. Acrilamida ($\text{CH}_2=\text{CHCONH}_2$) es un químico industrial importante usado desde mediados de los años cincuenta como un intermediario químico en la producción de poliacrilamida que se usa como floculante para clarificar el agua y otras aplicaciones industriales (FAO/WHO, 2002).

También se emplea para realizar materiales de poliacrilamida. Es el monómero a partir del cual la poliacrilamida es sintetizada. Este polímero de gran peso molecular puede ser modificado para desarrollar propiedades aniónicas o catódicas para usos específicos. El principal uso de la poliacrilamida es en el tratamiento del agua potable y aguas de consumo, con la finalidad de eliminar partículas sólidas y otras impurezas. Se emplea también para el tratamiento de aguas residuales de las industrias. La poliacrilamida empleada en el tratamiento de aguas no debe contener más de un 0,05% del monómero residual. El polímero se une con las partículas del agua y forma fuertes agregados que rápidamente se eliminan dejando una solución clara. También se emplea en materiales de construcción y en la fabricación de pegamentos, papel, cosméticos, para aumentar la recuperación de aceite, como espesante, en agentes acondicionadores del suelo, aguas residuales y procesado de minerales. La acrilamida también se emplea en la elaboración de tintes y como copolímeros en las lentes de contacto. Se incorpora en el cemento para ralentizar el proceso de deshidratación y así aumentar la fuerza estructural. La acrilamida y la poliacrilamida se emplean también para la producción de plásticos. Antes de descubrirse la presencia de altos niveles de acrilamida en alimentos cocinados a altas temperaturas, el agua de bebida y el humo del tabaco eran consideradas las principales fuentes de esta sustancia. Del 10 al 30% de la producción anual de poliacrilamida es destinada al proceso de recuperación de aceite. En la industria de la pasta de papel, la poliacrilamida se emplea para retener los pigmentos de las fibras del papel. La industria papelera consume aproximadamente el 20% del volumen anual de poliacrilamida (JIMÉNEZ *et al.*, 2007).

Utensilios domésticos, materiales de construcción y partes de los automóviles están revestidas con resinas de acrilamida. La acrilamida también se emplea en las formulaciones de cosméticos y en jabones como agente espesante y también en las fijaciones dentales, en productos para el cabello y lociones para el afeitado. En la industria textil la poliacrilamida se utiliza para hacer las prendas más resistentes a las arrugas. La acrilamida se usa en menor medida para espesar el látex, estabilizar emulsiones, agente ligante en los pegamentos y para los geles en las cromatografías y en las electroforesis (JIMÉNEZ *et al.*, 2007).

La FDA (Food and Drugs Administration) ha regulado el uso de acrilamida y poliacrilamida en los alimentos. El agua con más de 10 mg/L de poliacrilamida puede ser empleada para lavar o pelar frutas y vegetales, pero el monómero de acrilamida no debe exceder del 0,2%. Las resinas de acrilamida que se pueden añadir al agua como vapor, pueden contactar con los alimentos, por lo que el monómero no debe exceder del 0,05% en peso. La poliacrilamida se puede emplear en las cápsulas de gelatina si el monómero no está presente en una cantidad superior al 0,2%. Los polímeros de acrilamida también pueden ser utilizados en los envoltorios o envases de los alimentos. En este caso la cantidad de monómero de acrilamida tampoco deba superar el 0,2% del peso del papel (JIMÉNEZ *et al.*, 2007).

2.4 Acrilamida en los alimentos

Una proporción sustancial de los alimentos que se consume se somete previamente a tratamientos térmicos. Este tratamiento ofrece considerables ventajas. Aparte de los efectos físicos, como el ablandamiento, el cocinado representa una eficaz medida protectora contra los microorganismos vehiculizados por los alimentos y contra muchas toxinas. Por desgracia no podemos suponer de un modo automático que la aplicación del calor a los alimentos sea un procedimiento enteramente inocuo (FIGURA 7) (COULTATE, 1998).

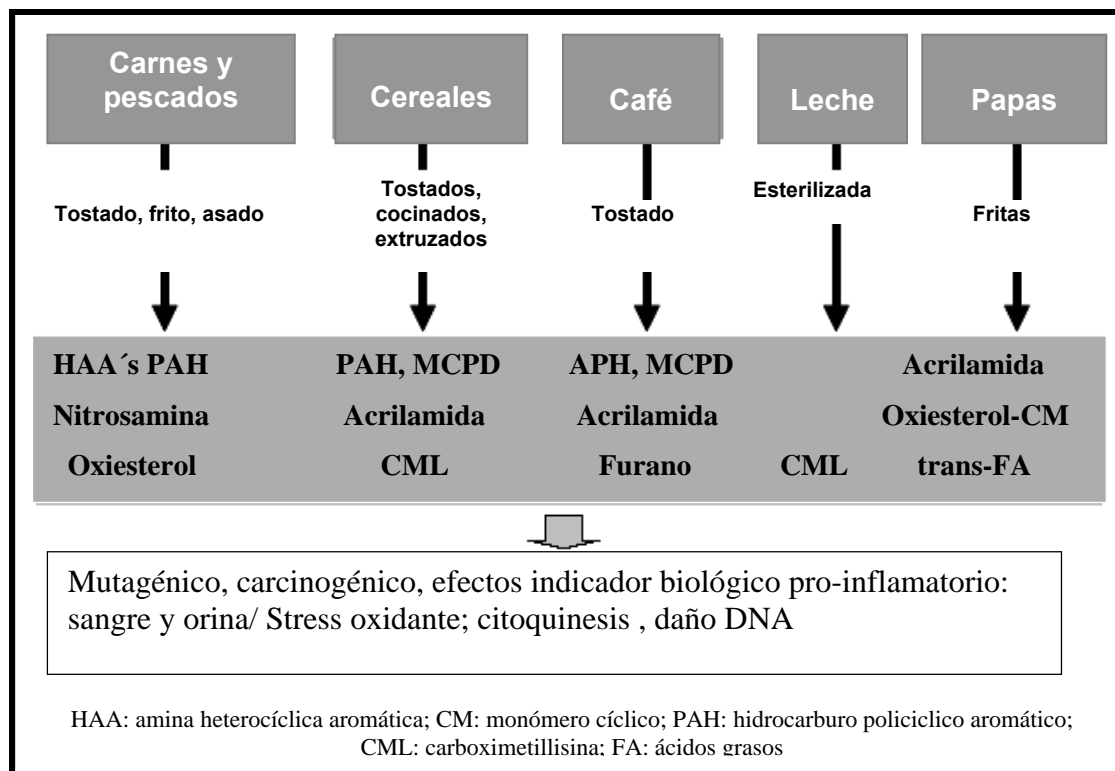


FIGURA 6 Formación de compuestos durante la aplicación de calor tanto en la cocina como en la industria.

FUENTE: STUDER (2004).

Investigaciones recientes han puesto de manifiesto valores elevados de acrilamida principalmente en aquellos alimentos que incorporan almidón en su composición y que han sido sometidos a un tratamiento térmico a altas temperaturas. La formación de acrilamida aumenta a medida que aumentan la temperatura y el tiempo de tratamiento al que es sometido el alimento. La temperatura óptima de formación es entorno a los 180 °C aunque a partir de 120 °C se favorece su formación (ORTIZ, 2004).

La presencia de acrilamida en los alimentos cocidos tiene una relación causal con el glifosato (herbicida no selectivo de amplio espectro). Recientemente en un encuentro cerrado de un comité de la Organización Mundial de la Salud (OMS) se examinaron los hallazgos de significativos niveles de acrilamida en vegetales cocidos. La atención

que recibió este descubrimiento se debe al hecho que la acrilamida es una potente toxina nerviosa y puede afectar la salud reproductiva masculina, además de causar malformaciones congénitas en humanos y cáncer en animales. La oficina de prensa de la OMS enfatizó que este hallazgo había causado gran sorpresa entre la comunidad y que el contaminante probablemente pudiera provenir de los alimentos cocinados. No se informó que la poliacrilamida también es un aditivo conocido en mezclas comerciales de herbicidas con el objeto de reducir la deriva en el rociador y actuar como surfactante (SMITH y OCHME, 1996).

2.4.1 Grupos de alimentos con concentraciones importantes de acrilamida. Según un estudio realizado por OMS en 5 países (CUADRO 3) Noruega, Suecia, Suiza, Reino Unido y Estados Unidos, en el año 2002, se determinaron los niveles de acrilamida en diferentes alimentos y grupos de estos.

CUADRO 3 Niveles de acrilamida en diferentes alimentos y grupos alimenticios

Alimentos Grupo de Productos	Niveles de Acrilamida (µg/kg)			
	Media	Mediana	Mínimo- Máximo	Nº de muestras
Papas/ fritas en rodaja	1312	1343	170 – 2287	38
Chips/papas	537	330	<50 – 3500	39
Productos a base de mantequilla	36	36	<30 – 42	2
Productos de repostería	112	<50	<50 – 450	19
Bizcochos, galletas, tostadas	423	142	<30 – 3200	58
Cereales para el desayuno	298	150	<30 – 1346	29
Copos de maíz	218	167	34 – 416	7
Pan blando	50	30	<30 – 162	41
A base de pescados y mariscos	35	35	30 – 39	4
Carnes blancas	52	52	39 – 64	2
Bebidas instantánea de malta	50	50	<50 - 70	3
Chocolate en polvo	75	75	<50 – 100	2
Café en polvo	200	200	170 – 230	3
Cerveza	<30	<30	<30	1

FUENTE: FAO/OMS (2002).

Se halló acrilamida en casi todos los productos alimenticios analizados hasta el momento, de ahí surge la posibilidad de que podría haber acrilamida en otros productos alimenticios no analizados todavía. Los niveles promedio más elevados de acrilamida se encontraron en las papas fritas en rodajas y en bastones; sin embargo, había una gran variación, desde no detectable a 3,5 mg/kg de producto (FAO/OMS, 2002).

2.4.2 Exposición a la acrilamida. La exposición de la acrilamida representa un 20% de exposición total, la que se atribuye tiempo v/s procesos. Por consiguiente, las condiciones de cocción, pueden influenciar la formación de la acrilamida. Los resultados de la exposición en diversos países se resumen en el CUADRO 4 (OTLES, 2004).

CUADRO 4 Resultados de las valoraciones de la exposición de acrilamida en diversos países

Estimación de la exposición de Acrilamida (mg/kg pc*/día)	
Suecia	0,54–0,62 (17–70 años)
Noruega	Hombres: 0,53 (16–79 años)
	Mujeres: 0,50 (16–79 años)
Países Bajos	0,48- 0,6 (1–97 años)
	1,04-1,1 (1–6 años)
	0,71-0,9 (7–18 años)
Francia	0,5-1,1 (>15 años)
	1,4-,2,9 (2–14 años)

* peso corporal, basado en un peso estándar de 65 kg.

FUENTE: OTLES (2004).

2.5 Efectos de la acrilamida en la salud humana

La acrilamida es neurotóxica en humanos, muy conocido en exposiciones profesionales y accidentales. Además, los estudios experimentales con acrilamida en animales han mostrado que este compuesto es genotóxico y posee propiedades carcinogénicas (FAO, 2002).

La acrilamida se obtuvo por primera vez en Alemania en el año 1893. Sin embargo, no fue sino hasta principios de 1950 cuando se inició su producción a escala industrial en Estados Unidos. A mediados de los años cincuenta se observó que los trabajadores expuestos a acrilamida desarrollaban alteraciones neurológicas características, asociadas principalmente con dificultades posturales y motoras. Los síntomas descritos fueron: hormigueo en los dedos, sensibilidad al tacto, enfriamiento de las extremidades, sudoración excesiva de las manos y de los pies, una alteración característica del color de la piel de las extremidades hacia un tono rojo azulado y una tendencia a la descamación de la piel de los dedos y de las manos. Todos estos síntomas se acompañaban de debilidad en las manos y en los pies, que dificultaba la marcha, la subida de escaleras, etc. (GUÍA DE PRODUCTOS QUÍMICOS, 2007).

La recuperación, en general, se consigue con sólo cesar la exposición a la sustancia. El tiempo necesario para la recuperación varía entre unas pocas semanas y un año. El examen neurológico de las personas que padecen intoxicación por acrilamida muestra una neuropatía periférica típica con disminución o abolición de los reflejos tendinosos, una prueba de Romberg positiva (prueba de caída en cualquier dirección), pérdida del sentido postural, disminución o pérdida del sentido de vibración, ataxia y atrofia de los músculos de las extremidades. Tras la identificación del conjunto de síntomas

asociado con la exposición a la acrilamida, se llevaron a cabo estudios con animales de experimentación para intentar documentar estos cambios (GUÍA DE PRODUCTOS QUÍMICOS, 2007).

2.5.1 Metabolismo y reactividad

2.5.1.1 Metabolismo. La acrilamida es rápidamente absorbida por la mucosa y la piel, si se inhala, es ampliamente distribuida por los pulmones y el cuerpo en todas las especies animales hasta ahora investigadas (ratas, ratones, perros, cerdos). La acrilamida pasa a la sangre, y por ser hidrosoluble se difunde uniformemente en todo el cuerpo. En ratones se ha mostrado acumulación de acrilamida y sus metabolitos en el órgano reproductor de machos (testículos) y distribuido rápidamente al feto en desarrollo de hembras embarazadas. Según investigaciones realizadas también se encuentra presente en la leche de ratas lactantes tratadas. La acrilamida es oxidada a glicidamida (FIGURA 8), el candidato aparente para su oxidación es el citocromo P450, que oxida alcoholes y es inducido por etanol (CARERE, 2006).

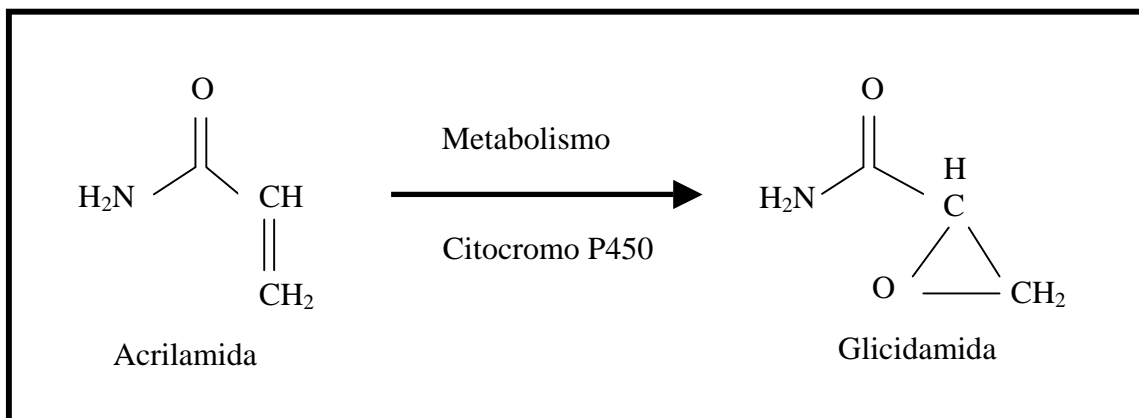


FIGURA 7 Metabolismo de la acrilamida a glicidamida.
FUENTE: MASSON (2007).

El principal metabolito de la acrilamida, la glicidamida, es un epóxido que puede ser más crítico por presentar propiedades carcinogénicas y genotóxicas en los animales que el compuesto madre. Por otra parte, la acrilamida, más que la glicidamida, probablemente sea la responsable de su potencial neurotóxico. La ruta metabólica principal de acrilamida es cualitativamente similar en los humanos y en los animales de laboratorio, sin embargo, deben considerarse las diferencias cuantitativas al evaluar el riesgo para los humanos. Para el rango de dosis utilizado en estudios de toxicidad en animales, el grado de conversión del compuesto madre a glicidamida está inversamente relacionado con la cantidad de acrilamida en el organismo, cuanto menor sea la dosis, mayor la proporción que se convierte en glicidamida. Debido a que el metabolismo y la eliminación incluyen canales con una variabilidad genética (por ej., conjugación y metabolismo mediado por P450), puede haber variaciones en la sensibilidad de los humanos a los efectos de la acrilamida ingerida (FAO, 2002).

2.5.1.2 Reactividad. Como se ha mostrado en la FIGURA 7, la acrilamida es un compuesto bastante simple. Tiene una unión α - β doble insaturado y esto hace que imparta mucha de su actividad. Una importante consecuencia de su actividad es la conversión metabólica a glicidamida, un metabolito del epóxido muy reactivo con compuestos electrofilicos (ADN). Hay una segunda reacción importante; se llama reacción de Michael en la que el carbono β reacciona con nucleofilicos (ej., proteínas). Estas dos reacciones son importantes porque ellos explican los blancos primarios de la acrilamida (proteínas) y de glicidamida (ADN). Dentro de las proteínas, el grupo sulfhidrilo de cisteína es el principal sitio de reacción, a pesar de que también hay reacción en menor grado con los grupos amino, como los de la posición N-terminal de la proteína (CARERE, 2006).

2.5.2 Carcinogénesis, genotoxicidad y neurotoxicidad. Se sabe que ocurren efectos tóxicos sobre el sistema nervioso de humanos y animales, y sobre los órganos reproductores masculinos de las ratas después de dosis orales únicas de acrilamida que son iguales o mayores a cuatro a cinco órdenes de magnitud superiores a la ingesta diaria estimada de acrilamida en los alimentos (1-10 $\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{día}$ proveniente de alimentos, contra más de 100 000 $\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{día}$) (FAO, 2002).

Estudios de toxicidad reproductiva con roedores demostraron una reducción de la fertilidad y efectos letales adversos en la morfología de un número de espermias en machos con dosis de acrilamida mayores de 7 $\text{mg}/\text{kg pc}/\text{día}$. En hembras, no existe un efecto adverso en la fertilidad observado (FAO, 2005).

En el CUADRO 5 se observa el nivel sin efectos observables de acrilamida en roedores estimados por la FAO.

CUADRO 5 Niveles sin efectos observables establecidos (NOEL) de acrilamida basados en estudios experimentales con roedores

EFFECTOS	NOEL $\text{mg}/\text{kg pc}/\text{día}$
Alteraciones morfológicas en el sistema nervioso	0,2
Desarrollo de Neurotoxicidad	10
Efectos reproductivos	2

FUENTE: JECFA, FAO/WHO (2005)

2.5.2.1 Datos en animales. La acrilamida es carcinogénica en bioensayos de ratas estándar de laboratorio de 2 años, se encontró mayores incidencias de tumores benignos y malignos identificados en diversos órganos (por ejemplos tiroides, adrenales, y túnica vaginales). Dos estudios independientes separados, han confirmado este fenómeno aparece con una dosis 2 $\text{mg}/\text{kg pc}/\text{día}$, administrada en el agua potable. También hay una indicación de tumores en el cerebro, médula espinal, y en otros tejidos. En una serie de bioensayos no estandarizados sobre carcinogenicidad en ratones, la acrilamida indujo tumores de pulmón y de piel (FAO, 2002).

2.5.2.2 Datos en humanos. Se han llevado a cabo estudios epidemiológicos en más de 8.000 trabajadores expuestos a acrilamida en plantas de producción de monómeros y polímeros durante 1925–1976. Una evaluación realizada en 1983 no reveló riesgos excesivos estadísticamente significativos de cáncer en ningún órgano, y no se observó ninguna tendencia en mortalidad por cáncer al aumentar la exposición acumulada. Los datos de esta cohorte fueron luego actualizados para el período 1984 – 1994, y nuevamente no se observaron riesgos excesivos de cáncer estadísticamente significativos, con la única excepción de cáncer de páncreas para el cual se halló una duplicación del riesgo en los trabajadores más expuestos. El poder estadístico de este estudio fue adecuado para detectar una incidencia de exceso de cáncer de cerebro, un aumento del 40% de cáncer de páncreas, un 15% de aumento de cáncer de pulmón, y un 9% de aumento de todos los cánceres combinados. Todos los estudios epidemiológicos tienen un poder limitado para detectar pequeños aumentos en la incidencia de tumores. Por lo tanto, la falta de resultados positivos hallados en la mayoría de los estudios sobre acrilamida no puede ser interpretada como prueba de que la sustancia no puede inducir cáncer en humanos. Los niveles de exposición en este estudio están expresados como concentraciones en el aire, multiplicadas por la duración de la exposición (por inhalación). La exposición dérmica, que también tuvo posibilidad de ocurrir, no fue cuantificada. Es difícil comparar la ingesta diaria resultante con los niveles de acrilamida que se han medido en los alimentos (FAO, 2002).

