



PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE CHILE
ESCUELA DE INGENIERIA

ESTUDIO DEL EFECTO DE LA ACTIVIDAD DE AGUA SOBRE LA FORMACIÓN DE FURANO EN SISTEMAS MODELO DE GLUCOSA- SERINA SOMETIDOS A ALTAS TEMPERATURAS

MACARENA ANDREA FREDES ALVIAL

Tesis para optar al grado de Magister en Ciencias de la Ingeniería

Profesor supervisor

FRANCO PEDRESCHI PLASENCIA

Profesor co-supervisora

MARÍA SALOMÉ MARIOTTI CELIS

Santiago de Chile, (Abril, 2020)

© 2020, Macarena Fredes



ESTUDIO DEL EFECTO DE LA ACTIVIDAD DE AGUA SOBRE LA FORMACIÓN DE FURANO EN SISTEMAS MODELO DE GLUCOSA- SERINA SOMETIDOS A ALTAS TEMPERATURAS

MACARENA ANDREA FREDES ALVIAL

Tesis presentada a la Comisión integrada por los profesores:

FRANCO PEDRESCHI PLASENCIA

MARÍA SALOMÉ MARIOTTI CELIS

WENDY VERONICA FRANCO

ROMMY ZÚÑIGA PARDO

CARLOS BONILLA MELÉNDEZ

Santiago de Chile, (Abril, 2020)

*A mis padres, hermanos, pareja y
amigos, que me apoyaron en todo
momento.*

AGRADECIMIENTOS

Desde que decidí realizar el Magister, en mi último año de pregrado, hasta el día de hoy que finalizo mi ciclo universitario, han participado muchas personas, a las cuales me gustaría agradecerles lo importante que fueron para mí en todo este proceso.

En primer lugar, quisiera agradecer a mis padres y hermano por todo el amor entregado, por ayudarme y darme el apoyo incondicional en todo momento de mi carrera y vida personal, que me permitió finalmente cumplir mis sueños y metas. Agradezco a mi compañero de vida Khalil, que desde que lo conocí siempre ha estado entregándome cariño, amor, apoyándome y dándome ánimo para seguir adelante cuando sentía que ya no tenía las fuerzas o sentía que todo estaba mal. A mis compañeras(os) y amigas(os) Catalina, Constanza y Felipe, por los buenos momentos vividos y por la ayuda prestada en distintos ámbitos de mi vida, no sólo en nuestro periodo de estudio, sino que también ahora en nuestra vida fuera de la universidad. También quiero agradecer a mi mejor amiga Poulette por todo el apoyo incondicional y amor que me ha entregado durante estos 13 años de amistad, y por siempre recalcarme que era una persona muy capaz de lograr mis metas y recordara que no debo rendirme jamás. Quiero mencionar y agradecer a Nils Huaman que me ayudó a realizar el análisis estadístico y la modelación de esta investigación. A los profesores de mi comisión, por aceptar formar parte de esto, por sus correcciones, y retroalimentación.

Quisiera terminar agradeciendo a mis profesores supervisores, Franco Pedreschi y Salomé Mariotti por darme la oportunidad de realizar esta investigación con ellos, por confiar en mí, y por la exigencia que tuvieron conmigo, porque sabían que era capaz de superar mis debilidades. Gracias por creer en mí, por guiarme y enseñarme durante este periodo de tiempo que trabajamos juntos. También, agradecer al Proyecto FONDECYT regular 1150146 titulado “*MITIGATION OF NEO-FORMED CONTAMINANTS IN CHILEAN STARCHY FOODS AND ITS EFFECT ON THE CONSUMER ACCEPTANCE*” el cual financió esta investigación.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
AGRADECIMIENTOS	iii
ÍNDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT	x
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
2.1. Antecedentes del furano	5
2.2. Furano en diferentes sistemas alimentarios	6
2.3. Mitigación del furano	7
2.4. Mecanismos de formación del furano	9
2.5. Actividad de agua	13
2.6. Métodos de cuantificación del furano	14
2.6.1. Cromatografía de gases/ espectrometría de masa (GC/MS)	14
2.6.2. Microextracción en fase sólida	15
3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	16
4. MATERIALES Y MÉTODOS	17
4.1. Materiales	17
4.2. Diseño sistema modelo	17
4.3. Elaboración de los sistemas modelos	20
4.4. Condiciones de calentamiento	22
4.5. Actividad de agua (a_w)	23
4.6. Cuantificación de furano	23
4.6.1. Preparación de las muestras	23
4.6.2. Cromatografía de gases / espectrometría de masa (GS/MS)	24
4.7. Análisis estadístico	25
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27