2.6 Estimaciones de ingesta

En el año 2002 la FAO estimó que las ingestas promedio de la población general están en el orden de 0,3 a 0,8 μg de acrilamida/kg pc/día. Las ingestas alimentarias de acrilamida pueden ser varias veces superiores al promedio en el caso de algunos consumidores. Debido a las preocupaciones sobre la salud pública y el riesgo de la exposición dietaria a acrilamida, fue sostenida una promulgación por FAO/WHO en junio del 2002 sobre las implicaciones para salud debido a la presencia de acrilamida en alimentos. La ingesta alimentaria crónica promedio estimada en humanos está en el orden de 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ pc/día (FAO, 2002).

En el año 2005 JECFA estimó un ingesta de acrilamida entre 0,3 y 2,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ pc/día para consumidores medios, considerando datos de 17 países de todas las regiones con excepción de América Latina y África. Para los grandes consumidores, cuyos hábitos difieren ampliamente de la media, la estimación de la ingesta varía de 0,6 a 3,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ pc/día, pudiendo llegar a 5,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ pc/día. Los datos disponibles indican que los niños presentan valores de ingesta de acrilamida de 2 a 3 veces mayores que los de consumidores adultos, ya que están expresados en base al peso corporal. Un resumen de evaluación toxicológica promulgado por FAO en Roma entre los días 8- 17 de febrero del año 2005 determinó que los márgenes de ingesta al consumidor medio es de 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ pc/día de acrilamida (asumiendo un peso corporal de 60 kg) y 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ pc/día de acrilamida para representar a consumidores extremos (FAO/WHO, 2005).

En la ausencia de niveles tolerables de acrilamida el JECFA señaló los alimentos que más contribuían a la exposición de acrilamida en diferentes países estos son: papas fritas (16-30%), batatas chips (6-46%), café (13-39%), productos de panificación (10-

20%), pan (10-30%). Otros alimentos contribuían menos que 10% a la exposición total de acrilamida (FAO, 2005).

Muchos autores han estimado los valores de ingesta potencial diaria para la población en alimentos o grupos de alimentos que más contribuyen a la ingesta de acrilamida, de acuerdo con los hábitos alimenticios de cada país, el CUADRO 6 muestra los diferentes resultados obtenidos en diferentes países (PAVESI y DE FIGUEIREDO, 2006).

CUADRO 6 Ingesta potencial diaria de acrilamida en diferentes países.

Ingesta de acrilamida (ug/kg pc/día)			
País	Consumidores Medios	Consumidores Extremos	Referencia
Francia	0,5	2,9	AFSSA (2003)
Alemania	1,1	3,4	BfR (2003)
Australia	0,4	1,5	CROFT et. al. (2004)
Noruega	0,32	1,35	DYBING & SANNER (2003)
EEUU	0,43	2,31	JISFAN (2004)
Holanda	0,48	1,1	KONINGS et. al. (2003)
Bélgica	0,51	1,09	MATTHYS et. al. (2005)
Suiza	0,28	-	SOPH (2002)
Suecia	0,45	1,03	SEVENSSON et. al. (2003)
Reino Unido	0,3	1.8	UK FSA (2005)

FUENTE: PAVESI et al., (2006).

El límite permisible de acrilamida en aguas aptas para beber establecido por la Unión Europea es de 0,1 µg/L de agua; por lo tanto, las cantidades de acrilamida que pueden ser detectadas en los alimentos como consecuencia de los envases o en el agua potable son insignificantes en comparación con los que se generan durante la fritura o el horneado. Los datos del estudio realizado por la Food and Drugs Administration (FDA) de Estados Unidos revelan que no se ha encontrado acrilamida en quesos procesados, leche o helados analizados. Pero si en distintas galletas saladas, que son la merienda de muchos niños, contienen un alto índice de la misma sustancia. En cambio, algunas comidas preparadas con pavo y verduras contienen muy poca. Ciertos alimentos muy habituales en la dieta infantil de Norteamérica, como la mantequilla de mani y las galletas de chocolate, también incluyen acrilamida en su composición, zumos preparados y las aceitunas negras. Los estudios de monitoreo indican que la acrilamida forma parte del 27,7 % de los alimentos en la compra promedio norteamericana (INFANZÓN, 2005).

Algunos estudios han demostrado que después de 8 horas de haber ingerido 100 g de papas fritas con 800 µg de acrilamida, una mujer lactante secretó leche con ese tóxico en concentración de 3,17 mg/ml. Otros estudios realizados en vacas lecheras demostraron que la acrilamida suministrada en la dieta, es rápidamente metabolizada y menos del 1% de la dosis ingerida es excretada en la leche. Los escasos trabajos

llevados a cabo en leche no permiten predecir si su consumo podría tener alguna asociación con el desarrollo de algún tipo de cáncer en humanos (VEGA *et al.*, 2007).

2.7 Prácticas recomendadas para reducir su formación

Según la Comisión de Codex Alimentarius existen tres estrategias principales para reducir la formación de acrilamida en un determinado producto

- a) Materias primas: Reducir los niveles de asparagina y/o azúcares reductores en las materias primas
- b) Control/adición de otros ingredientes: Reducir la concentración efectiva de asparagina y/o azúcares reductores durante las primeras fases de la elaboración de los alimentos mediante el control/adición prudente de otros ingredientes, y
- c) Elaboración y tratamiento térmico de los alimentos: Modificación/control prudente de la elaboración de los alimentos y el perfil térmico de la cocción, para reducir al mínimo las condiciones que producen calor excesivo y escasa humedad.

2.7.1 En papas

a) Materias primas: La concentración de azúcares reductores es el factor más importante relacionado con las materias primas, que puede utilizarse en la práctica para influir en la formación de acrilamida en papas y productos a base de estas. Existe una fuerte correlación entre el contenido de azúcar reductor y la formación de acrilamida a través de la cocción en las papas. Además, la concentración de azúcares reductores ejerce un efecto mayor sobre los niveles finales de acrilamida que la concentración de asparagina. Toda una serie de factores influye sobre los niveles de azúcar reductor, como las condiciones climáticas, la temperatura y el tiempo de almacenamiento, el tiempo de reacondicionamiento, el tamaño de los tubérculos, y el porcentaje de utilización de fertilizantes.

El almacenamiento de las papas a temperaturas inferiores a 9 y 10 °C incrementa la formación de azúcares reductores. Generalmente, los tubérculos se endulzan si se almacenan a estas temperaturas, algunos son menos propensos que otros a endulzarse a bajas temperaturas.

Cuando las papas que han estado almacenadas a bajas temperaturas se reacondicionan durante unas semanas a temperaturas más elevadas (p.ej., 12 – 25 °C), el contenido de azúcar reductor se reduce de nuevo, si bien no a los niveles antes de su almacenamiento.

b) Control/adición de otros ingredientes: Se ha demostrado que la adición de la enzima asparaginasa reduce la asparagina y por consiguiente los niveles de acrilamida en los productos elaborados a base de papas. Pese a que el tratamiento de asparaginasa todavía no se comercializa, dos empresas han presentado informes a la FDA de Estados Unidos de que el uso de la asparaginasa en determinados alimentos está reconocido generalmente como inocuo.

c) Elaboración y tratamiento térmico de los alimentos: Los niveles de acrilamida en las papas fritas o asadas se pueden reducir también disminuyendo la superficie; por

ejemplo cortando las papas en rodajas más gruesas o eliminando las partes delgadas antes o después de freírlas (CODEX ALIMENTARIUS, 2003).

Lavar, escaldar o precocer son procedimientos que pueden aplicarse para extraer la asparagina o azúcar reductor de la superficie de la papa antes de cocinarla, como se ha demostrado con las rodajas de papas. Escaldar es un procedimiento normal en la elaboración de papas fritas para regular los niveles de azúcar en la superficie del producto. Pero debe observarse que el escalado excesivo puede afectar negativamente al aroma y textura. Los niveles de acrilamida en las papas crujientes se pueden reducir controlando la aplicación de calor. Freír al vacío puede brindar una oportunidad para reducir los niveles de acrilamida en las papas crujientes elaboradas con papas con alto contenido en azúcar. El enfriamiento rápido de las papas que se fríen en un instante puede reducir también los niveles de acrilamida en el producto final (CODEX ALIMENTARIUS, 2003).

La práctica de remojar las papas en una solución azucarada para dar a los productos precocidos un color dorado uniforme debería evitarse, porque el azúcar de esta sustancia puede incrementar la formación de acrilamida (CODEX ALIMENTARIUS, 2003).

2.7.2 En cereales

a) Materias primas: En el caso de los cereales y los productos elaborados con cereales, como el pan, las galletas y los cereales para el desayuno, el contenido de asparagina es la materia prima determinante más importante en la formación de acrilamida. Se dispone de poca información sobre el contenido de asparagina en los diversos cereales. Por lo común, la concentración de asparagina puede oscilar entre 75 a 2200 mg/kg en el trigo, 50 a 1400 mg/kg en la avena, 70 a 3000 mg/kg en el maíz, 319 a 880 mg/kg en el centeno, y de 15 a 25 mg/kg en el arroz. Este nivel de variación indica que puede haber un margen para reducir la acrilamida aprovechando la variabilidad de asparagina. Las harinas ligeras contienen bastante menos asparagina que las harinas integrales. Sin embargo, si se reduce el contenido de harina integral se reducen las ventajas nutritivas del producto final.

b) Control/adición de otros ingredientes: En la producción de galletas se suele utilizar agentes leudantes, que por lo general consisten en una combinación de sodio y carbonato ácido de amonio. A través de análisis de modelos de productos horneados y pan de jengibre se ha demostrado que la presencia de carbonato ácido de amonio incrementa considerablemente la formación de acrilamida en las galletas y en otros productos de horneados. Por tanto, los fabricantes deberían considerar reducir si es posible los agentes leudantes que contienen amonio.

En la producción de galletas se acostumbra a utilizar azúcar (sucrosa, glucosa, fructosa y/o jarabe de maíz con alto contenido en fructosa) para dar color y sabor. De estos azúcares, sólo la glucosa y la fructosa son azúcares reductores. Si en un contenido total de azúcar se incrementa la proporción de azúcar reductor en la receta, en el producto acabado aparecen niveles más altos de acrilamida. Además, se forman concentraciones mayores de acrilamida si el azúcar reductor es fructosa en vez de glucosa. Por tanto, siempre que sea posible, los fabricantes deberían reducir al mínimo el empleo de azúcares reductores en la producción de galletas. Alternativamente, una

opción efectiva podría ser sustituir la fructosa por glucosa; cuando se necesite jarabe de glucosa (que en Norteamérica se conoce también por jarabe de maíz), el nivel de fructosa debería ser lo más bajo posible.

Otros ingredientes menores también pueden influir. Se ha observado que en algunas recetas la formación de acrilamida aumenta cuando se incorporan ingredientes como jengibre, miel y cardamomo durante la producción de galletas. Por el contrario, se ha visto que en algunos casos la nuez moscada hace disminuir la acrilamida. A fin de reducir los niveles de acrilamida en los productos finales, los fabricantes podrían investigar el efecto de las distintas especias en sus propias recetas.

c) Elaboración y tratamiento térmico de los alimentos: La fermentación con levadura de las masas de trigo para elaborar pan reduce el contenido de asparagina libre. La fermentación durante dos horas consume casi toda la asparagina contenida en modelos de masa de harina de trigo, pero una fermentación más breve es menos eficaz.

La medida de la formación de acrilamida durante el horneado depende mucho del tiempo y la temperatura que se utilicen, y del contenido de humedad del producto durante el horneado. Por regla general, a mayor contenido de agua menor será la formación de acrilamida. La formación de acrilamida puede reducirse modificando el tiempo y la temperatura del proceso de horneado, en particular reduciendo la temperatura en las últimas etapas, cuando el producto llega a la fase decisiva y vulnerable de poca humedad. Compensar mediante el aumento de la temperatura en las primeras fases del horneado no debería producir un aumento considerable de acrilamida, ya que en esos momentos el contenido de humedad es suficientemente grande como para prevenir la formación de acrilamida. También se forma acrilamida al tostar el pan, pero esto puede reducirse considerablemente tostado menos el pan, hasta darle un color más claro (CODEX ALIMENTARIUS, 2003).

2.7.3 En café. La investigación reciente indica que la asparagina posiblemente sea el principal factor determinante de la formación de acrilamida en el café. Debido a que en la torrefacción del café se utilizan temperaturas más elevadas.

La investigación de los medios de formación de acrilamida en el café revela que ésta se forma rápidamente en las primeras etapas de tostado, y que después esos niveles disminuyen mucho hacia el final del proceso de tostado debido a la descomposición o volatilización. Los estudios también han demostrado que la acrilamida no es estable en el café en polvo en envases cerrados durante períodos prolongados y se están investigando los mecanismos de base que podrían ofrecer oportunidades para reducir en el futuro la formación de acrilamida. Con todo, es probable que cualquier cambio en el método de tostado o un almacenamiento deliberadamente prolongado para reducir la concentración de acrilamida repercutan mucho en las propiedades organolépticas y en la aceptación del producto (CODEX ALIMENTARIUS, 2003).

2.8 Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC)

La cromatografía líquida de alta eficacia es la técnica analítica de separación ampliamente utilizada dada su sensibilidad, su fácil adaptación a las determinaciones cuantitativas exactas, su idoneidad para la separación de especies y, sobre todo, su gran aplicabilidad a sustancias que son de primordial interés en la industria, así como en muchos campos de la ciencia y para la sociedad en general. Algunos ejemplos de estos materiales incluyen: aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, hidrocarburos, carbohidratos, fármacos, terpenoides, plaguicidas, antibióticos, esteroides, especies órgano-metálicas y una variedad de sustancias inorgánicas (SKOOG, 2001).

El sistema HPLC está compuesto por varios componentes con funciones definidas independientemente representadas e interrelacionadas entre sí, los componentes son insertos en un marco común para formar una unidad integrada. Los componentes dentro del sistema HPLC son interconectados por pequeños segmentos trasladados en cañerías con un diámetro interno pequeño (0,1 mm). Comúnmente construidos por acero. También pueden hacerse cañerías de PEEK® (polietercetona) coloreado, un polímero flexible que es menos caro fabricar que el acero y es resistente a los solventes comunes bajo presiones elevadas (sobre 350 bar). Estos componentes que conforman un equipo de HPLC son: solvente (fase móvil), bomba, inyector, columna, detector y computador (ROUESSAC y ROUESSAC, 2000).

Varios métodos cromatográficos han sido desarrollados para la determinación y la detección de acrilamida en alimentos. Estos ensayos están basados en principios diferentes como cromatografía gaseosa (GC) y cromatografía líquida (HPLC). Para la confirmación de estos compuestos a menudo se realiza por cromatografía de gases o cromatografía líquida acoplada con detección por espectrometría de masa (ZHANG *et al.*, 2005).

2.9 Métodos Propuestos en literatura

Según lo señalado por Bologna *et al.* (1999); Castle (1993); Epa (1996); Tekel *et al.* (1989) citado por MASSON *et al.*, (2007), en los últimos años, se han desarrollado numerosos métodos para determinar el monómero de la acrilamida, especialmente en agua, líquidos biológicos y alimentos crudos (azúcar, cultivos de campo, setas). La mayoría son métodos clásicos basados en la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) o en la cromatografía de gases. Sin embargo, debido a la complejidad de las matrices de los alimentos, estos métodos no son suficientes para el análisis de la acrilamida en alimentos procesados. Particularmente, carecen de analito requerido, para confirmar la presencia de una molécula tan pequeña como la acrilamida, en la compleja matriz del alimento.

El primer método propuesto por Rosén y Hellenäs (2002) y citado por MASSON L. *et al.*, (2007) de análisis de la acrilamida en diversos alimentos cocidos y procesados se publicó en Mayo de 2002 y se basa en el uso de la dilución isotópica en cromatografía líquida acoplada a la espectrometría de masas (LC-MS/MS). Desde entonces, se han publicado en revistas científicas o se han presentado en las reuniones internacionales, varios métodos analíticos que describen la determinación de acrilamida en alimentos procesados. Estos métodos se basan principalmente en el empleo de la espectrometría de masas (MS) como la técnica predominante, antecedido de una separación mediante cromatografía líquida, propuesto por Ahn *et al.*, (2002); Tareke *et*

al., (2002) citado por PAVESI y FIGUEIREDO (2006). Método utilizando un análisis por HPLC LC-MS o cromatografía de gases donde el analito se derivatiza propuesto por Gertz **et al.** (2002); Höfler **et al.** (2002); Ono (2003); Tareke **et al.** (2002), o, se analiza directamente, Biedermann **et al.** (2002); Tateo y Bononi (2003) citado por GOKMEN **et al.**, (2005).

También se han propuesto métodos analíticos para la determinación de Acrilamida, como es el caso de ZHOU **et al.**, (2007) el cual utilizo un método por electroforesis capilar. El método propuesto por BAGDONAITE y MURKOVIC (2004) es una técnica para la determinación de Acrilamida en diferentes tipos de café en grano mediante HPLC con detección UV a 202 nm.

3. MATERIALES Y METODOS

En Chile se desconoce hasta el momento cuales son los contenidos habituales de acrilamida, en los alimentos consumidos por la población, no encontrándose ningún antecedente al respecto en literatura, por lo cual también se desconoce el nivel de exposición (ingesta) que se tiene de este compuesto. Por otra parte las costumbres culinarias varían mucho de un país a otro, tanto en el tipo de alimentos como en procesos utilizados para su preparación así como también en la frecuencia en que los alimentos son consumidos, por lo cual, no se pueden utilizar estudios realizados en otros países, para determinar el riesgo en localidades o regiones de nuestro país.

El propósito principal de esta investigación fue determinar la ingesta de acrilamida en la ciudad de Valdivia (Región de los Ríos), para ello se desarrolló y validó una metodología analítica para la determinación cuantitativa de este tóxicos en los alimentos habitualmente consumidos por la población en estudio. Los alimentos que se abordaron en la presente investigación son, aquellos en que se determino su mayor consumo por parte de la población, estos datos se obtuvieron a partir de una encuesta recordatoria de 24 horas, la cual fue aplicada en la ciudad de Santiago, en el trabajo de MUÑOZ *et al.*, (2005), la cual será aplicada a un universo representativo de la comunidad a estudiar. El número de encuestados será determinado estadísticamente mediante estimación del tamaño muestral con varianza no conocida utilizando un nivel de confianza de 0,5 y un error de muestreo de 0,05 (FERNANDEZ, 1996), para la ciudad de Valdivia según el censo de 2002 (INE, 2005), presenta una población de 140.559 habitantes lo que implica un tamaño muestral de 382 encuestas.

Utilizando la información proporcionada por la encuesta, se establecieron todos los alimentos que forman parte de la dieta típica y la proporción en que cada uno de ellos aporta a dicha dieta (g/persona/día). Seguidamente se formaron grupos de alimentos de acuerdo a sus semejanzas. Aquellos alimentos que su consumo fue muy alto formaron por sí mismo un grupo aparte. Esta metodología está adaptada de acuerdo a lo propuesto por MUÑOZ *et al.*, (2005).

3.1 Ubicación del estudio

El estudio se enfocó principalmente en la ciudad de Valdivia, los análisis se realizaron en el laboratorio de Producción Animal y laboratorios del Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICyTAL), ambos pertenecientes a la Facultad de Ciencias Agrarias, de la Universidad Austral de Chile. Los recursos para la realización de esta investigación se obtuvieron del proyecto DID S-2007-35

3.2 Material

El material utilizado en este estudio fueron muestras de diferentes alimentos, compradas en lugares de consumo habitual de los habitantes de Valdivia.

Almacenadas a temperatura de congelación, protegidas de la luz, en envases plásticos.

Los equipos de laboratorio utilizados fueron un Cromatógrafo Líquido de Alta Precisión marca MERCK-HITACHI, modelo LichroGraph L-6200 A Intelligent pump, detector UV-VIS modelo L-4250; columna: LiChroGART® 250-y- RP-18e (5µm); la integración de los picos cromatográficos se realizó mediante el Software Clarity Lite; agua desionizada grado HPLC (18 MΩ cm⁻¹); Centrífuga Modelo: Super miniStar High Speed Centrifuge; baño termostático marca Memmert; balanza analítica marca Swiss Quality, Modelo Precisa 120A; Estándares de acrilamida y metacrilamida se obtuvieron desde SIGMA-ALDRICH todos los reactivos químicos utilizados fueron de grado analítico o de mayor calidad

3.3 Metodología

Todo procedimiento, análisis y evaluación de este trabajo, se ha basado en protocolos y estudios similares realizados a nivel mundial, adaptándolos a las condiciones y equipos disponibles.

3.3.1 Dieta Total en la Ciudad de Valdivia. La metodología a utilizar (FIGURA 9) correspondió al esquema de un Estudio de Dieta Total, para ello, se diseñó y se realizó una encuesta nutricional recordatoria de 24 horas, en la cual se determinaron los alimentos más consumidos y la proporción en que cada uno de estos alimentos formó parte de la dieta total (ANEXOS 1 y 2).

Para llevar a cabo este estudio fue necesario cumplir con los siguientes pasos:

1. Aplicación de un estudio de dieta total mediante una encuesta recordatoria de 24 horas.
2. Los alimentos mencionados en dicha encuesta son transformados a g/persona/día.
3. Preparación de la lista de los alimentos más consumidos por la población en estudio.
4. Adquisición de dichos alimentos mediante el sistema de canasta de compra en los lugares habituales de compra de la población.
5. Análisis de cada uno de los grupos para determinar la presencia de acrilamida.
6. Determinación de la ingesta total de la población mediante la evaluación de resultados.

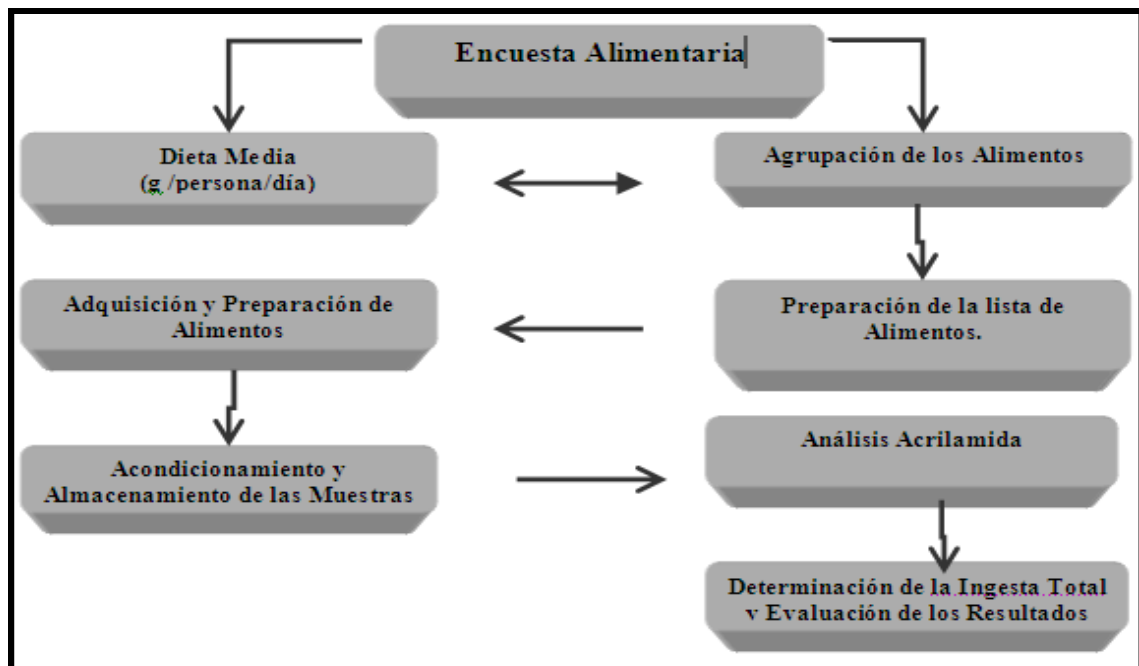


FIGURA 8 Esquema aplicado a la obtención de datos en base a los hábitos comunes en la ciudad de Valdivia "Estudio de Dieta Total".

3.3.2 Obtención de los datos de consumo. Como ya se señaló se aplicó una encuesta recordatoria de 24 horas (ANEXO 2), mediante la cual se obtuvieron los datos de consumo alimenticio de la población en estudio. Esta encuesta fue llevada a cabo en la ciudad de Valdivia, capital regional de la Región de los Ríos, Chile, entre los meses de abril a septiembre de 2007, para una muestra representativa que corresponde a una población que supera las 140.000 personas. Para la toma de encuestas estas se realizaron a estudiantes y funcionarios de la Universidad Austral, a personas que transitaban en el centro y mall de la ciudad, también fueron tomadas puerta a puerta, de manera que la población encuestada fuese al azar.

Por lo tanto:

$$n = \frac{N \times Z_{\alpha}^2 \times p \times q}{d^2 \times (N-1) + Z_{\alpha}^2 \times p \times q}$$

$$n = \frac{140.559 \times 1.96^2 \times 0.5 \times 0.5}{0.05^2 \times (140.559 - 1) + 1.96^2 \times 0.5 \times 0.5}$$

$$n = 382$$

Se obtuvo el número de encuestados para la población total de Valdivia de 382 personas, representando el 0,27% de la población total, en la encuesta no se distinguió entre edades ni clase social.

3.3.3 Tratamiento al material de laboratorio. Todo el material de laboratorio tanto nuevo como usado luego de ser lavado será enjuagado con agua ultra pura ($18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$), y secado a temperatura ambiente protegido del polvo. Todos los reactivos a utilizar serán de la mayor pureza obtenible en el mercado.

3.3.4 Sistema de adquisición de las muestras. Para evaluar la seguridad alimentaria de los productos alimenticios, es necesario partir de una toma de muestra que abarque la mayor variedad posible de los alimentos que constituyen la dieta media de la población encuestada. Los alimentos que forman la canasta de la compra, fueron obtenidos de los lugares habituales de venta al público, evitando la repetición de los sitios de muestreos, y en lo posible las marcas de los alimentos.

Las muestras una vez adquiridos se remitieron inmediatamente al laboratorio para su procesamiento, y las mismas fueron sometidas a diferentes procesos culinarios (cocinado, pelado, lavado, etc.), luego los alimentos fueron dosificados en la proporción que ellos forman parte de la dieta promedio (CUADRO 13) y combinados con los otros alimentos perteneciente a sus respectivos grupos afines. Cada grupo de alimento por muestreo se preparó en duplicado.

El muestreo fue realizado por la autora de este estudio junto con un grupo de tesis que ocupaban el mismo estudio con otros fines de análisis, todos cumpliendo una pauta para que la compra cumpliera con los objetivos perseguidos por esta investigación. La descripción de las principales características de los alimentos y de los establecimientos donde fueron adquiridos, se recogió en la llamada "lista de alimentos", gracias a la cual pueden rastrearse posibles resultados anómalos (ANEXO 4).

3.4 Elaboración

Una vez comprados los alimentos, éstos fueron trasladados a las dependencias de nuestro laboratorio (laboratorio Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos), donde se habilitó un laboratorio especialmente acondicionado para este fin. Aquí, se llevaron a cabo los procesos que se realizaron en los alimentos desde su recepción hasta que las muestras estuvieron listas para ser analizadas.

3.4.1 Productos que se consumen cocinados. Las muestras fueron procesadas, descartándose las partes no comestibles, y fueron cocinados como habitualmente ellos se consumen. Las técnicas culinarias a utilizar fueron; cocinado al vapor/agua, frito, por horno microonda y por horno convencional, el agua utilizada en estas preparaciones fue ultrapura ($18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$). Sin embargo, ha de tenerse en cuenta que para poder identificar los contaminantes aportados por cada grupo de alimentos, es preciso no realizar mezclas de estos grupos. Por ello, aunque se procuró reflejar los métodos tradicionales de preparación de cada alimento, éstos nunca se frieron en aceite, ni cocinaron junto con otros ingredientes, y sólo se les añadió agua destilada cuando fue necesario. Es decir, el cocinado se tradujo en la práctica en una operación térmica, que puede ir acompañada de adición de agua destilada, y separación posterior de las porciones comestibles.

3.4.2 Conservas. A estas muestras se les drenó el líquido de cobertura. En el caso de las muestras cuyo líquido de cobertura es aceite (atún, bivalvos, y otros productos), las muestras fueron drenadas y luego puestas sobre dos trozas de papel filtro y prensadas con los mismo de manera de extraer la mayor cantidad de aceite posible.

3.4.3 Muestras de consumo fresco. En este caso las muestras fueron preponderantemente de vegetales, ellas fueron lavadas para quitar restos de polvo y de impurezas, para ello se utilizó agua destilada, seguida por un enjuague final con agua grado reactivo ($18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$). Se seleccionaran las partes comestibles y se desecharan las porciones no comestibles.

3.4.4 Contra muestras. Se hizo acopio de una cantidad apropiada de todas las muestras individuales de alimento, tanto crudo como cocinado.

3.4.5 Acondicionamiento y almacenamiento de las muestras. Cuando los alimentos de cada grupo ya estuvieron preparados, se procedió a pesar en balanza analítica, la cantidad correspondiente de cada uno de ellos, según su contribución a la dieta media y la cantidad de cada grupo que se necesita para el análisis (CUADRO 13). Se reunieron y se homogeneizaron en una trituradora de alimentos (Minipimer, Moulinex), dividiéndose la cantidad total del grupo en diferentes recipientes. Las muestras, finalmente, fueron guardadas bajo congelación a -18°C hasta su análisis.

3.5 Análisis de acrilamida

Los análisis de acrilamida de los diferentes grupos de alimentos fueron realizados por Cromatografía Líquida de Alta Precisión (HPLC). Para desarrollar, implementar y validar metodologías analíticas rápidas para la determinación de acrilamida en alimentos, se comenzó a probar cual será la metodología apropiada para la finalidad del trabajo, para esto, se revisaron diferentes paper de métodos de extracción, se modificaron y acomodaron a los materiales disponibles. Se comenzó con muestras de papas fritas envasadas con la finalidad de probar cual de todas las metodología será la apropiada para los posteriores análisis de los grupos de alimentos compuestos por la dieta total valdiviana.

3.5.1 Preparación de la muestra. La muestra (1g), se pesó en tubo falcon en una balanza analítica marca Swiss Quality. Se añadieron a la muestra 5 ml de estándar interno de una solución de 1 ppm (con la finalidad de obtener una concentración final de metacrilamida en la solución de 100 ppb), transcurridos 10 minutos, se adicionó 10 ml de agua grado HPLC. Luego la muestra se calentó a 60°C por 30 minutos en un baño termorregulado. La muestra se dejó enfriar, se agitó por 10 min en un vortex y se agrego 2 ml de solución de Carrez I y II respectivamente, luego se enrazó el tubo falcon hasta 50 ml, se agitó en vortex por 10 minutos, se dejo decantar por toda una noche con la finalidad de obtener un sobrenadante más limpio, al día siguiente se rescató el sobrenadante y se trasfirió a un tubo eppendorf para luego ser centrifugado a 12000 rpm por 5 minutos. La preparación de blancos se realizó siguiendo el procedimiento indicado para las muestras.

CUADRO 7 Parámetros instrumentales y experimentales para la determinación de acrilamida por HPLC.

Fase móvil:	5% acetonitrilo + 95% agua desionizada
Flujo:	1 ml/min
Columna:	RP-18e (5µm)
Detección:	UV
Longitud de onda:	210 nm
Temperatura:	Ambiente
Modo:	Isocrático

3.5.2 Preparación de los estándares y curva de calibración. Los estándares tanto para el patrón como para el estándar interno se prepararon mezclando junto con la solución de Carrez I y II en un matraz de 50 ml enrazado con agua grado HPLC, en las diferentes concentraciones (CUADRO 8).

La curva de calibración se realizó de la siguiente manera: cada muestra a una concentración determinada se analizó 6 veces, obteniendo de ella 6 curvas para la razón acrilamida/metacrilamida (ANEXO 11).

CUADRO 8 Parámetros, curva de calibración de acrilamida.

nº muestras	Concentración Acrilamida (ppb)	Concentración Metacrilamida (ppb)	Solución Carrez* I y II (ml)
1	10	100	2 c/u
2	25	100	2 c/u
3	50	100	2 c/u
4	75	100	2 c/u
5	100	100	2 c/u

* Solucion de carrez I corresponde a ferrocianuro de potasio al 15%

Solucion de carrez II corresponde a acetato de zinc al 30%

CUADRO 9 Condiciones cromatográficas para la curva de calibración.

Fase móvil:	5% acetonitrilo + 95% agua desionizada
Flujo:	1 ml/min
Columna:	RP-18e (5µm)
Detección:	UV
Longitud de onda:	210 nm
Temperatura:	Ambiente
Volumen de inyección:	20 µl

3.5.3 Límite de decisión y capacidad de detección. El límite de decisión, es aquel a partir del cual se puede concluir con una probabilidad de error α que una muestra es detectada (ANEXO 12). Capacidad de detección, contenido mínimo de la sustancia que puede ser detectado, identificado o cuantificado en una muestra, con una probabilidad de error β . (ANEXO 13), en este caso el límite de decisión fue de 2 ppb (FIGURA 9), esta cantidad de patrón se le agrega a la muestra más el estándar interno (100 ppb metacrilamida y Carrez I y II) con un número de repeticiones igual a 20. $cc\beta = cca + 1.64\sigma$ de las 20 repeticiones expresado como concentración. Dando como límite de detección 3,0 ppb.

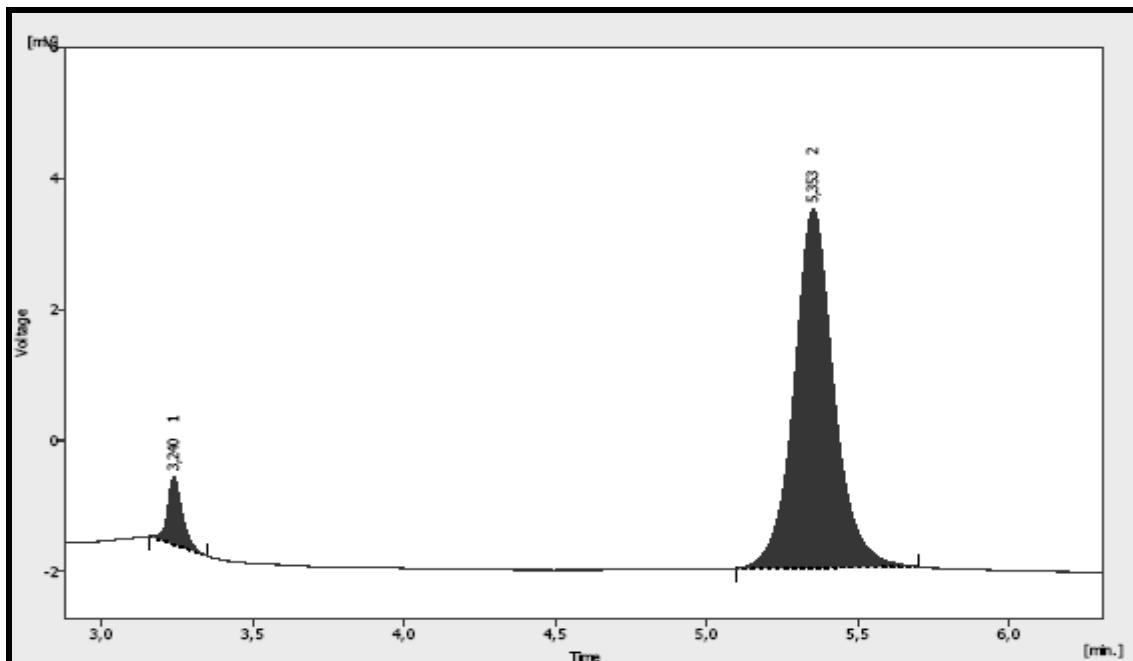


FIGURA 9 Cromatograma obtenido para determinar el límite de detección (acrilamida 2ppb; metacrilamida 100 ppb)

3.5.4 Validación. Para validar la metodología se determinó la precisión y exactitud. La precisión describe la reproducibilidad de los resultados (ANEXO 15), la concordancia entre los valores numéricos que se han determinado de la misma forma, la forma habitual de expresar la precisión es mediante el coeficiente de variación. La exactitud describe si el resultado experimental es correcto expresándose como % de recuperación, que corresponde a la diferencia entre el valor obtenido (media) y el valor verdadero (CUADRO 10).

CUADRO 10 Características analíticas de la metodología para la determinación de Acrilamida.

Límite de decisión^a, cca	cca (Concentración)	2,0 ng/g _{instrumental} 100 ng/g _{metodológico}
Capacidad de detección^b, ccβ	ccβ (Concentración)	3,0 ng/g _{instrumental} 150 ng/g _{metodológico}
Precisión^c (%)	Sin adición acrilamida Con adición acrilamida Con adición acrilamida (diluido)	0,623 4,065 4,060
Exactitud^d (%)	Con adición de Acrilamida Con adición Acrilamida (diluido)	95,5 ± 4 110,1 ± 4

^a Límite de decisión: se utilizaron 6 curvas a diferentes concentraciones (10, 25, 50, 75 y 100 ppb)

^b Límite de detección: se utilizaron 20 análisis de una muestra con una adición de 2 ppb de Acrilamida y 100 ppb de metacrilamida

^c Precisión: Desviación típica relativa de tres análisis independientes. Sin y con adición de patrón (100 ppb acrilamida y 100 ppb metacrilamida)

^d Porcentaje de recuperación expresado como (media/desviación típica) de tres análisis independientes.

En la FIGURA 10 se muestra el cromatógrama obtenido en la muestras de pan horneado sin adición de patrón y con adición de patrón (1000 ppb acrilamida + 100 ppb metacrilamida + 2 ml Carrez I y II).

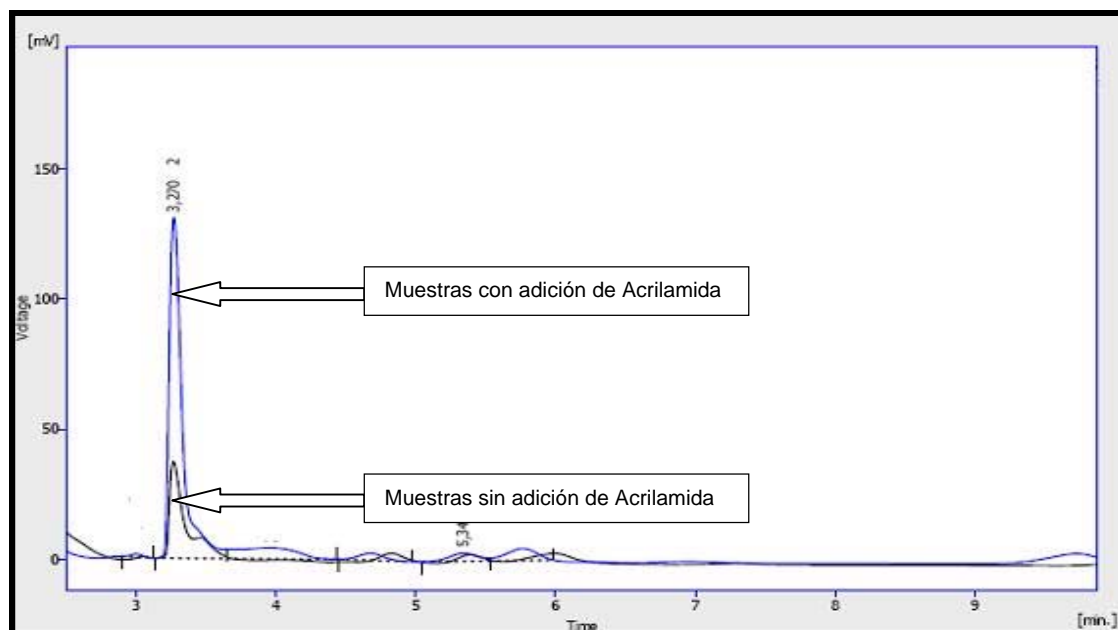


FIGURA 10 Ejemplo de análisis, utilizando una muestra de pan horneado, con y sin adición de patrón.