5.1. Efecto de la temperatura en la formación de furano	29
5.2. Efecto de la razón de glucosa/serina en la formación de furano	30
5.3. Efecto de la actividad de agua en la formación de furano	32
6. CONCLUSIONES Y TRABAJO FUTURO	35
REFERENCIA	37
ANEXOS.....	45
A. ANEXO: MATERIALES Y EQUIPOS	46
B. ANEXO B: ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	49

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2-1. Contenido de furano en alimentos procesados a altas temperaturas.....	6
Tabla 4-1. Medición de actividad de agua para colados de carne y vegetales marca Nestlé.....	20
Tabla 4-2. Razones molares glucosa/serina utilizadas en la preparación de los sistemas modelo.....	22
Tabla 5-1. Concentración de furano ($\eta\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) en sistema modelo glucosa/serina para las distintas combinaciones de temperaturas (120 °C, 130 °C, 140 °C y 150 °C), actividades de agua (0,55; 0,65; 1,00) y razones de glucosa/serina (1:10, 1:1 y 10:1).....	27
Tabla 5-2. Coeficientes de regresión para furano.	29
Tabla B-1. Análisis de Varianza para Furano - Suma de Cuadrados Tipo III	49
Tabla B-2. Pruebas de comparación múltiple de rangos Tukey. Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD	50
Tabla B-3. Tabla de Medias para Furano con intervalos de confianza del 95.0%.....	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2-1. Mecanismos de formación del furano. Obtenido de: Mariotti Celis (2014).....	10
Figura 2-2. Formación de furano por medio de la reacción de Maillard. Obtenido de: Mariotti Celis (2014).....	11
Figura 4-1. Ingredientes colado carne con verduras marca Nestlé. Recuperado de: https://www.comienzosanovidasana.cl/naturnes/	18
Figura 4-2. Diagrama de bloques del proceso experimental.....	21
Figura 5-1. Formación de furano en sistema modelo glucosa/serina cuando las razones molares de ambos son 10:1 (A), 1:1 (B) y 1:10 (C) y las temperaturas son 120 °C, 130 °C, 140 °C y 150 °C. Las actividades de agua son 0,55 (◆), 0,65 (■) y 1,00 (▲).	33
Figura A-1. Agitador vórtex, marca equilab	46
Figura A-2. Baño de aceite termorregulado.....	47
Figura A-3. Placa acero inoxidable	47
Figura A-4. Viales en baño de aceite termorregulado.....	48
Figura A-5. Viales en baño de aceite termorregulado con rejilla	48

RESUMEN

Los alimentos procesados a altas temperaturas (80 °C - 200 °C), pueden contener compuestos potencialmente cancerígenos como el furano. Los azúcares reductores y los aminoácidos son precursores importantes en la formación de furano en alimentos para bebés, de los cuales se pueden destacar la glucosa y la serina. Además, las condiciones de proceso como la temperatura, pH, actividad de agua, entre otros afectan la formación de este neo-contaminante en los alimentos.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto que tiene la variación de tres factores de proceso como la actividad del agua (0,55, 0,65 y 1,00), la temperatura de proceso (120 °C, 130 °C, 140 °C y 150 °C) y las razones molares entre glucosa y serina 10:1 (0,02 mol·L⁻¹ / 0,002 mol·L⁻¹), 1:1 (0,02 mol·L⁻¹ / 0,02 mol·L⁻¹) y 1:10 (0,002 mol·L⁻¹ / 0,02 mol·L⁻¹), sobre la formación de furano en sistemas modelo conformados por glucosa/serina.