3.5.5 Control de calidad en los análisis de muestras. Este es un aspecto fundamental en la aplicación rutinaria de un método analítico. En el presente trabajo, esta labor se ha realizado incluyendo el análisis de blancos y patrones de 100 ppb en cada tanda de análisis. Si los valores obtenidos para las muestras se sitúan dentro del intervalo, el proceso de medida está bajo control y los resultados obtenidos para las muestras cumplen los requisitos de calidad y por lo tanto son considerados válidos (ANEXO 18).

3.6 Determinación de ingesta de acrilamida

La ingesta de los contaminantes se determinó mediante el cruce de los datos de consumo de alimentos obtenidos y las determinaciones analíticas de los contenidos de acrilamida, en los mismos alimentos. Los resultados de ingesta por grupos individuales se sumaron para obtener la ingesta total (ANEXO 17).

3.7 Tratamiento estadístico de los resultados obtenidos

Los resultados, tanto de los contenidos de acrilamida, como de las ingesta, provenientes de los diferentes grupos de alimentos individuales, fueron comparados mediante las herramientas estadísticas. Estos análisis permitirán determinar cuáles son los grupos de alimentos que presentan un mayor aporte de acrilamida.

4. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Mediante la metodología analítica desarrollada para la determinación de acrilamida se obtuvo una capacidad de detección de 3,0 ng/g. En aquellas muestras donde la concentración del analito en estudio es menor a la capacidad de detección, se determinó tomar el valor como igual a cero, para fines de cálculo de la ingesta.

Los resultados obtenidos de esta etapa fueron comparados con los valores internacionales de referencia (FAO, 2005).

4.1 Estudio de dieta total: Grupos de población estudiados.

De acuerdo con las recomendaciones de la OMS, un estudio de contaminantes en la dieta debe reflejar la ingesta de contaminantes de población, así como en otros grupos de población que tengan, o puedan tener, patrones de consumo diferentes.

Este trabajo se realizó en la ciudad de Valdivia, donde se estudio la ingesta promedio de alimentos de la población tomando un muestra de 382 personas sanas de 18 a 80 años, representado un 59,7% el sexo femenino y un 40,3% el sexo masculino, entre los meses de abril y septiembre del año 2007 (CUADRO 11).

CUADRO 11 Análisis antropométrico promedio de la ciudad de Valdivia

Grupo de población	Promedio de edad (años)	Promedio peso corporal (kg)	Promedio Estatura (m)
Hombres	33	76,59	1,72
Mujeres	34	63,23	1,60
Total Promedio	34	69,91	1,66

Es importante conocer el peso corporal de la población promedio para así poder determinar la ingesta promedio de acrilamida ingerida por la población en estudio, en nuestro caso el peso promedio de la población fue de 70 kg, el cual no se aleja de resultados internacionales en el estudio de dieta total, y nos demuestra que la población valdiviana se encuentra en un rango de peso promedio.

4.2 Resultados obtenidos en el estudio de Dieta total

4.2.1 Agrupación de los alimentos. A partir de la encuesta recordatoria se logró identificar 274 alimentos los que, por similitud química y/o física, fueron seleccionados y divididos en 17 grupos (ANEXO 3).

4.2.2 Preparación de lista de alimentos. Los 274 alimentos, identificados en la recopilación de datos de consumo de la encuesta alimentaria, se redujeron a 132 (CUADRO 12). Esta reducción se llevó a cabo mediante el uso del método de agregación, el cual se basa en la determinación de aquellos alimentos que aporten

menos del 2% (ANEXO 7 y 8) en peso con respecto al peso total del grupo, los que luego son eliminados de la lista, sin embargo, su peso es adicionado a otro alimento del grupo que tenga semejanza en composición, lo mismo ocurre con aquellos alimentos que, si bien aportan más del 2% al grupo en peso, son muy similares a otro alimento del grupo. En este estudio y, como una forma de minimizar el sesgo de los resultados, se eligieron los primeros 3 alimentos de cada grupo que aportan menos del 2% en peso de ellos, y a su vez no se hubiesen agregado a otro alimento integrante del grupo, siendo cada uno de ellos utilizado en uno de los tres muestreos a realizar, su peso representará a todos estos alimentos minoritarios, vale decir, su peso será igual a la suma de éstos. Luego de realizado este procedimiento, se procede a confeccionar la llamada guía de compras (ANEXO 4), lista que contiene los alimentos que finalmente serán adquiridos en el mercado.

4.2.3 Cuantificación de datos de encuesta. La transformación de los datos obtenidos en las encuestas se realizó, utilizando como referencia el Manual de Porciones de Intercambio y Composición Química de los Alimentos de la Pirámide Alimentaria Chilena (JURY *et al.*, 1997), esta guía permitió obtener los resultados de los datos de consumo de alimentos en gramos, (ANEXO 5). Los alimentos fueron clasificados siguiendo la pauta establecida por MUÑOZ *et al.*, 2005. Algunos alimentos, aún teniendo el mismo origen, se han incorporado en diferentes grupos por afinidades en composición, como la mantequilla que se ha incluido en el grupo de los aceites y grasas y no en el de derivados lácteos, por su alto contenido en materia grasa.

CUADRO 12 Guía de compra de los alimentos constituyentes de la dieta total de la población de Valdivia (los alimentos que se muestran de color rojo representan aquellos que su consumo es inferior al 2%)

N°	Alimento	N°	Alimento	N°	Alimento	N°	Alimento	N°	Alimento	N°	Alimento	N°	Alimento	N°	Alimento
	Pan		Azúcar		Carnes	50	Gaseosas	67	Mantequilla		Leguminos		Vegetales	119	Castaña
1	Hallulla	19	Pasteles	34	Vacuno	51	Jugos env	68	Margarina	84	Lenteja	101	Tomate	120	Piña
2	Amasado	20	Azúcar	35	Pollo	52	Mineral	69	Ace. de oliva	85	Choclo	102	Lechuga	121	Ciruelas
3	Integral	21	Chocolate	36	Cerdo	53	Te	70	Manteca	86	Porotos	103	Palta	122	Membrillo
4	Marraqueta	22	Mermelada	37	Pavo	54	Café	71	Maravilla	87	Arvejas	104	Arvejas	123	Mandarinas
5	Molde	23	Alfajor	38	Guatita	55	Mate			88	Mani	105	Zapallo		
6	Pita	24	Papa frita	39	Pana				Pesc/marisc	89	Nueces	106	Cebolla		Aliños
7	Baguette	25	Turrón				Beb.Alc.	72	Merluza			107	Port.verdes	124	S. Tomate
					Derv. Carnic	56	Cerv.rubia	73	Atun		Deriv. Lact.	108	Zanahorias	125	Sopa fideos
	Cereales		Leche	40	Mortadela	57	Cerv.negra	74	Salmon	90	Yogurt	109	Betarraga	126	Sopa espár
8	Arroz	26	Entera	41	Longaniza	58	Vino tinto	75	Robalo	91	Q. Chanco	110	Pepino	127	Sopa verdu
9	Pastas	27	Saborizadas	42	Pate	59	Vino Blanco	76	Tacas	92	Q. Gauda	111	Coliflor	128	Sal
10	G. Choco.	28	Polvo	43	Jamon	60	Malta	77	Jurel	93	Quesillo	112	Apio	129	Mostaza
11	G. Soda	29	Descrema	44	Vienesas	51	Chicha	78	Mix mariscos	94	Helado			130	Sals.boloñ
12	G. Obleas	30	Cultivada	45	Hamburg.	62	Ron	79	Pejerrey	95	Semola/leche		Frutas	131	Orégano
13	Sopaipillas	31	Semidescrem	46	Salame	63	Pisco	80	Choritos	96	Arroz/leche	113	Manzana		
14	H. De trigo	32	Condensada	47	Mort.Jamon.	64	Ponche	81	Piures	97	Flan	114	Durazno		Huevos
15	G. Salvado			48	Salchichón			82	Hamburgues	98	Crema	115	Naranja	132	Huevo
16	H.tostada		Papas				Gras y ac.	83	Jaibas	99	Manjar	116	Limón		
17	Calz rotos	33	Papas		Beb. No alc	65	Mayonesa			100	Q crema	117	Plátano		
18	Picarones			49	Agua	66	Aceite veg.					118	Pera		

Tras obtener los datos necesarios de la guía de compra se procedió a realizar el muestreo correspondiente, estos alimentos fueron adquiridos en diferentes supermercados de la ciudad de Valdivia, así como también en ferias típicas de la ciudad ej. Feria Fluvial (ANEXO 4)

En el CUADRO 13 se puede apreciar el aporte en gramos de cada alimento, para el posterior análisis.

CUADRO 13 Aporte (gramos/persona/día) de cada alimento en la dieta total y % de cada uno para el posterior análisis

PAN		%	CARNES		%
Pan blanco	173,8	71,1	Vacuno	47,8	61,7
Pan amasado	44,2	18,1	Pollo	18,1	23,3
Pan integral	11,5	4,7	Cerdo	8,6	11,1
Pan marraqueta	9,8	4,0	Pavo	1,7	2,2
Otros	5,0	2,0	Otras carnes	1,3	1,7
Total 244,3		100,0	Total	77,5	100,0
CEREALES			DERIVADOS CARNICOS		
Arroz	44,3	42,6	Mortadela	8,8	21,9
Pastas	21,9	21,0	Longanizas	8,0	19,9
Galletas	17,9	17,2	Pate	6,9	17,1
Sopaipillas	10,2	9,8	Jamón	6,5	16,2
Harina de trigo	4,4	4,2	Vienesas	6,0	14,9
Galletas de salvado de trigo	2,3	2,2	Hamburguesas	3,5	8,6
Otros	3,0	2,9	Otros	0,6	1,4
Total 104,0		100,0	Total	40,4	100,0
AZÚCARES			BEBIDAS NO ALCOHOLICAS		
Pasteles	30,4	45,3	Agua	331,6	61,5
Edulcorantes	14,4	21,5	Bebidas gaseosas	103,0	19,1
Chocolate	7,7	11,5	Jugos envasados	82,2	15,2
Mermeladas	6,5	9,6	Agua Mineral	17,0	3,2
Jaleas	3,7	5,5	Otros refrescos	5,8	1,1
Otros productos dulces	4,4	6,6	Total 539,6		100,0
Total 67,0		100,0	BEBIDAS ALCOHÓLICAS		
LECHE			Cerveza	24,9	49,3
Leche entera	63,0	54,1	Vino tinto	14,0	27,9
Leches Saborizadas	19,1	16,4	Vino blanco	5,2	10,3
Leche en Polvo	18,4	15,8	Malta	2,1	4,2
Leche descremada	7,4	6,4	Chicha	1,0	2,1
Leche cultivada	4,7	4,1	Otros	3,2	6,3
Otros	3,8	3,2	Total 50,4		100,0
Total 116,4		100,0	HUEVOS		
PAPAS			Huevos	13,1	
Papas	129,0	Total		13,1	100,0
Total 129,0		100,0			

			VERDURAS		
ALIÑOS			Tomates	70,8	29,4
Salsa de tomate	12,5	69,8	Lechuga	38,8	16,1
Sopas envasadas	1,9	10,9	Palta	32,9	13,6
Sal	1,8	10,1	Arvejas	32,6	13,5
Otros condimentos	1,6	9,2	Zapallo	14,8	6,2
Total 17,8		100,0	Cebolla	10,8	4,5
GRASAS Y ACEITES			gr.	Porotos verdes	6,2
Mayonesa	5,9	37,5	Zanahorias	5,4	2,3
Aceite vegetal	5,3	34,0	Betarraga	5,0	2,1
Mantequilla	2,5	15,8	Otros vegetales	23,8	9,9
Margarina	1,7	10,9	Total 241,3		100,0
Otros	0,3	1,8	FRUTAS		
Total 15,7		100,0	Manzana	23,3	26,0
DERIVADOS LÁCTEOS			Durazno	10,5	11,8
Yogurt	57,5	51,0	Naranja	10,4	11,7
Queso	30,2	26,8	Limón	9,9	11,1
Helado	9,8	8,7	Plátano	9,7	10,8
Postres	9,6	8,5	Uvas	5,4	6,1
Crema	3,1	2,8	Pera	5,0	5,6
Otros	2,6	2,3	Castaña	2,5	2,8
Total 112,8		100,0	Piña	1,9	2,1
PESCADOS Y MARISCOS			Otras frutas	10,9	12,2
Sierra	4,2	22,5	Total 89,6		100,0
Salmon	4,0	21,4	LEGUMINOSAS Y NUECES		
Atún	2,1	11,3	Lentejas	9,5	37,4
Congrio	2,1	11,3	Choclo	7,9	31,3
Machas	1,6	8,7	Porotos	6,3	24,9
Jurel	1,5	8,0	Arvejas	1,5	5,9
Mix mariscos	0,9	5,1	Otras	0,1	0,5
Pejerrey	0,8	4,5	Total 25,3		100,0
Choritos	0,5	2,7			
Otros	0,8	4,5			
Total 18,6		100,0			

4.2.4 Análisis de la composición de la Dieta Total en la Ciudad de Valdivia. Los primeros resultados a analizar, son los obtenidos en la etapa de encuesta de dieta total, la que consistió en la cuantificación de los datos de consumo diario de la población Valdiviana (ANEXO 5).

Como se aprecia en la FIGURA 11, con respecto a la parte nutricional de la dieta, los alimentos consumidos en mayor proporción por los valdivianos son, bebidas no alcohólicas 539,6 g/día (28,3% de la dieta), el pan con 244,3 g/día (12,8% de la dieta), los vegetales con 241,3 g/día (12,7%), las papas con 129,0 g/día (6,8%) y la leche con 116,4 g/día (6,1%).

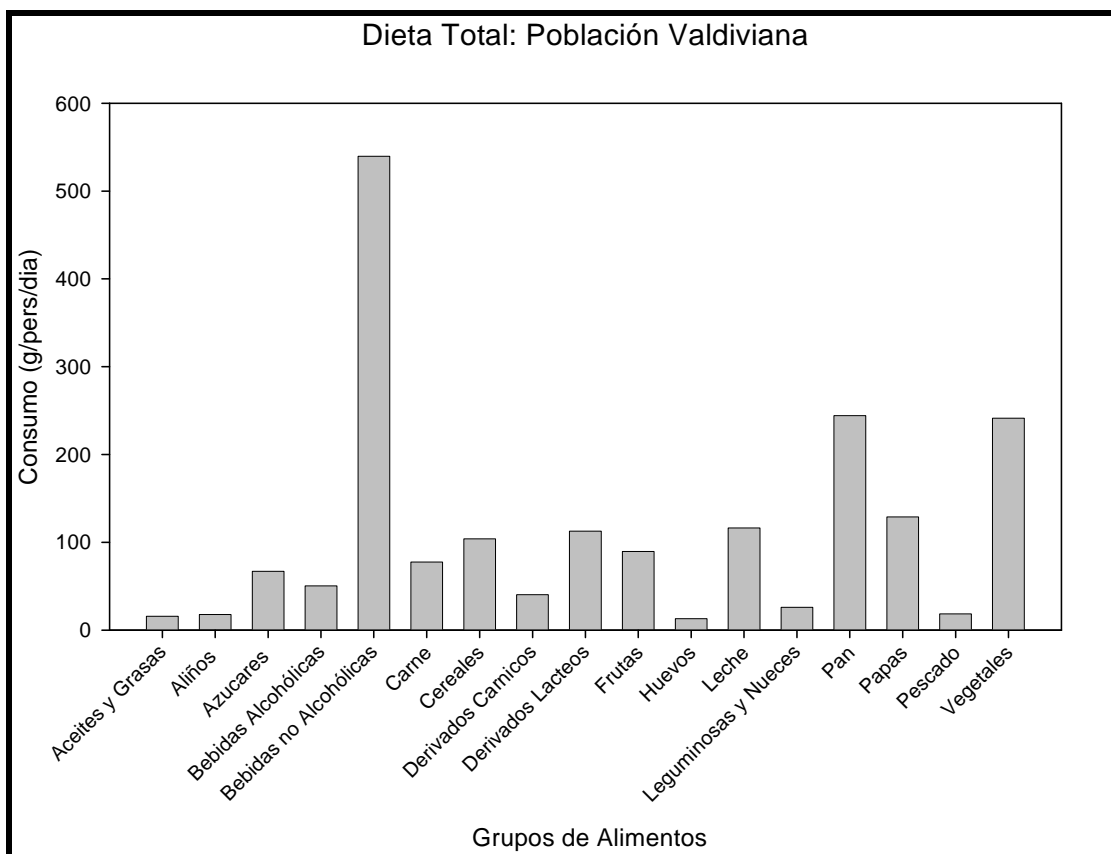


FIGURA 11 Alimentos consumidos (por grupo), por los habitantes de Valdivia.

4.2.5 Comparación de estudios de dieta total en la ciudad de Valdivia v/s

Santiago. Uno de los objetivos perseguidos en todo estudio de dieta total, es comparar las distintas realidades que viven dentro de un mismo país o en países diferentes.

Como se aprecia en la FIGURA 12, los estudios de Dietas Totales realizados tanto en Valdivia (2007) como en Santiago (2005) no difieren entre sí, haciendo interesante un análisis comparativo entre ellas (ANEXO 9). Según la gráfica la tendencia de ingesta entre ambas ciudades no difiere en forma considerable, siendo algunos grupos bastantes similares como es en el caso del pan con un consumo de 244,3 g para la ciudad de Valdivia y 242,7 g consumido por parte de la población de Santiago, el consumo de productos cárnicos en ambas ciudades es similar (Aprox. 36 g/día). El consumo de cereales y bebidas alcohólicas en la ciudad de Valdivia (107 y 52,99 g/día respectivamente), sobrepasa al consumo en la ciudad de Santiago (83,3 y 49,1 g/día respectivamente).

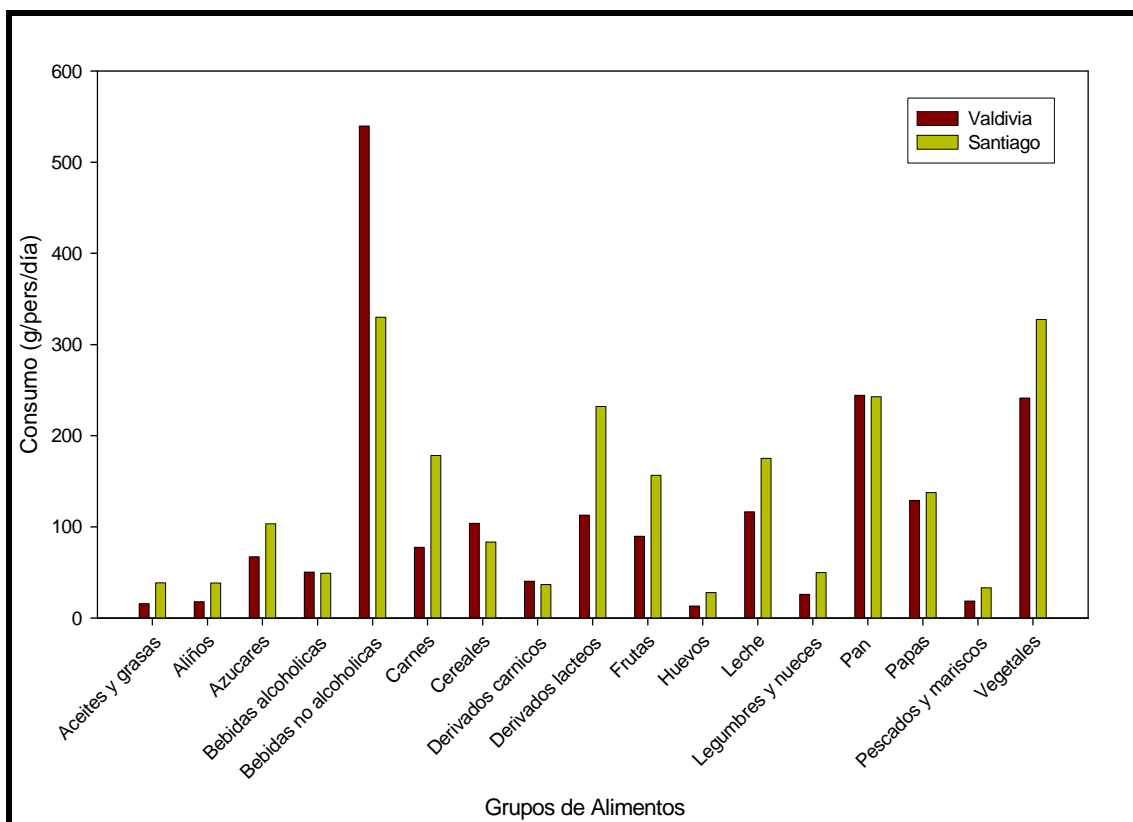


FIGURA 12 Comparación del consumo de alimentos en Valdivia y Santiago

4.3 Estudios de dieta total en distintos países del mundo

En el presente estudio, se ha comparado con estudios realizados en 5 países (FIGURA 13), China realizada en 1990 (CHEN *et al.*, 1993) Gran Bretaña llevada a cabo en 1997 (YSART, 1999), Japón 2003 (SASAMOTO, 2005), España, comunidad autónoma del país Vasco realizada en el año 1991 (URIETA *et al.*, 1996) y Cataluña (LLOBET, 2003) y Chile (Muñoz *et al.*, 2005), los períodos en los que fueron llevados a cabo estas investigaciones difieren entre sí, lo que podría significar un obstáculo al realizar las comparaciones, sin embargo, los resultados no difieren significativamente en períodos cortos de tiempo, luego es posible un análisis comparativo de los resultados de cada estudio (ANEXO 10).

Por un lado, los alimentos más consumidos por los españoles son las frutas (377 g, 4,2 veces más cantidad que en Chile, presente estudio), la leche (293,7 g y 2,5 veces más que nuestro país), las bebidas alcohólicas (243,1 ml y 4,8 veces superior a la ingesta de Chile) y las bebidas no alcohólicas (198,2 ml y 2,7 veces menos de lo que se consume en Chile). Como podemos ver, los grupos de las frutas y la leche, considerados como alimentos saludables, son consumidos en menor cantidad en nuestro país, mientras que en las bebidas no alcohólicas, ocurre lo contrario y, con creces, esto debido al alto consumo que nuestro país presenta en bebidas gaseosas.

Con respecto a China, su preferencia alimenticia se inclina hacia los cereales (461,4 g y 4,4 veces más que en Chile), los vegetales (323,9 g, 1,3 veces más que Chile), las frutas y papas (101,2 g y 101 g respectivamente similar a Chile 2005 y 2007). La dieta china muestra, como es de esperar, una marcada tendencia al consumo de alimentos ricos en fibra y en proteínas y, si bien, la ingesta es similar en grupos como los vegetales, su bajo consumo de bebidas alcohólicas, carnes, hacen la diferencia al comparar la ingesta de energía, tanto en grasas como en carbohidratos, nutrientes que los chinos consumen en muy baja cantidad.

La dieta de los ingleses se basa en la leche (284 ml y 2,43 veces más que en Chile), las papas (133 g similar a la nuestra), los vegetales (110 g, 2,19 veces menor a la ingesta en Chile) y el pan (110 g y 2,2 veces menor que el consumo en Chile). Al comparar la dieta inglesa con la chilena, se puede observar que son distintas, a excepción de las papas, bebidas alcohólicas y derivados cárnicos, alimentos que en ambos países se consumen en altas cantidades.

Y finalmente Japón, lo que mayor predomina en su dieta son los cereales (239,5 g 2,3 veces más que Chile), vegetales (157 g 1,53 veces menos que Chile), leche (143ml 1,22 veces más que Chile). Al igual que China el grupo de alimento que más predomina en su dieta son los cereales.

Al realizar un análisis, desde el punto de vista de la dieta chilena, con respecto a los grupos más consumidos por nuestra población, se puede decir que, en Chile, se consume 2,7 veces más bebidas no alcohólicas que en España, 5,9 veces más que en Gran Bretaña. En cuanto al pan, su ingesta es 2 veces mayor que España y 2,2 veces mayor que Gran Bretaña pero similar a la de Santiago de Chile, en cuanto a los vegetales la ingesta está por sobre la Española 1,51 veces superior, 1,53 veces mayor que Japón, 2,1 veces mayor que Gran Bretaña. Chile es mayor consumidor de aquellos grupos con mayor aporte de energía como lo son el grupo pan y las bebidas analcohólicas, y de los derivados lácteos.

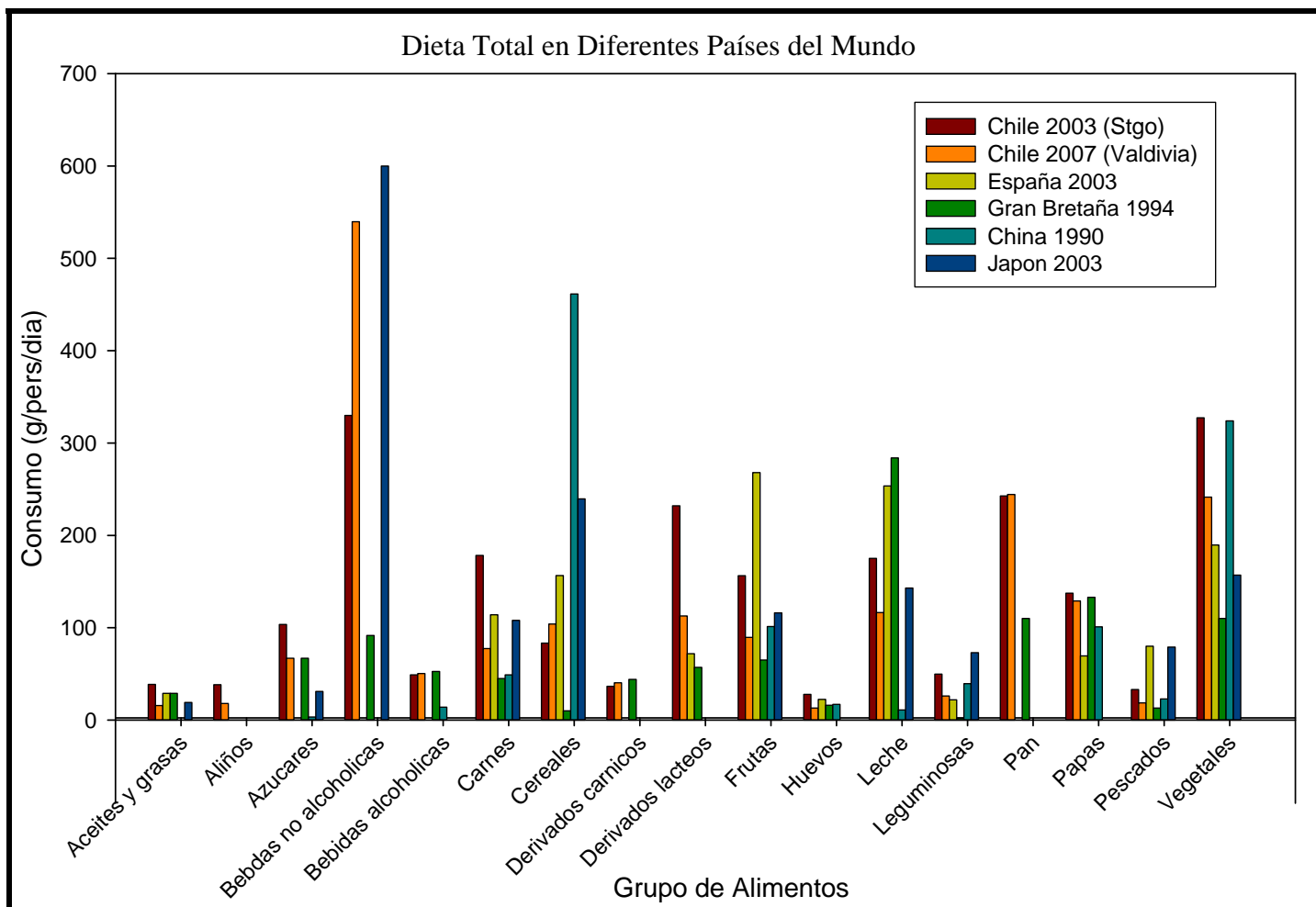


FIGURA 13 Grafico comparativo del estudio de dieta total en diferentes países del mundo.

4.4 Análisis estadístico de acrilamida, concentración e ingesta

Con respecto a la presencia acrilamida, encontrados en los distintos grupos de alimentos de la dieta total, realizada en la población de Valdivia, Chile, la estimación de ingesta de ésta, se llevó a cabo luego de conocer los resultados analíticos del estudio, en base húmeda (CUADRO 13). Una vez realizado este procedimiento, los resultados fueron combinados con los datos de consumo de cada grupo de alimentos (ANEXO 6).

Como se observa en el CUADRO 14, se puede apreciar los resultados de acrilamida tanto en concentración como en ingesta para cada uno de los 17 grupos de alimentos analizados, estos no arrojaron significancia alguna.

CUADRO 14 Concentración (μg /g producto), e Ingesta (μg /persona/día), de acrilamida a través de la dieta total valdiviana.

Alimento	Nº muestra	Consumo g/pers/día	Concentración Acrilamida promedio (μg /g)	ingesta acrilamida promedio (μg /persona/día)
Aceites y grasas	3	15,7	-	-
Aliños	2	17,8	-	-
Azúcares	3	63,4	-	-
Bebidas alcohólicas	3	50,4	1,66	83,6
Bebidas no Alcohólicas	3	539,6	-	-
Carne	3	77,5	-	-
Cereales	3	104,0	-	-
Derivados cárnicos	3	40,4	-	-
Derivados lácteos	3	112,8	-	-
Frutas	3	89,6	-	-
Huevos	3	13,1	-	-
Leche	3	116,4	-	-
Leguminos. y nueces	3	15,8	-	-
Pan	3	244,3	-	-
Papas	2	129,0	-	-
Pescados y Maris.	3	18,6	-	-
Vegetales	3	241,3	0,13	31,5

En cuanto a los resultados obtenidos se puede concluir que 15 de los 17 grupos de alimentos analizados presentan una cantidad inferior a la capacidad de detección, es decir, obtuvieron una concentración inferior a 3,0 ng/g, por lo que al obtener resultados en 2 de los 17 grupos no se puede realizar análisis de varianza.

4.4.1 Análisis de concentración de acrilamida en la dieta total valdiviana. Al analizar los resultados de concentración de acrilamida (ANEXO 16), encontrados en los distintos grupos de alimentos de la dieta total valdiviana, se observa que la acrilamida presenta los mayores niveles en el grupo de bebidas alcohólicas 1,66

$\mu\text{g/ml}$, en peso fresco, esto se puede deber a que en el grupo donde se encontró más presencia de acrilamida estaba conformada por cerveza negra y malta, bebidas alcohólicas que en su producción se utiliza caramelo, materia prima que posiblemente puede presentar altos niveles de acrilamida. Por otra parte, la presencia de acrilamida en el grupo de vegetales $0,13 \mu\text{g/g}$ muestra M2 se pudo deber a que algunos de estos alimentos fueron cocinados y otros tenían un previo tratamiento térmico como es el caso de las conservas. El grupo de papas no presentó niveles detectables de acrilamida como se esperaba, este resultado se puede deber a que este grupo lo conformaba una mezcla de papas cocidas (75,59%), papas fritas (14,97%) y puré de papas (9,44%), por lo que la cantidad de papas fritas, no es suficientemente para presentar un aporte detectable de este compuesto al grupo. Además estas papas fritas fueron lavada con agua desionizada, lo cual disminuyó lo eventuales precursores de acrilamida.

4.4.2 Análisis de ingesta media diaria de acrilamida en los distintos grupos de alimentos de la dieta total valdiviana. El valor toxicológico de referencia utilizado en este estudio fue el parámetro recomendado por el Comité Experto sobre Aditivos de Alimentos de la FAO/OMS.

La ingesta de un contaminante a través de la dieta se calcula multiplicando la concentración del contaminante en cada alimento por la cantidad de este alimento ingerido (ANEXO 17).

4.4.3 Comparación de concentración acrilamida en grupos de alimentos según estimaciones de FAO/OMS 2005. La FIGURA 14 muestra que el nivel de concentración de acrilamida en el grupos de vegetales ($0,13 \mu\text{g/g}$) está por debajo de los niveles máximos encontrados ($0,202 \mu\text{g/g}$) según lo reportado por la FAO/OMS en el año 2005, pero por encima de las estimaciones internacionales ($0,017 \mu\text{g/g}$), por otra parte el grupo de bebidas alcohólicas ($1,66 \mu\text{g/ml}$) se encuentra muy por encima de las estimaciones internacionales ($0,0066 \mu\text{g/ml}$) y del máximo encontrado ($0,046 \mu\text{g/ml}$) (ANEXO 19).

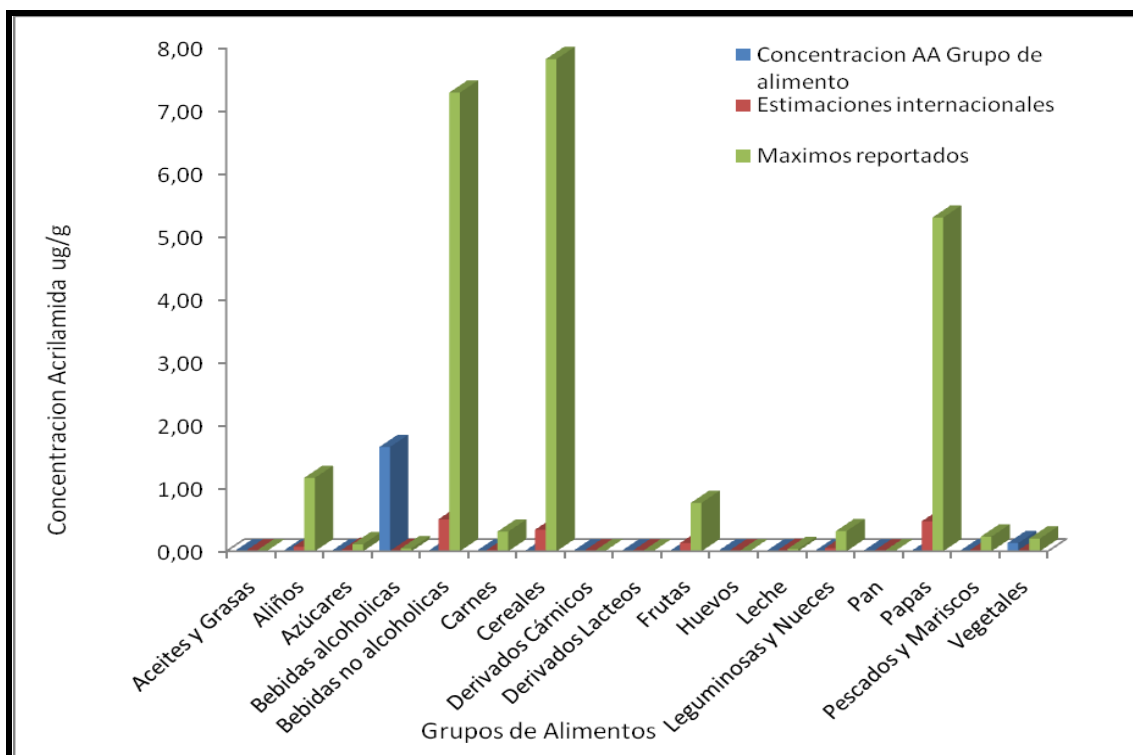


FIGURA 14 Grafica de comparación de la concentración de acrilamida (ug/g) encontrados en los grupos de alimento y estimaciones de FAO/OMS

4.4.4 Comparación de ingesta de Acrilamida en diferentes países. La FIGURA 15 muestra la comparación de ingesta diaria en diferentes países (ANEXO 19) (según PAVESI Y DE FIGUEIREDO, 2006), lo encontrado en los grupos de alimentos consumidos por los habitantes de Valdivia, Chile, esta por sobre la ingesta potencial diaria de consumidores medios 1,7 ug/kg pc/día en comparación con el máximo encontrado en Alemania 1,1 ug/kg pc/día (CUADRO 6), pero por debajo de consumidores extremos, Alemania 2,9 ug/kg pc/día. Indicando que la ingesta de acrilamida por parte de la población de Valdivia se encuentra en un rango medio, por debajo del máximo recomendado por FAO (2005), que estima una ingesta para consumidores medios que va desde 0,3 a 2,0 ug/kg pc/día y una ingesta para consumidores extremos de 0,6 a 3,5 pudiendo llegar hasta 5,1 ug/kg pc/día.

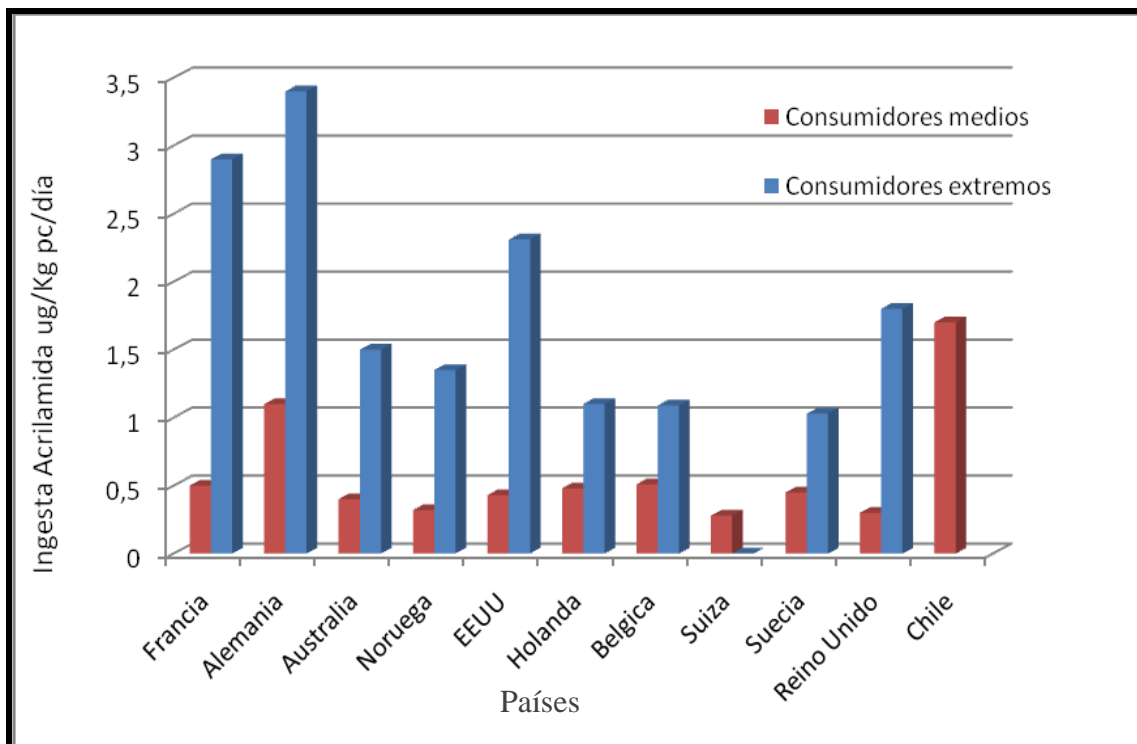


FIGURA 15 Ingesta potencial diaria de acrilamida en diferentes países ($\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{día}$) (referente al CUADRO 6)

5. CONCLUSIONES

- Los resultados presentados y discutidos en este estudio, muestran que los alimentos más consumidos por la población de Valdivia, son las bebidas no alcohólicas (28,3%), pan (12,8%), vegetales (12,7%) y leche (6,1%), en cambio los que menos aportan a la dieta son los huevos (0,7%), aceites y grasas (0,8%), aliños (0,9%) y pescados (1%).
- Los alimentos, que presentan un mayor aporte de acrilamida a la dieta son los grupo de bebidas alcohólicas y vegetales.
- La metodología utilizada demostró ser un método rápido y eficiente. Los parámetros analítico CC α , CC β , precisión y exactitud fueron adecuado.
- El pan no presentó niveles de acrilamida detectables, situación que se considera beneficiosa, por ser Chile un país con altas ingestas de este alimentos.
- A través de este estudio se ha hecho evidente que existe una gran presencia de acrilamida en el grupo de bebidas alcohólicas.
- Según los resultados obtenidos de ingesta diaria de acrilamida (1,7 $\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{día}$), a través de la dieta total de los habitantes de Valdivia y, al compararlos con el valor toxicológico, recomendado por FAO/OMS (3,5 $\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{día}$) para contaminantes químicos, se concluye que éstas no representan riesgo para la salud.
- La sensibilidad presentada por los equipos utilizados en los análisis del presente estudio, mediante la determinación del CC α (límite de detección) 150 ng/g, son mayores a los reportados en bibliografía, valores que corresponden a 30 ng/g para muestras provenientes de papas y 50 ng/g para otros alimentos, debido a que en los trabajos revisados se utilizó equipos con mayor sensibilidad como HPLC-MS/MS.