Para llevar a cabo los experimentos se diseñaron sistemas modelo a diferentes razones molares y actividades de agua, los cuales posteriormente fueron sometidos a cuatro temperaturas de calentamiento en un baño termorregulado por 25 minutos. Todos los sistemas modelo fueron realizados por duplicado. La cuantificación de furano en las muestras se realizó por medio de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masa. De acuerdo con los resultados obtenidos, las mayores concentraciones de furano se obtuvieron cuando la temperatura de proceso fue 150 °C, y el valor más alto alcanzado fue 60,55±4,42 ng·g⁻¹ en las condiciones 1:1 y a_w = 0,55. También, se propone que la formación de furano tiene como posible reactivo limitante a la serina, dado que las muestras con exceso de serina presentan mayor contenido de furano que las muestras con exceso de glucosa.

Dado lo anterior se pudo concluir, que es factible modular la generación de furano en un sistema modelo alimentario en base a glucosa/serina cuando se varían los tres factores estudiados. Además, se obtuvo que cuando la actividad de agua aumenta la formación de furano disminuye un 55% en promedio cuando la razón entre reactivos es 1:1, lo que

sugiere que la eliminación de agua es determinante en la velocidad de formación de furano.

Palabras Claves: actividad de agua, calentamiento isotérmico, furano, razón molar, sistema modelo.

ABSTRACT

Foods processed at high temperatures (80 °C - 200 °C) contain potentially carcinogenic compounds such as furan. Reducing sugars and amino acids are important precursors in the formation of furan in baby foods, of which glucose and serine can be highlighted. In addition, it has been shown that the process conditions such as temperature, pH, water activity, among others affect the formation of this neo-contaminant in food.

The objective of this work was to evaluate the effect of three process factors such as the water activity (0.55, 0.65 and 1), the process temperature (120 °C, 130 °C, 140 °C and 150 °C) and the Molar ratios between glucose and serine 10:1 (0,02 mol·L⁻¹ / 0,002 mol·L⁻¹), 1:1 (0,02 mol·L⁻¹ / 0,02 mol·L⁻¹) y 1:10 (0,002 mol·L⁻¹ / 0,02 mol·L⁻¹), on the formation of furan in model systems made up of glucose/serine. To carry out the experiments, model systems were designed at different molar ratios and water activities, which were subsequently subjected to four heating temperatures in a thermo-regulated bath for 25 minutes. All the model systems were made in duplicate. The quantification of furan in the samples was carried out by means of gas chromatography coupled to mass spectrometry.

According to the results obtained, the highest concentrations of furan were obtained when the process temperature was 150 °C, and the highest value reached was 60,55±4,42 ng·g⁻¹ under conditions 1: 1 and a_w = 0.55. Also, it is proposed that the formation of furan has a possible serine limiting reagent, since in samples with excess serine have higher furan content than samples with excess glucose, which suggests that the elimination of water is decisive in the rate of furan formation.

Given the above information, it was possible to conclude that it is feasible to modulate the generation of furan in a food model system based on glucose/serine when the three studied factors are varied. In addition, it is obtained that when water activity increases the furan formation decrease 55% on average when the ratio between reagents is 1:1.

Keywords: water activity, isothermal heating, furan, molar ratio, model system.

1. INTRODUCCIÓN

Durante la elaboración de alimentos, éstos requieren en muchas oportunidades ser sometidos a tratamientos térmicos, como congelación, extrusión, horneado, fritura, liofilización, entre otros. Esto, para favorecer ciertas propiedades de los alimentos o darles alguna cualidad específica que es deseada por el consumidor. En particular, los tratamientos térmicos a altas temperaturas (80 – 200 °C) como horneado, asado, fritura, esterilización y pasteurización, son muy utilizados en la fabricación de diversos alimentos, esto dado que contribuyen beneficiosamente en sus propiedades sensoriales, pues le otorgan textura, sabor, color y aromas (Anese, Manzocco, Calligaris y Nicoli, 2013; Hasnip, Crews y Catle, 2006; Van Boekel et al., 2010). Además, porque aportan en gran medida a la seguridad microbiológica de éstos y algunos de ellos aumentan la vida útil del alimento al controlar la actividad de agua (Hasnip et al., 2006; Pittia, Furlanetto, Maifreni, Mangina, y Rosa, 2008). A pesar de que los procesos térmicos tienen un efecto positivo tanto en el producto final como para el consumidor, se ha demostrado que durante estos procesos se generan compuestos tóxicos para la salud, como el furano, la acrilamida, el metilfurano, las aminas heterocíclicas, entre otros (Anese, Manzocco, Calligaris y Nicoli, 2013).