6. RECOMENDACIONES

- El presente estudio, propone una nueva metodología para determinar acrilamida en diferentes alimentos. Es recomendable analizar cada alimento por separado para así poder determinar cuál es el que presenta el mayor aporte de acrilamida a nuestra alimentación.
- Que se controle los niveles de acrilamida en los productos alimenticios que se consumen en mayor proporción por la población.
- Es indispensable continuar con este tipo de estudio para asegurar la inocuidad de los alimentos que conforman la dieta de las personas.
- Se recomienda estudiar los límites de concentración para los alimentos que forman parte de los grupos de bebidas alcohólicas, puesto que estos presentaron los niveles más altos de concentración, lo que puede llegar a representar niveles de ingesta dañinas para la salud.
- Se recomienda realizar un seguimiento en aquellos grupos de alimentos que presentaron los mayores niveles de acrilamida, especialmente los que podrían sobrepasar las normas existentes.

7. RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue determinar la dieta promedio típica e ingesta diaria de acrilamida por parte de la población de Valdivia, Chile. Para ello se realizó un estudio de dieta total, basado en una encuesta recordatoria de 24 horas, la que se realizó entre los meses abril y Septiembre del año 2007. La población de Valdivia es de 140.559 personas (INE, 2002), mediante Inferencia Estadística se determinó el tamaño muestral de la población ($n=382$) el cual representa el 0,27 % de la misma. La encuesta se realizó, sin distinción de edad, sexo, ni clase social, de los cuales 59,7% es de sexo femenino y el restante 40,3% de sexo masculino, con una estatura y un peso promedio de 1.66 m, y 70 kg. respectivamente. La encuesta mostró más de 270 alimentos de los cuales se formaron 17 grupos según su similitud de composición química, los 3 grupos más consumidos por la población fueron el grupo de bebidas no alcohólicas con una ingesta de 539,6 g/persona/día, seguido por el grupo de pan con una ingesta de 244,3 g/persona/día y el grupo de vegetales con una ingesta 241,3 g/persona/día para su posterior análisis estos alimentos fueron obtenidos mediante un sistema de canasta de compra. Este estudio constituye un herramienta muy eficaz para ser utilizado en la determinación de sustancias tóxicas presentes en algunos alimentos, en este caso para determinar el contenido de Acrilamida en la dieta total, utilizando cromatografía líquida de alta eficacia con detectores de ultravioleta. Este compuesto se forma tras un tratamiento térmico, muy común durante el procesado y/o cocinado, y se ha probado que este compuesto es un potente cancerígeno y mutagénicos, en animales de laboratorio y en humanos. Tras los análisis a los respectivos grupos se encontró acrilamida en 2 de los 17 grupos; el grupo de bebidas alcohólicas con una concentración de 1,659 $\mu\text{g/g}$ y una ingesta de 1,21 $\mu\text{g/kg pc/día}$ y el grupo de vegetales con una concentración de 0,130 $\mu\text{g/g}$ y una ingesta de 0,45 $\mu\text{g/kg pc/día}$. Se llega a la conclusión de que este compuesto no presenta un riesgo para la población valdiviana ya que límite establecido por la FAO es de 3,5 $\mu\text{g/kg pc/día}$ en consumidores extremos.

SUMMARY

The objective of this study was to determine the typical average diet and daily intake of acrylamide for the Valdivia city population in Chile. For this purpose a total diet study was carried out, based on a 24 hours remembering pool, which was performed from April through September of 2007. The Valdivia city population is 140,559 people (INE, 2002), throughout statistical inference the sampling size was determined ($n=382$) which represents 0,27 % of the population. The pool was carried out without age, gender and social level distinction. However, 59.7% corresponded to female and the balance was male, the average height and weight being 1.66 m and 70 kg respectively. The pool showed more than from 270 foods, 17 groups were established according to its chemical composition similitude, the three more consumed groups were non alcoholic's beverages with an intake of 539.6 g/person/day, followed by the bread with an intake of 244,3 g/person/day and the vegetables with an intake of 241,3 g/person/day. For its further analysis this foods were acquired through a buying basket system. This study is a very effective tool to be used to determine toxic substances present on some foods, in this case to determine the acrylamide content on the Total Diet, by mean of high efficiency liquid chromatography with ultraviolet detectors. This compound is originated after a thermal treatment, very common during food processing and cooking, it has been proven that this compound is a strong cancer promoter and mutagenic, in experiment on animals and humans. After the analysis of the respective groups it was found acrylamide in 2 of the 17 groups; the alcoholic's beverages group with a concentration of 1,659 $\mu\text{g/g}$ and an intake of 1,21 $\mu\text{g/kg pc/day}$ and the vegetables group with a concentration of 0,130 $\mu\text{g/g}$ and an intake of 0,5 $\mu\text{g/kg bw/day}$. It has been concluded that this compound does not represent a risk for the Valdivia population since the limit established by the FAO is of 2,0 $\mu\text{g/kg bw/day}$ for average consumers and 3,5 $\mu\text{g/kg bw/day}$ for extreme consumers.

8. BIBLIOGRAFIA

- AMREIN, THUMAS M. 2005. Systematic Studies on Process Optimization to Minimize Acrylamide Contents in Food. Swiss federal institute of technology zurich. Diss ETH Nr. 16311. 160 p.
- BADUI DERGAL, SALVADOR. 1984. Química de los alimentos. Departamento de alimentos. División de estudios de postgrado. Facultad de química. Universidad autónoma de México. pp 429.
- BAGDONAITE, K. AND M. MURKOVIC. 2004. Factors Affecting the Formation of Acrylamide in Coffee. Graz University of Technology, Department of Food Chemistry and Technology, Graz, Austria, E-mail: kristina.bagdonaite@tugraz.at Vol. 22, Special Issue Czech J. Food Sci. Proc. Chemical Reaction in Food V, Prague, 29. 9.-1. 10.
- CARERE ANGELO. 2006. Genotoxicity and carcinogenicity of acrylamide: a critical review, Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy, ann ist super sanità 2006 | Vol. 42, No. 2: 144-155.
- CHEN J. y GAO J. 1993. The Chinese Total diet Study in 1990. Part I. Chemical Contaminants. J. AOAC. Int. 76,. 1193-1200 p.
- CODEX ALIMENTARIUS. 2003. Código Internacional de Practicas Recomendado – Principios Generales de Higiene de los Alimentos Cac/Rcp 1-1969, Rev 4.
- COMITÉ DEL CODEX SOBRE CONTAMINANTES DE LOS ALIMENTOS. 1ª reunión Beijing (China), 16 al 20 de abril de 2007. Anteproyecto de código de prácticas para la reducción de la acrilamida en los alimentos (N06-2006).
- CONTANDRIOPOULOS A., CHAMPAGNE F., POTVIN L., DENIS J., BOYLE P. 1991. Preparar un proyecto de investigación. Barcelona: SG Editores.
- COULTATE, TOM P. 1998. Manual de química y bioquímica de los alimentos. Editorial Acribia, S. A. Zaragoza España. Segunda edición 366 p.
- ERIKSSON, SUNE. 2005. Acrylamide in food products: Identification, formation and analytical methodology. Department of Environmental Chemistry Stockholm University. Doctoral Thesis. Stockholm Sweden. 91 p.
- FERNANDEZ S., PITA. (1996). Determinación del tamaño muestral. Cad. Aten. Primaria, 3, 138-141. [www.fisterra.com/mbe/investiga / 9muestras/9muestras.htm](http://www.fisterra.com/mbe/investiga/9muestras/9muestras.htm) (10 mayo 2007).
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION/WORLD HEALTH ORGANIZATION (FAO/WHO). 2005. Acrylamide. In: summary and conclusions of the sixtyfourth meeting, JOINT FAO/WHO expert committee on food additives (JECFA), Rome,. pp. 7-17.

- GOKMEN V., H.Z. SENYUVA, B. DÜLEK C, y A.E. CETIN. 2005. Computer vision-based image analysis for the estimation of acrylamide concentrations of potato chips and french fries. / Food Chemistry 101 (2007) 791–798.
- GUÍA DE EVALUACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS disponible en <<http://www.ministeriodesalud.go.cr/protocolos/guiavalidacionmetodosanaliticos.pdf>> (10 mayo 2007).
- GUÍA DE PRODUCTOS QUÍMICOS. ? . Propiedades de las amidas, enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo disponible en <http://www.mtas.es/insht/EncOIT/pdf/tomo4/104_04.pdf> (25 abril 2007).
- INFANZÓN RUIZ, ROSA MARÍA. 2005. Toxicidad en los alimentos: la acrilamida. Revista de divulgación científica y tecnológica de la universidad veracruzana (online)XVIII(2).
- ITZIAR RUISÁNCHEZ, ESTHER TRULLOLS y F. XAVIER RIUS. Validación de métodos analíticos cualitativos. Grupo de Quimiometría y Cualimetría. Departament de Química Analítica i Química Orgànica. Universitat Rovira i Virgili. Pl. Imperial Tàrraco, 1, 43005 Tarragona. Disponible en <http://www.quimica.urv.es/quimio/general/divcualit3.pdf> (10 mayo 2007).
- JIMÉNEZ PEREZ, SALVIO D., MORALES NAVAS, FRANCISCO J., GEMA ARRIBAS-LORENZO y EVA MARTÍ LÓPEZ. 2007. Formación de Acrilamida durante el procesado y cocinado de alimentos. Instituto del frío Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Madrid.
- JURY, GLORIA., URTEAGA, CARMEN y TAIBO, MARCELA. 1997. Porciones de intercambio y composición química de los alimentos de la pirámide alimentaria chilena. Universidad de Chile. Instituto de nutrición y tecnología de los alimentos (INTA). Centro de nutrición humana/Facultad de medicina 129p.
- LOOMIS. TED A. 1982. Fundamentos de toxicología. Editorial acribia, zaragoza España. Universidad de Washington Seattle, Washington (EE.UU). 16-17p.
- MASSON L., MUÑOZ J. R., ROMERO N., CAMILO C., ENCINA C., HERNÁNDEZ L., CASTRO J. y ROBERT P.. 2007. Acrilamida en patatas fritas: revisión actualizada Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química, Centro de Investigación y Desarrollo en Grasas y Aceites (CIDGRA), Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. Casilla 233, Santiago 1, Chile. lmasson@ciq.uchile.cl. GRASAS Y ACEITES, 58 (2), ABRIL-JUNIO, 185-193, 2007, ISSN: 0017-3495.
- MUÑOZ, O., BASTIAS, J.M., ARAYA, M., MORALES, M., ORELLANA, C., REBOLLEDO, R. y VELEZ, D. 2005. Estimation of the dietary intake of cadmium, lead, mercury, and arsenic by the population of Santiago (Chile) using a Total Diet Study, Food and Chemical Toxicology 43. 1647–1655.
- ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN Y ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (FAO/OMS). 2002. Consecuencias para la salud de acrilamida en los alimentos. Informe de la Consulta Conjunta de FAO/OMS Sede Central de la OMS. Ginebra. Suiza. 39p.

- ORTIZ BARREDO, AMAYA M., 2004. Determinación de los niveles de Acrilamida en el café. Dpto. Producción y Protección Vegetal NEIKER-Instituto de Investigación y Desarrollo Agrario del País vasco. pp 8.
- ÖTLES S., ÖTLES S. 2004. Acrylamide in Food - Formation of Acrylamide and its damages to health electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Food Science and Technology, Volume 7, Issue 2.
- PAVESI ARISSETO, ADRIANA. y DE FIGUEIREDO TOLEDO, MARIA CECÍLIA. 2006. Acrylamide in Foods: A Review. Departamento de Ciência de Alimentos Facultad de Engenharia de Alimentos Universidad de Estadual de Campinas. Braz. J. Food Technol., v.9, n.2, p. 123-134, abr./jun.
- RED INTERNACIONAL DE AUTORIDADES DE INOCUIDAD DE LOS ALIMENTOS (INFOSAN). 2006. Acrilamida en los alimentos un riesgo potencial para la salud. Red internacional de inocuidad de los alimentos. (On line) <http://www.who.int/entity/foodsafety/fs_management/No_02_Acrylamide_Mar05_sp_rev1.pdf> (20 marzo 2007).
- RODRÍGUEZ, MARUJA y SOBERCASEUX, MIGUEL. 1986. Cocina Practica Chilena. Editorial Juvenil Chilena. 3º Edición. pp641.
- ROUESSAC, FRANCIS y ROUESSAC, ANNICK. 2000. Chemical analysis; Modern Instrumentation methods an techniques. University of Montreal. Wiley pp 46.
- SKOOG, DOUGLAS A. 2001. Principios de Análisis instrumental. 5a. Ed. Madrid: McGraw-Hill, 2001. 1028 p.
- SMITH, E., PRUES, S. y OCHME, F. 1996. Environmental degradation of polyacrylamides: Effect of artificial environmental conditions. Ecotoxicology and Environmental Safety 35:121-35. .USA-EPA. 1993. R.E.D. Facts: Glyphosate.
- STUDER, I. BLANK y R. H. STADLER. 2004. Thermal Processing Contaminants in Foodstuffs and Potential Strategies of Control. (Switzerland). Food Science. Nº 22, Special Issue.
- URIETA I., JALÓN M., y EGUILEOR I. 1996. Food surveillance in the Basque Country (Spain) II. Estimation of the dietary intake of organochlorine pesticides, heavy metals, arsenic, aflatoxin M₁, Iron and Zinc throught the Total Diet Study. Food Addit. Contam. 13, pp. 29-52.
- URIETA, I.; JALÓN, M.; GARCÍA, J. y GONZÁLEZ DE GALDEANO, L. 1991. Food surveillance in the Basque country (Spain) I. The design of a total diet study. Food Addit. Contam. 8, 371-380. (9).
- VALENZUELA B, RODRIGO Y RONCO M, ANA MARÍA. (2007). Acrilamida en los alimentos. Rev. chil. nutr., mar. 2007, vol.34, no.1, p.8-16. ISSN 0717-7518.
- VEGA SALVADOR, MARTA CORONADO HERRERA, REY GUTIÉRREZ TOLENTINO, GILBERTO DÍAZ GONZÁLEZ, ACACIA RAMÍREZ AYALA, JOSÉ H. SALAS MORALES y JESÚS PÉREZ GONZÁLEZ. 2007. Acrilamida un tóxico alimentario en el nuevo milenio. El caso de la leche. Departamento de Producción Agrícola y Animal. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. México D.F. 1Email: svega@correo.xoc.uam.mx Alfa Editores Técnicos. 22p.

- WONG, DOMINIC W. S. 1995. Química de los alimentos, mecanismo y teoría.. Editorial acribia S.A. Zaragoza España 126 p. 476 pp.
- YSART G., MILLER P., CROASDALE M., CREWS H., ROBB P., BAXTER M., DE L'ARGY C., y HARRISON N. 2000. Food Addit. ContamUK total diet study dietary exposures to aluminium, arsenic, cadmium, chromium, copper, lead, mercury, nickel, selenium, tin and zinc. 17, p. 775-786.
- ZHANG, Y., ZHANG, G. y ZHANG, Y. (2005). Occurrence and analytical methods of acrylamide in heat-treated foods. Review and recent developments. Journal of Chromatography A, ?p.
- ZHOU XUN, LIU-YIN FAN, WEI ZHANG, CHENG-XI CAO. y X. ZHOU et al. / Talanta 71 (2007) Separation and determination of acrylamide in potato chips by micellar electrokinetic capillary chromatography 1541–1545.

9. ANEXOS

ANEXO 1 Consentimiento informado: Estudio de Dieta Total

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA DE LOS ALIMENTOS

**CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA SER ENCUESTADO SOBRE HABITOS
 ALIMENTICIOS MEDIANTE ENCUESTA RECORDATORIA
 DE 24 HORAS**

PROYECTO: Estudio de Dieta Total e Inocuidad Alimentaria: Desarrollo y validación de metodologías analíticas para la determinación de la ingesta de sustancias tóxicas (Acrilamida) generadas en los procesos productivos de los alimentos

Don (ña) _____ DE _____ AÑOS DE EDAD
(Nombre y Apellidos del Encuestado)

TELEFONO _____ Y CON DOMICILIO EN _____

Desea que los resultados de esta investigación le sean informados SI _____ NO _____

Email _____ @ _____

Certifico que he recibido explicaciones tanto verbales como escritas (Anexo 1), sobre la naturaleza y propósitos del Estudio de Dieta total y de la encuesta recordatoria de 24 horas (Anexo 2), habiendo tenido ocasión de aclarar las dudas que me han surgido. Por ello, en total conocimiento estoy de acuerdo en:

- 1 Ser encuestado sobre mis hábitos alimenticios y
- 2 Permitir que la información obtenida (Sin mi Nombre) sea utilizada para fines de investigación

Estando satisfecho con la información recibida, firmo este consentimiento para participar en el Estudio de Dieta Total

Firma del Encuestado

Firma del Encuestador

En la ciudad de _____ a _____ / _____ /200_____



UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE

INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA DE LOS ALIMENTOS

PROYECTO: Estudio de Dieta Total e Inocuidad Alimentaria: Desarrollo y validación de metodologías analíticas para la determinación de la ingesta de sustancias tóxicas (acrilamida) generadas en los procesos productivos de los alimentos.

El propósito de este proyecto es determinar la dieta promedio (típica) de las poblaciones en estudios con la finalidad de determinar cuáles son los alimentos más consumidos en las localidades investigadas, para luego analizar en los alimentos los contenidos de acrilamida (sustancia altamente tóxica). Una vez que se tengan tanto los datos de consumo (obtenidos por las encuestas recordatorias de 24 horas) como los contenidos de acrilamida en los alimentos, se determinará la ingesta de dicha sustancia. Los datos obtenidos nos permitirán determinar cuales son los alimentos que presentan los contenidos más altos de este tóxico así como el posible riesgo para la salud que podría presentar el consumo de un determinado alimento. Paralelamente se compararán los resultados con los niveles máximos permitidos por los organismos internacionales y con la legislación chilena.

ANEXO 2 Encuesta nutricional recordatoria de 24 horas

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA DE LOS ALIMENTOS

ENCUESTA NUTRICIONAL

IDENTIFICACIÓN (voluntaria)

NÚMERO....