La formación de furano en alimentos es un tema estudiado hace ya un tiempo no sólo por la comunidad científica, sino que además por la industria de alimentos (Wegener y López-Sánchez, 2010). En términos fisicoquímicos se puede mencionar que el furano es un compuesto medianamente polar cuyo punto de ebullición es 31 °C, por lo que al ser expuesto a temperaturas mayores se vuelve altamente volátil. Pero en algunos casos la matriz alimentaria obstaculiza su evaporación, dejando una parte de éste retenido en el alimento (Mariotti Celis, 2014). Este neo-contaminante es considerado un posible agente cancerígeno para humanos (2B), dado que éste ha sido comprobado como un compuesto cancerígeno para roedores, y también se ha propuesto que en seres humanos puede atravesar fácilmente las membranas biológicas y ser absorbido por los pulmones, intestino e hígado (IARC, 1995; Senate Commission on Food Safety, 2007). Por lo

tanto, actualmente el consumo de furano es un tema preocupante para la salud de la población mundial.

Debido a lo anterior, ha sido importante estudiar el furano, ya que se encuentra en una amplia gama de alimentos envasados, enlatados y sin envase elaborados tanto en la industria como en los hogares, tales como el café tostado, colados para bebés, sopas, galletas, conservas, productos horneados, papas fritas, salsas, entre otros. Presentando variaciones en su concentración entre lo no identificable y los $49 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ en las matrices alimentarias (Mariotti Celis, 2014).

Los colados para bebés se encuentran dentro de los alimentos con mayores niveles de furano, con un valor promedio de $40 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, para el caso de colados de carne y vegetales (Mariotti Celis, 2014). A su vez, de acuerdo a la EFSA (2017), los bebés son los que consumen mayor contenido de furano respecto a su peso corporal, pues alcanzan un 70% del total de la ingesta de furano por medio de alimentos listos para consumir, entre los cuales se encuentran los colados. Por esta razón, se vuelve relevante estudiarlo y es una de las razones por la cual se considera un alimento objetivo en este trabajo.

De acuerdo a estudios realizados, pueden darse distintos mecanismos de formación de furano durante la elaboración de alimentos procesados a altas temperatura: i) la degradación térmica de azúcares reductores, solos o en presencia de aminoácidos a través de la reacción de Maillard, ii) la degradación térmica de aminoácidos, iii) la degradación térmica y oxidación del ácido ascórbico, ácidos grasos poliinsaturados y carotenoides (Becalski y Seaman, 2005; Limacher, Kerler, Conde-Petit y Blank, 2007; Pérez y Yaylayan, 2004). Se destaca que algunas investigaciones han propuesto que en la reacción de Maillard se genera gran parte del furano formado en los alimentos (Seok, Kim, Jeong, Lee y Yoon, 2015).

Dado que en los colados el contenido de furano es alto, es importante mencionar que uno de sus principales mecanismos de formación es la reacción de Maillard (Altaki, Santos, Puignou y Galceran, 2017). Esta reacción requiere de la interacción entre un azúcar reductor y un aminoácido (Beliz, Grosch, y Schieberle, 2004), entre los cuales se encuentra la glucosa y serina como dos precursores importantes de ésta.

La serina es uno de los aminoácidos que genera mayores niveles de furano y puede formarlo tanto en presencia de un azúcar reductor como por sí solo (Vranova y Ciesarova, 2009). A su vez, se encuentra en mayor proporción en las carnes magras (Raunio, Alho y Linko, 1978), las cuales son usadas en la elaboración de colados de carnes y vegetales. Mientras que la glucosa, además de ser un precursor de la formación de furano a través de la reacción de Maillard, ésta se encuentra presente en la gran mayoría de los vegetales utilizados en colados, ya sea como glucosa o formando parte de otros azúcares más complejos (Fennema, Damoradan y Parkin, 2007b).