Nombre:

Dirección: Teléfono:

Encuestador Identificación de

Día y mes en que se realiza la entrevista .../.../200__

Hora de la entrevista ...:... horas

1.- Con respecto al día de Ayer: marque con una X

El día de ayer fue

Laboral
 No laboral (día libre)
 Víspera de feriado
 Feriado

El día de ayer fue

Lunes
 Martes
 Miércoles
 Jueves
 Viernes
 Sábado
 Domingo

El tipo de alimentación realizada en el día de ayer

Fue como la de cualquier otro día
 Fue un día diferente al habitual
 Ayer estuve enfermo

ANTROPOMETRÍA**2. Sexo**

1. Hombre 2. Mujer

3. EDAD ... años

4. PESO: Kg.

5. ESTATURA m

HÁBITOS ALIMENTARIOS**6. ¿Habitualmente cuáles de las siguientes comidas realiza?**

1... si 2...no

Desayuno antes de salir de casa 0

Media mañana 0

No desayuna..... 0

Almuerzo..... 0

Once 0

Cena 0

Comer entre horas 0

Otros 0

7. ¿Con qué frecuencia (cantidad de veces) come o cena en:

N D S M A

Casa de amigos, familiares o compañeros

Restaurant

Fast Food (Hamburguesas, Sandwich)

Cafetería del trabajo o comedor escolar

	N	D	S	M	A
Casa de amigos, familiares o compañeros					
Restaurant					
Fast Food (Hamburguesas, Sandwich)					
Cafetería del trabajo o comedor escolar					

N: Nunca

D: Diario

S: Semanal

M: Mensual

A: Anual

ENCUESTA RECORDATORIA DE 24 HORAS

En esta encuesta **solo** se le pregunta por **las comidas del día de ayer**,

Nota: Las unidades solicitadas en esta encuesta son a modo de ejemplo:

- Cucharada (sopera) colmada, raza
- Cucharadita (de té) a colmada, raza
- Taza a $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$, $\frac{3}{4}$.
- Vaso a $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$, $\frac{3}{4}$.
- Rebanadas o tajada
- Trozo (para carnes) a Grande, mediana, pequeña
- Unidad (1 pan, 1 manzana etc), grande, mediana, pequeña
- Porción o plato

8. Desayuno: *(Describir)*

.....

	Alimento	Especificar	Cantidad	Gr.
1	Pan (Blanco, Integral, Otro, etc., Especificar)			
2	Agregado (mermelada, palta, queso cecinas, paté, mantequilla, margarina, etc, Especificar)			
3	Bebida de acompañamiento (Té, Café, Leche, Café c/leche, Jugo de frutas..etc., Especificar)			
4	Edulcorante (Azúcar, sacarina, aspartame, etc, Especificar)			
5	Otro (galletas, yogurt, cereal Especificar)			

9. Entre comida: (yogurt, galletas, fruta, bebida, etc *Describir*)

.....

10. Almuerzo: (*Describir*).....

Ítem	Alimento	Especificar	Cantidad	Gr.
1	Plato principal Especificar			
2	Plato secundario Especificar			
3	Postre (Especificar)			
4	Bebida de acompañamiento (Bebida Gaseosa, cerveza, Vino, Jugo de frutas..etc., Especificar)			
5	Otro Especificar			

11. Entre comida:(yogurt, galletas, fruta, bebida,..etc. *Describir*).....

12. Once: (*Describir*)

.....

.....

.....

.....

Ítem	Alimento	Especificar	Cantidad	Gr.
1	Pan (Blanco, Integral, Otro, etc., Especificar)			
2	Agregado (mermelada, huevos palta, queso cecinas paté, mantequilla, margarina etc., Especificar)			
3	Bebida de acompañamiento (Té, Café, Leche, Café c/leche, Jugo de frutas..etc., Especificar)			
4	Edulcorante (Azúcar, sacarina, aspartame, etc., Especificar)			
5	Otro (galletas, helados, yogurt, cereal Especificar)			

13. Entre comida: (*Describir*)

.....

.....

.....

.....

14. Cena: (Describir)

.....

.....

.....

.....

Item	Alimento	Especificar	Cantidad	Gr.
1	Plato principal (sopa, guiso, etc. Especificar)			
2	Plato secundario (Sopa, Guiso Especificar)			
3	Ensalada (lechuga, tomate, etc Especificar)			
4	Aliños (limón, vinagre, aceite [oliva, maravilla, etc.] Especificar)			
5	Postre(Especificar)			
6	Bebida de acompañamiento (Bebida Gaseosa, cerveza, Vino, Jugo de frutas..etc., Especificar)			
7	Otros (Especificar)			

15. Otros: (aperitivo, licor, etc., **Describir**)

.....

.....

.....

.....

ANEXO 3 Agrupación de los alimentos obtenidos en la encuesta de dieta total en la ciudad de Valdivia*

CEREALES	LECHE	VEGETALES	CARNES	AZÚCARES	PESCADOS
Cereales	Entera líquida	Tomate	Vacuno	Edulcorantes	Atún
Mote trigo	Semidescremada	Lechuga	Cerdo	Azúcar	Jurel
Arroz	Descremada	Palta	Pollo	Edulc. Artificial	Salmón
Fideos	Saborizadas	Arvejas verdes	Pavo	Miel de abeja	Congrio
Harina de trigo	Condensada	Zapallo	Cordero	Mermeladas	Pejerrey
Harina tostada	Cultivada	Cebolla	DERIV. CÁRN.	Membrillo	Sierra
Cabritas	En polvo	Porotos verdes	Jamón	Ciruela	Chorito
Otros Cereales	DERIV.LÁCT.	Zanahoria	Jamón acara.	Frambuesa	Macha
Av. Quacker	Láct. Proces.	Betarraga	Jamón de pavo	Frutilla	Piure
Barra Cereal	Manjar	Pepino	Jam ahumado	Mosqueta	Camarones
Multi chirríos	Yog. saborizado	Coliflor	Paté	Mora	Jaiba
Linaza	Yogurt natural	Apio Repollo	Paté ternera	Ligth	Hamb. Pesca
Chocapic	Yog. c/trozos	Pickle	Paté jamonado	Jugo Polvo	GRASAS
Cer. integral	Flan	Cilantro	Salame	Saborizados	Aceites
C. Procesados	Sem c/leche	Aceitunas	Salc. Cerveza	Dulces	De Maravilla
Frac	Leche asada	Puerros	Mortadela	Alfaj. Nutrabie	De Oliva
Nick	Sem/mermela	Pimentón	Mort. Jamonad	Alfaj. Chocol.	Balsámico
Crakelet	Arroz/leche	Palmitos	Pasta de pollo	Negrita	Vegetal
Selz	Gozo	Acelgas	Hamb. Pollo	Kit kat	Grasas
Dulces	Macedonia	Alcachofa	Hamb. Vacuno	Morocho	Mayonesa
Chocochips	Quesos	Carne soya	Hamb. pavo	Súper 8	Mantequilla
Agua	Chanco	Brócoli	Longaniza	Bon o bon	Margarina
Soda	Gauda	Pepinillos	Vienesas	Golazo	Mant. vegetal
Vitalife	Queso rallado	Ajé verde	LEGUMIN.	Pie de manzan	BEB.ANALC.
Quaker	Queso fresco	Espárragos	Choclos	Pie de limón	Gaseosas
Din-Don	Queso crema	Dihueñes	Porotos	Caram/calug.	Coca-Cola
Mantequilla	Quesillo	Diente dragon	Arvejas	Torta	Tai Cola
Kuky	Crema	Champiñón	Lentejas	Torta de choc.	Coca light
Obleas	Crema espesa	Cochayuyo	Nueces	Galleta choc.	Fanta
Milcao	Mantequilla	FRUTAS	Maní	Trufa	Orange cruch
Calz. rotos	Helados	Manzana	PAN	Berlín	Sprite
Alfajor	Helado	Perejil	Blanco	Queque	Limón soda
Integrales	ALIÑOS Y OTR.	Durazno	Molde	Kuchen	Mineral
Sopaipillas	Aliños	Naranja	Amasado	Turrón	Canada dry
Picarones	Sal	Limón	Integral	Brazo reina	Jugos Caja
BEB.ALC.	Concentr. (calug)	Plátano	Marraqueta	Chancaca	Durazno
Cerveza	Orégano	Uva	Pollito	Papas fritas	Naranja
Vino Tinto	Ajé	Pera	Pita	Twistos	Manzana
Vino Blanco	Pimienta	Castaña	Centeno	Doritos	Ciruela
Pisco	Comino	Piña	Baguette	Ramitas queso	Kivi/Naranja
Ron	Ajo	Ciruela		Ramitas	Kivi/plátano

BEB.ALCOH.	Aliños Proc.	FRUTAS	HUEVOS	Dulces	Jugos Caja
Chicha	Salsa de tomate	Membrillo	Huevo	Cheetos	Pomelo
Licor manzan.	Sopas concentra.	Mandarina		Chocolates	Piña
Menta frape	Mostaza	Frutilla		Choc/almendra	Papaya
Bailys	Salsa Bolognesa	Nalca		Chocolates	Frambuesa
Malta	Salsa americana	Murta		Al cognac	Soya
Amaretto Souer	Kétchup	kiwi		Capri	Otras Aguas
Güisqui	Salsa carne	Piñones		Milo	Té
Licor de anís	Vinagreta	Pasas		Choc. en polvo	Café
	Chucrut	Frambuesas		Jaleas	Hierbas
	PAPAS			Jalea	Mate
	Papas			Jalea Ligth	Manzanilla
					Agua
					Té verde
					Herbalife

*Donde los grupos de alimentos se encuentran en recuadros de color gris oscuro y los subgrupos en los que fueron divididos éstos, en recuadros de color gris claro.

ANEXO 4 Canasta de Compra.

GRUPOS	MUESTRAS		
1. Pan	M1	M2	M3
Hallulla	Santa Isabel	Bigger	Unico
Amasado	Casero 1	Casero 2	Casero 3
Integral	Santa Isabel	Bigger	Unico
Marraqueta	Santa Isabel	Bigger	Unico
Pan molde	Ideal		
Pan pita		Santa Isabel	
Pan baguette			Unico
2. Cereales	M1	M2	M3
Arroz	Oregon Acon	cagua	Miraflores
Pastas	Carozzi Acon	cagua	Locketti
Gall. chocochips	2en1 M	^c kay Cos	ta
Galletas soda	2en1 M	^c kay Cos	ta
Galletas obleas	2en1 M	^c kay Cos	ta
Sopaipillas	Casa 1	Prefrita Lider	Casa 2
Harina de trigo	Collico	Lider	Selecta
Galletas salvados	Selz	M ^c kay Cos	ta
Harina tostada	Mariposa		
Calzones rotos		Santa Isabel	
Picarones			Vocatto
3. Azucares	M1	M2	M3
Pasteles	Torta (Selva Negra)	Queque	Pie de limón
Azúcar	Líder Bona	nza	Dama Blanca
Chocolates	Nestlé (Sanne Nuss)	Costa Milk Ambrosoli	(Bitter)
Mermeladas	Mora (Malloa)	Mora (Los Lagos)	Mora (Watt's)

Alfajor de chocol.	Arcor		
Papas fritas	Kr	yspo	
Turrón			2 En 1
4. Leche	M1	M2	M3
Entera	Colun	Loncoleche	Soprole
Saborizadas	Soprole (Chocolate)	Loncoleche (Plátano)	Parmalat (Frutilla)
Polvo	Colun	Calo	Purita Cereal
Descremada	Colun	Nestlé	Calo
Cultivada	Nestle Frutilla	Soprole Frutilla	Colun
Semidescremada	Loncoleche s/lactos		
Condensada	Nes	tle	Nestlé
5. Papas	M1	M2	M3
	Santa Isabel	Unico	Feria
6. Carnes	M1	M2	M3
Vacuno	Prodea Unico		Biguer
Pollo	Prodea Unico		Biguer
Cerdo	Santa Isabel	Unico	Biguer
Pavo	Prodea Unico		Biguer
Guatita	Santa Isabel		Santa Isabel
Pana de pollo		Unico	
7. Deriv. Cárnicos	M1	M2	M3
Mortadela	Aldus	Pacel	Super
Longaniza	Felco Pacel		Llancahue
Paté	Perello	Super Pollo	Don Cerdo
Jamón	PF Winte	r	Super
Vienesas	Felco Pacel		Llanquihue
Hamburguesas	Til King		Montina
Salame	Felco		
Cecina jamonada		Don Cerdo	
Salchich. cerveza			La Valdivia
8. Beb. analcohol.	M1	M2	M3
Agua	Sector Las Animas	Sector Isla Teja	Sector San Luis
Gaseosas	Coca-Cola Rap	-Piña	Fanta
Jugos envasados	Parmalat (Durazno)	Colun(Durazno) Wa	tt`S
Agua mineral	Cachantun Vital		Dassani
Te	Ceylon Tea Emblem		
Café		Nescafe	
Mate			Taragui
9. Beb. alcohólic.	M1	M2	M3
Cerveza rubia	Cristal	Heineken	Escudo
Cerveza negra	Brama Porter	Cristal	Bock Kunstman
Vino tinto	Fresco Gato		Tocornal
Vino blanco	Fresco	Clos de Pirque	Santa Rita
Malta	Morenita	Morenita	Morenita
Chicha	Artesanal	Artesanal	Artesanal
Ron	Cacique		
Pisco		Capel	
Ponche			Artesanal
10. Huevos	M1	M2	M3
	Copita	De Talca	De campo

11. G y A	M1	M2	M3
Mayonesa	Hellmann`S Maggi		Lider
Aceite vegetal	La Reina	Miraflores	Ibian
Mantequilla	Soprole Colun		Calo
Margarina	Doña juanita	Soprole	Dorina
Aceite de oliva	La Crianza		
Manteca	Bellmont		
Aceite maravilla			Natura
12. Pesc. y marisc.	M1	M2	M3
Merluza	Feria fluvial	Feria fluvial	Feria fluvial
Atún	Feria fluvial	Deycomar	Esmeralda
Salmon	Feria fluvial	Robinson Crusoe	Feria fluvial
Robalo	Feria fluvial	Feria fluvial	Feria fluvial
Tacas	Ecofish	Feria fluvial	Feria fluvial
Jurel	La bonita	Pacifico	San pedro
Mix mariscos	Angelmo	Lider	Robinson crusoe
Pejerrey	Feria fluvial	Feria fluvial	Feria fluvial
Choritos	Feria fluvial	Feria fluvial	Feria fluvial
Piures		Feria fluvial	
Hamb. de pescado	Junaeb		
Jaivas			Feria Fluvial
13. Legum. y nuec.	M1	M2	M3
Lentejas	Oregon Granel		Granel
Choclo	Wasil (envasado)	Granel	Congelado Unico
Porotos	Oregon Campo	lindo	Banquete
Arvejas	Oregon	Granel	Lo mejor dl campo
Mani	S/Sal		S/Sal
Nueces	Frutito	s	
14. Deriv. lácteos	M1	M2	M3
Yogurt	Los Alerces	Colun	Soprole
Queso chanco	San Rafael	Cutum	Las Parcelas
Queso gauda	Colun Colgué		Dos Alamos
Quesillo	Quillalles Soprole		Cuinco
Helado	Bressler	Savory	Doggis
Sémola con leche	Nestle	Soprole	Soprole
Arroz con leche	Soprole Soprole		Soprole
Flan	Nestlé Parmalat		Soprole
Crema	Nestlé Parmalat		Soprole Light
Manjar		Colun	Langer
Queso crema	Colun		
15.vegetales	M1	M2	M3
Tomate	Feria	Lider	Lider
Lechuga	Feria	Doite	Lider
Palta	Hass Bigger	Hass	Lider
Arvejas	Wasil	Julienne	Lider
Zapallo	Peruano (Junaeb)	Feria	Lider
Cebolla	Peruano (Junaeb)	Feria	Lider
Porotos verdes	Congelado, Unico	Julienne	Lider
Zanahorias	Feria	Unico	Lider
Betarraga	Unico Feria		Lider
Pepino	Bigger		

Coliflor		Bigger	
Apio			Lider
16. Frutas	M1	M2	M3
Manzana	Feria	Unico	Lider
Durazno	Conserv 2 Caballos	Unico	Lider
Naranjas	Feria Unico		Lider
Limón	Frescolin Natural	Unico	Feria
Plátano	Feria Unico		Lider
Uvas	Manzana Pommerening	g	Manzana
Pera	Deshidr. Altotacruz	Unico	Lider
Castaña	Perello	De Cuaju, El Granero	Cuaju, Millantu
Piña	Wasil	Cons. Pommerening	Conserva, Lider
Ciruelas	Feria		
Membrillo		Conserva, Perello	
Mandarinas			Conserva, Demaria
17. Aliños	M1	M2	M3
Salsa de tomate	Carozzi San	Remo	Danzeppo
Sopa fideo	Knorr Nature	za	Maggi
Sopas espárragos	Knorr Nature	za	Maggi
Sopa verduras	Knorr Nature	za	Maggi
Sal	Lobos Salt		Biosal
Mostaza	Jb		
Bolognesa		Lucketti	
Oregano			Marco Polo

ANEXO 5 Cuantificación de la porción (g o ml).

Alimento	Porción	Consumo (g o ml)
Café	1 taza normal	200 ml
Azúcar	2 cucharadita	10 g
Hallulla	1 unidad	100 g
Margarina	2 cucharaditas	12 g
Queso chanco	1 lámina	40 g

ANEXO 6 Obtención del consumo diario de los alimentos

La forma en que se obtuvo el valor del promedio de consumo diario de los alimentos determinados se explicara a través del siguiente ejemplo:

- Se obtiene un total sumando la cantidad de tomates (porción en gramos) presente en todo guiso o preparación que le contenga (completos, ensaladas, etc.)

Alimento	Nº de guisos contabilizados (1)	Porción de tomate por guiso [g] (2)	Consumo del alimento [g] (1*2)
Tomate	112,73	240	
Total			27055,2

Al tener la cantidad total de gramos de tomate consumido por los encuestados en el intervalo de un día (27055,2 g), el valor es dividido por 382 (que es la cantidad de encuestados) y así se obtiene el promedio del consumo medio diario.

De la fórmula:

$$\text{consumo medio diario [g]} = \frac{\text{gramos totales}}{\text{nº de encuestados}}$$

$$\text{consumo medio diario}_{\text{tomate}} = \frac{27055,2[\text{g}]}{382[\text{per}]} = 70,82[\text{g} / \text{per}]$$

Ya que cada encuesta es realizada en base a la alimentación de una persona durante un día, la unidad final del valor del consumo medio diario es [gr/per/día], por lo tanto la ingesta de tomate es:

$$\text{consumo medio diario}_{\text{tomate}} = 70,82[\text{g} / \text{per} / \text{día}]$$

ANEXO 7 Alimentos consumidos por la población (gramos), los cuales representan un valor bajo del 2% del consumo total promedio

PAN		DERIVADOS LACTEOS		VEGETALES	
Pan molde	2,96	Manjar	1,77	Pepinos	3,64
Pan pita	0,52	Queso crema	0,79	Coliflor	3,37
Pan baguette	0,52	Total	2,55	Apio	3,19
Pan pollito	0,52	CARNES		Repollo	2,36
Pan centeno	0,46	Cordero	0,52	Pimentón	1,84
Total	4,99	Guatita	0,26	Puerros	1,26
CEREALES		Pana de pollo	0,26	Picle	1,05
Harina tostada	0,52	Carne mongoliana	0,26	Cilantro	1,04
Calzones rotos	0,42	Total	1,31	Aceitunas	1,01
Picaron	0,39	DERIVADOS CARNICOS		Palmitos	0,86
Cereal integral	0,27	Salame	0,26	Acelgas	0,79
Milcao	0,26	Cecina jamonada	0,21	Alcachofa	0,52
Mote trigo	0,26	Salchichón cerveza	0,10	Ensalada rusa	0,52
Cereales	0,25	Total	0,58	Champiñón	0,50
Avena quacker	0,17	BEBIDAS NO ALCOH.		Cochayuyo	0,39
Barra de cereal	0,14	Té	1,93	Perejil	0,27
Milo	0,14	Café	1,67	Chucrut	0,26
Palomitas	0,09	Mate	1,24	Carne de soya	0,24
Barra cereal linaza	0,05	Batido herbalife	0,55	Brócoli	0,20
Chocapic	0,04	Te verde	0,26	Pepinillos	0,20
Cereal multi chirrios	0,01	Café Ecco	0,05	Ají verde	0,16
Total	3,02	Te de hierbas	0,05	Espárragos	0,10
AZUCARES		Manzanilla	0,02	Dihueñes	0,05
Alfajor chocolate	0,84	Te de amareto	0,01	Diente de dragón	0,01
Papas fritas (bolsa)	0,79	Total	5,77	Total	23,84
Turrón	0,65	FRUTAS		ALIÑOS	
Jugo en polvo	0,29	Ciruelas	2,02	Mostaza	0,30
Doritos	0,26	Membrillo	1,83	Salsa bolognesa	0,21
Morocho	0,24	Mandarina	1,68	Orégano	0,20
Súper 8	0,20	Mix de frutas	1,31	Salsa americana	0,20
Caramelos/calugas	0,19	Frutillas	1,05	Ketchup	0,16
Chancaca	0,13	Nalca	0,79	Salsa de carne	0,12
Cheetos	0,13	Murta	0,79	Pimienta	0,11
Negrita	0,12	Kiwi	0,65	Caldo maggi caluga	0,08
Kit kat	0,12	Piñones	0,35	Ají	0,07
Twistos (bolsa)	0,10	Pasas	0,26	Vinagreta	0,05
Alfajor Nutrabien	0,10	Frambuesas	0,17	Ajo	0,03
Ramitas de queso	0,07	Total	10,89	Comino	0,11
Ramitas	0,07	LECHE		Total	1,64
Golazo	0,07	Semidescremada	2,09		
Bon o bon	0,04	Leche condensada	1,68		
Total	4,43	Total	3,77		

PESCADOS Y MARISCOS		BEBIDAS ALCOHOLICAS		GRASAS Y ACEITES	
Piures crudos	0,26	Ron	0,92	Aceite de oliva	0,12
Hamb pescado	0,18	Pisco	0,73	Manteca vegetal	0,10
Jaiba	0,16	Ponche	0,52	Aceite maravilla	0,05
Luche	0,16	Bailys	0,26	Aceite balsámico	0,01
Camarones	0,08	Amarteo souer	0,18	Total	0,16
Total	0,84	Wisky	0,18		
		Licor de manzanilla	0,16	LEGUMIN. Y NUECES	
		Menta frape	0,10	Maní	0,79
		Licor de anis	0,10	Nueces	0,13
		Total	3,17	Total	0,92

ANEXO 8 Preparación de la lista o canasta de compra de alimentos.

El ejemplo está hecho en base del grupo pan.

Grupo: PAN	Consumo [g/per/día]	Representatividad en el grupo (%)
Pan blanco	173,78	71,14
Pan amasado	44,18	18,08
Pan integral	11,52	4,72
Pan marraqueta	9,82	4,02
Pan molde	2,96	1,21
Pan pita	0,52	0,21
Pan baguette	0,52	0,21
Pan pollito	0,52	0,21
Pan centeno	0,46	0,19
Total	242.68	100.00

Los alimentos destacados en azul son aquellos que siempre se compran (>2%), los destacados en rojo y verde indican los alimentos que representan a todos aquellos que no superan un 2% de representatividad. Cada uno de ellos (destacados en rojo), por sí solo, representará en masa a la totalidad de los panes que no superó el 2% en una de las tres muestras en los procedimientos de laboratorio, por lo tanto, los alimentos que se compran son los destacados en rojo y azul. El peso de los de color verde por si solo es agregado a un grupo de color rojo.

ANEXO 9 Ingesta de alimentos a través de dieta total

Grupos de Alimentos	Valdivia (2007)	Santiago (2005)
Vegetales	241,3	327,3
Frutas	89,6	156,4
Leche	116,4	175,1
Productos lácteos	112,8	232,0
Azúcares	67,1	103,4
Legumbres y nueces	26,0	49,8
Productos cárnicos	40,4	36,6
Carnes	77,5	178,3
Grasas y aceites	15,7	38,6
Huevos	13,1	27,9
Papas	129,0	137,5
Pan	244,3	242,7
Pescados y mariscos	18,6	33,1
Bebidas no alcohólicas	539,6	32,8
Bebidas alcohólicas	50,4	49,1
Aliños	17,9	38,4
Cereales	104,0	83,3

ANEXO 10 Comparación dieta total en diferentes países

Grupos de Alimentos	Consumo de Alimentos (g/persona/día)					
	Chile 2003	Chile 2007	España 1991	China 1990	Japón 2003	Gran Bretaña 1994
Aceites y grasas	38,6	15,7	45,0		19,0	29,0
Aliños	38,4	17,8				
Azúcares	103,4	67,1	34,4	3,4	31,0	67,0
Bebidas no alcohólicas	329,8	539,6	198,2		600,0	91,5
Bebidas alcohólicas	49,1	50,4	243,1	14,0		52,6
Carnes	178,3	77,5	117,9	48,9	108,0	45,0
Cereales	83,3	104,0	61,7	461,4	239,5	10,0
Derivados cárnicos	36,6	40,4	45,3			44,0
Derivados lácteos	232,1	112,8	57,6			57,0
Frutas	156,4	89,6	377,0	101,2	116,0	65,0
Huevos	27,9	13,1	40,9	17,1		16,0
Leche	175,1	116,4	293,7	11,0	143,0	284,0
Leguminosas	49,8	26,0	26,7	39,5	73,0	2,0
Pan	242,7	244,3	121,7			110,0
Papas	137,5	129,0	90,3	101,0		133,0
Pescados	33,1	18,6	89,3	22,9	79,0	13,0
Vegetales	327,3	241,3	159,0	323,9	157,0	110,0
Total 2239,4		1903,5	2001,8	1144,3	1565,5	1129,1

ANEXO 11 Curvas de Calibración

Grafico 1

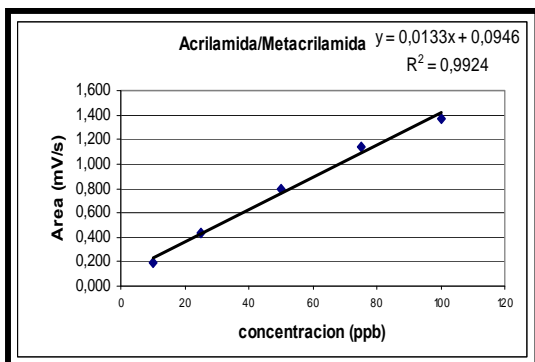


Grafico 2

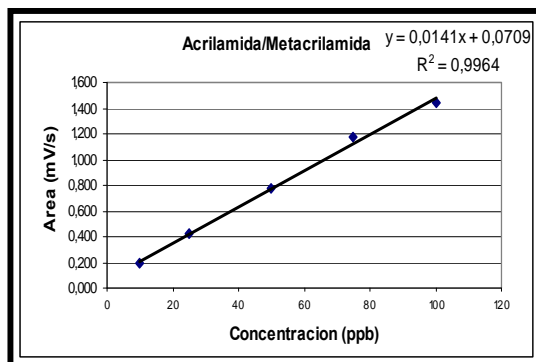


Grafico 3

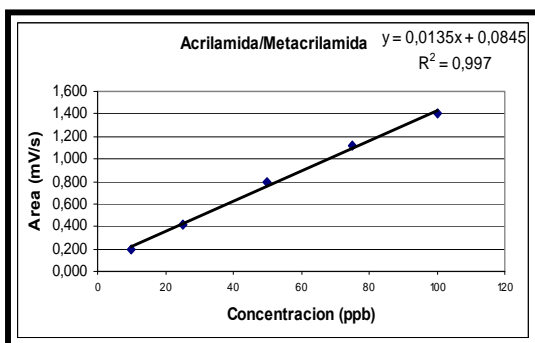


Grafico 4

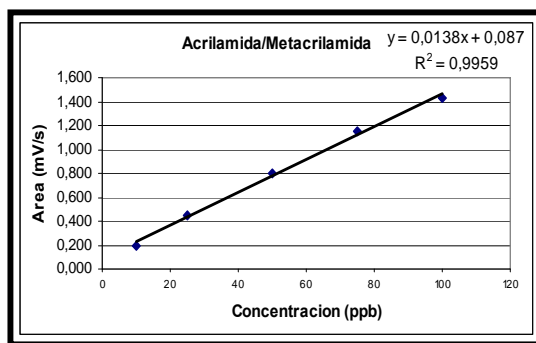


Grafico 5

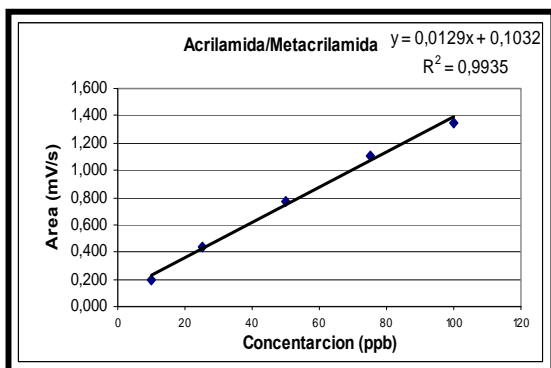
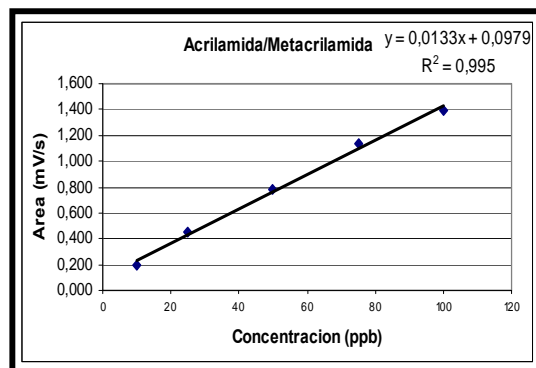


Grafico 6



Concentración (ppb)	Grafico 1 (Área mV/s)	Grafico 2 (Área mV/s)	Grafico 3 (Área mV/s)	Grafico 4 (Área mV/s)	Grafico 5 (Área mV/s)	Grafico 6 (Área mV/s)
10	0,192	0,192	0,188	0,195	0,194	0,193
25	0,426	0,432	0,449	0,422	0,452	0,442
50	0,780	0,789	0,800	0,789	0,783	0,770
75	1,171	1,141	1,146	1,117	1,133	1,110
100	1,441	1,373	1,429	1,401	1,393	1,349
Intercepto	0,071	0,095	0,087	0,084	0,098	0,103
Pendiente	0,014	0,013	0,014	0,013	0,013	0,013

ANEXO 12. Limite de decisión (cca).

Gráficos	Intercepto (área mV/s)	Pendientes (área)
1	0,071	0,014
2	0,095	0,013
3	0,087	0,014
4	0,084	0,013
5	0,098	0,013
6	0,103	0,013
	Promedio	Promedio
	0,090	0,013
	Desviación estándar	Desviación estándar
	0,011	0,0004

$Cc\alpha$ (área)= Promedio de los interceptos en área + (2.33 * D. Estándar de los interceptos)

$$Cc\alpha \text{ área} = 0,090 + (2,33 * 0,011)$$

$$Cc\alpha \text{ área} = 0,12$$

$Cc\alpha$ (concentración)= (Cca área – Promedio intercepto)/Promedio pendiente

$$Cc\alpha \text{ (concent.)} = \frac{(0,12 - 0,090)}{0,013}$$

$$Cc\alpha \text{ (concent.)} = 2 \mu\text{g} / \text{Kg}$$

ANEXO 13 Capacidad de detección (cc β).

Análisis	Área
1	0,082
2	0,075
3	0,079
4	0,065
5	0,073
6	0,069
7	0,069
8	0,070
9	0,072
10	0,069
11	0,077
12	0,074
13	0,080
14	0,079
15	0,073
16	0,068
17	0,085
18	0,087
19	0,091
20	0,092
Promedio	0,077
D. Estándar	0,008
C.V.	0,101
Pendiente	0,013
Intercepto	0,090

cc β área = Concentración correspondiente al cca + (1,64* D. Estándar de las áreas)

$$Cc\beta \text{ área} = 0,12 + (1,64 * 0,008)$$

$$Cc\beta \text{ área} = 0,13$$

cc β (concent.) = (cc β área – intercepto)/pendiente

$$cc\beta(\text{concent.}) = \frac{(0,13 - 0,090)}{0,013}$$

$$cc\beta(\text{concent.}) = 3,0$$

ANEXO 14 Precisión y Exactitud

CON ADICION DE ACRILAMIDA		
Área	ppb (solución)	ppm(Alimento)
925,6	1517,6	75,9
895,7	1468,4	73,4
970,5	1591,6	79,6
X	1525,9	76,3
D. Estándar	62,0	3,1
Precisión (%)	4,1	
Exactitud (%)	95,5	

SIN ADICION DE ACRILAMIDA		
Área	ppb (solución)	ppm(Alimento)
348,9	567,2	28,4
351,8	572,1	28,6
353,1	574,1	28,7
X	571,1	28,6
D. Estándar	3,6	0,2
Precisión (%)	0.63	

CON ADICION ACRILAMIDA DILUIDO		
Área	ppb (solución)	ppm(Alimento)
105,949	83464,7	83,5
102,106	80298,3	80,3
110,341	87083,5	87,1
X	83615,5	83,6
D. Estándar	3395,1	3,4
Precisión (%)	4.060	
Exactitud (%)	110.1	

ANEXO 15 Resultados obtenidos en la validación del método (muestra de pan horneado, con y sin adición de acrilamida)

	acrilamida		metacrilamida	
	Tiempo retención (min)	Área (mV/s)	Tiempo retención (min)	Área (mV/s)
1 Con adición	3.277	925.556	5.323	51.943
2 Con adición	3.283	895.726	5.410	44.730
3 Con adición	3.283	970.500	5.407	44.741
4 Sin adición	3.270	351.818	5.320	51.163
5 Sin adición	3.263	353.058	5.297	50.044
6 Sin adición	3.263	348.855	5.320	50.146

ANEXO 16 Cálculos para determinar la concentración del elemento [ppb] (ng/g ó ug/kg) en los grupos de alimentos

Los ejemplos de cálculos se harán para a partir del grupo bebidas alcohólicas

Concentración del elemento en base húmeda.

Muestra	Submuestra	Concentración de acrilamida [ng/g]
1	A	0,00
2	A	525,69
3	A	4452,41

Ya que las 3 muestras pertenecen a un mismo grupo, sólo es necesario promediar los valores de concentración:

$$\therefore$$

$$\text{Concentración de acrilamida [ng/g]} = \frac{0 + 525,69 + 4452,41}{3} [ng/g] = 1659,37$$

$$\text{Concentración de acrilamida } [\mu\text{g/g}] = 1,66$$

ANEXO 17 Cálculos para determinar la ingesta del elemento [$\mu\text{g}/\text{día}$], a través de un grupo de alimentos, por cada persona.

Para determinar la ingesta del elemento a partir de la fórmula:

$$\text{Ingesta del elemento } [\mu\text{g}/\text{día}] = \text{concentración del elemento } [\text{ng}/\text{g}] * \text{dieta típica} [\text{g}/\text{día}]$$

Ejemplo para grupo “Derivados lácteos”:

Datos:

Concentración acrilamida (b.h): 0,00 [ng/g]

Dieta de Derivados Lácteos por cada persona: 112,7644 [g/día]

$$\text{Ingesta de AA}_{(\text{Der.Lácteos})} \text{ base húmeda} = 0,00 [\text{ng}/\text{g}] * 112,7644 [\text{g}/\text{día}]$$

$$= 0,00 [\text{ng}/\text{día}]$$

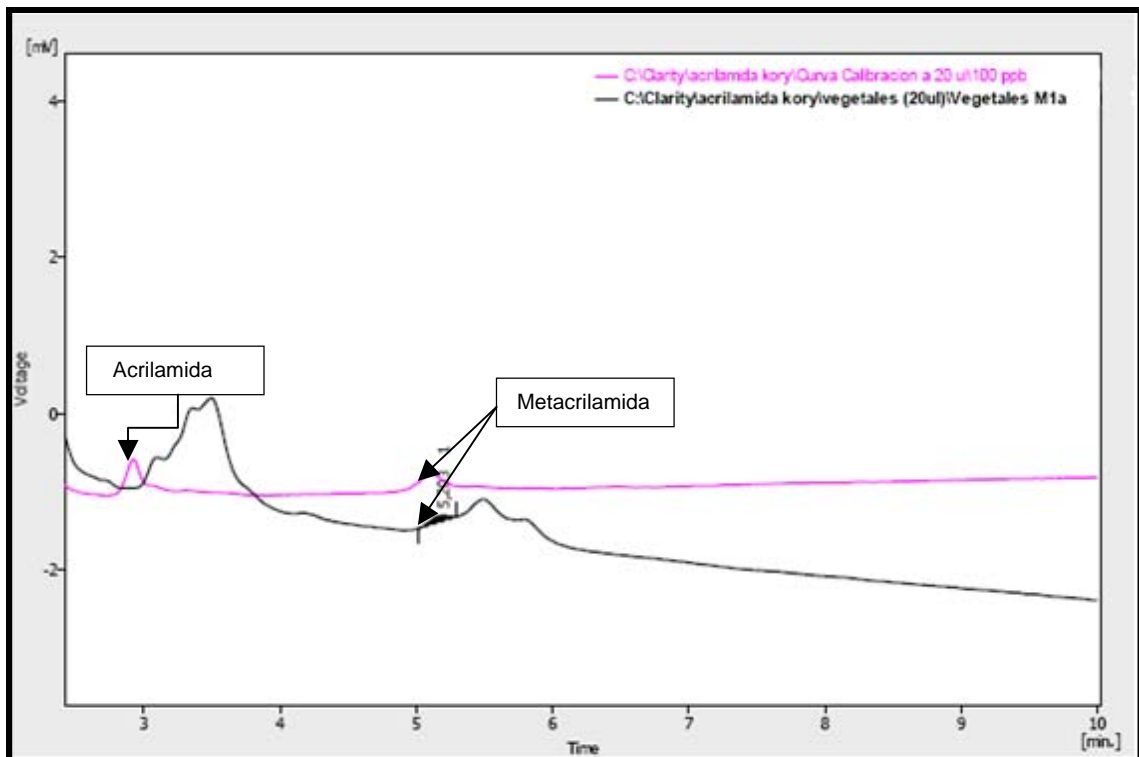
Considerando que la ingesta está referida a un individuo promedio de 69 [Kg], el resultado queda finalmente expresado como:

$$= 0.00 [\mu\text{g} / \text{persona} / \text{día}]$$

ANEXO 18 Control de calidad análisis del grupo vegetales

Vegetales				
	Área (mV)		Tiempo (min)	
	acrilamida	metacrilamida	acrilamida	metacrilamida
blanco	0	0	0	0
M1a 1	0	1,464	0	5,187
	0	1,177	0	5,343
	0	0,732	0	5,203
100 ppb	3,924	2,885	2,923	5,123
M2a 1	0,288	2,387	2,387	5,187
	0,301	2,035	2,887	5,123
	0,327	1,942	2,893	5,077
M3a 1	0	2,746	0	5,141
	0	3,158	0	5,027
	0	3,194	0	5,003

Cromatograma ejemplo del grupo vegetales M1a, donde se puede observar la ausencia de acrilamida en dicho grupo.



ANEXO 19 Comparación concentración de acrilamida con estimaciones de FAO

Alimentos	CHILE 2007	FAO/WHO 2005	
	Concentración acrilamida µg/Kg	acrilamida µg/kg	acrilamida µg/kg
		Estimaciones internacionales	máximos reportados
Aceites y Grasas	-	-	-
Aliños	-	71	1168
Azucares	-	24	112
Bebidas alcohólicas	1659,37	6,6	46
Bebidas no alcohólicas	-	0,00	7300
Carnes	-	19	313
Cereales	-	343	7834
Derivados Cárnicos	-	-	-
Derivados Lácteos	-	-	-
Frutas	-	131	770
Huevos	-	-	-
Leche	-	5,8	36
Leguminosas y Nueces	-	51	320
Pan	-	-	-
Papas	-	477	5312
Pescados y Mariscos	-	19	233
Vegetales	130,74	17	202