Existen otros factores que influyen en la formación de furano. Por ejemplo, se ha observado que factores como el tiempo de calentamiento, temperatura, actividad de agua y pH también influyen directamente en su formación (Fan, Huang y Sokorai, 2008; Lamberts, Rombouts y Delcour, 2008; Nie et. al, 2013a). El control de la actividad de agua (agua que se encuentra disponible dentro de una matriz alimentaria) influye directamente en las velocidades de reacción química, la actividad microbiana y la actividad enzimática en los alimentos. Por lo tanto, la actividad de agua es importante en la fabricación y preparación de éstos (Troller, 2012). Algunos autores como Lee, Laye, Kim, y Morr (1996), Mariotti et al. (2012) y Yuan, Chen, Liu, Wu y Yan (2016) han observado que la variación de la actividad de agua en los alimentos podría tener relación con su contenido final de furano. Sin embargo, por el momento aún hacen falta más investigaciones para entender cómo afecta la variación controlada de la actividad de agua en la formación de furano con otros tipos de precursores y en otras matrices alimentarias.

Con estos antecedentes, se desprende la necesidad de estudiar cómo afecta la actividad de agua y otros factores de proceso, como la temperatura y razón entre precursores, en la generación de este neo-contaminante. Además, analizar la existencia de algún patrón en su formación. Para esto, se escogió utilizar un sistema modelo en donde se aislaron dos precursores del furano (glucosa y serina), dado que distintos autores proponen que utilizar en una primera instancia sistemas modelo facilita el estudio de cómo afecta cada ruta por sí sola en la formación de algún compuesto en particular, que en este caso es el furano.

Por lo anteriormente expuesto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto que tiene la variación de la actividad del agua y temperatura de proceso en la formación de furano en un sistema modelo conformado por glucosa/serina sometido a altas temperaturas (120 °C, 130 °C, 140 °C y 150 °C). Además de analizar cómo afecta la variación de las razones molares entre glucosa y serina en el sistema modelo.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

En este capítulo se presenta el estado del arte relativa a la temática del furano dietario, el cual está dividido en seis partes. Las subsecciones 2.1 y 2.2, introducen al lector sobre qué es el furano, dónde se puede encontrar y cuáles son los niveles encontrados en distintos alimentos que se consumen a diario por la población chilena. Las subsecciones 2.3 y 2.4, profundizan acerca de los estudios realizados en cuanto a los mecanismos de formación y la mitigación de este neo-contaminante, considerados como relevantes para el desarrollo de esta investigación. Por último, la subsección 2.5 interioriza al lector sobre la influencia de la actividad de agua en alimentos y en la formación de furano, y la subsección 2.6 sobre dos de las metodologías existente para la cuantificación del furano.

2.1. Antecedentes del furano

El furano (C_4H_4O) es un compuesto con un peso molecular igual a 68 g/mol y tiene un punto de ebullición de 31 °C, por lo que se considera un compuesto altamente volátil (NTP, 1993). Según la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) (1995), la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) (2010) y otros organismos gubernamentales relevantes a nivel mundial, el furano está clasificado como un compuesto potencialmente cancerígeno para el ser humano (grupo 2B), aunque no ha sido comprobado en el campo clínico con personas, sí se han realizado extensas investigaciones en animales, donde se ha demostrado que el furano es cancerígeno tanto para ratas como ratones, ya que ambos roedores presentaron severos daños hepáticos y carcinomas al ser expuestos a altas dosis de furano (NTP, 1993). Además, es un compuesto que ha sido encontrado en diversos tipos de alimentos de consumo diario que son sometidos a tratamientos térmicos (FDA, 2004). Por estas razones, se ha generado una preocupación a nivel mundial y hasta el día de hoy se siguen estudiando nuevas formas de poder entender la formación de furano y cómo poder mitigarlo en los alimentos.

2.2. Furano en diferentes sistemas alimentarios

La presencia de furano ha sido detectada en una amplia variedad de alimentos procesados térmicamente. Desde 2004 La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria comenzó a monitorear y detallar continuamente los niveles de furano en distintos tipos de alimentos sometidos a altas temperaturas, logrando en el año 2011 informar un compilado de los niveles de este neo-contaminante de todos los alimentos que se habían investigado hasta ese momento en el mundo. Por su parte Mariotti Celis (2014) adaptó estos valores informados, y los agrupó en cuatro categorías principales: (i) café líquido (instantáneo y tostado), (ii) alimentos empacados en contenedores cerrados (alimentos para bebés, alimentos enlatados, jugos de frutas y mermeladas), (iii) alimentos ricos en almidón con bajo contenido de humedad (cereales para el desayuno, pan, galletas y snack) y (iv) otros (cerveza, sopas, salsa de soja y productos lácteos). Los cuales se presentan a continuación en la Tabla 2-1.

Tabla 2-1. Contenido de furano en alimentos procesados a altas temperaturas

Alimento		Furano ($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	Alimento		Furano ($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)
Alimentos empacados en contenedores cerrado	Jugo de frutas	2,2 - 4,6	Café líquido	Instantáneo	0,0 – 7,0
	Vegetales enlatados	6,9 – 9,6		Grano tostado	39,0 – 42,0
	Pescado enlatado	17,0	Alimentos ricos en almidón con bajo contenido de humedad	Pan, galleta, y snacks	0,0 – 10,0
	Carne enlatada	13,0 – 17,0		Cereales para el desayuno	15,0 – 18,0
	Fruta enlatada	2,0 – 6,4	Otros	Productos lácteos	5,0 – 5,6
	Colados de carne y verduras	40,0		Salsa de soja	27,0
	Colados de vegetales	48,0 – 49,0		Sopas	23,0 – 24,0
	Colados de fruta	2,5 – 5,3		Cervezas	3,3 – 5,2

Obtenido de Mariotti Celis (2014)

De la Tabla 2-1 se puede observar, que el café proveniente de grano tostado y los colados son unos de los alimentos con mayores concentraciones de furano, los que presentan valores entre los 39,0 y 49,0 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$. Lo cual tiene sentido, dado que otros autores como EFSA (2010), Kim, Lee, Kim, Park y Lee (2009) y Liu y Tsai (2010) también indican que ambos alimentos se encuentran entre los niveles más altos reportados, en los cuales el valor promedio para el caso del café tostado es de 27,0 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ y para los colados 124,1 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$. Respecto a los colados, se puede mencionar que algunos estudios reportan mayores niveles de furano en los colados de vegetales y otros en los colados de carne y verdura (Pavesi Ariseto, Vicente, Soares Ueno, Verdiani Tfouni y De Figueiredo Toledo, 2011; Altaki, Santos y Galceran, 2011; Lachenmeier, Reusch y Kuballa, 2009; Jestoi et al., 2009). Estas variaciones se pueden deber a que en los distintos países del mundo se utilizan diferentes ingredientes y materias primas en la fabricación de éstos.

Dado lo anterior, se ha estudiado cómo aporta la ingesta de estos alimentos al consumo de furano en la población mundial. En dichas investigaciones, se propuso que la principal fuente de consumo de furano en los adultos proviene del café, el cual aporta el 95%; y para el caso de los niños pequeños el 49% es ingerido mediante colados (EFSA, 2011; Mariotti Celis, 2014). Cabe destacar, que recientemente la EFSA (2017) confirma que los bebés son expuestos a la mayor cantidad de furano en función a su peso, alcanzado un 70% de su ingesta por medio de las comidas listas para consumir, como los colados. Lo que claramente muestra que el consumo de este compuesto es un riesgo para la salud de la población, especialmente para los bebés.

2.3. Mitigación del furano

Hasta el día de hoy, los estudios realizados para reducir la formación de furano se han enfocado en la modificación de las condiciones de proceso, el control de los precursores de este contaminante y/o evidenciar cómo afecta el añadir un agente externo tanto en alimentos como en sistemas modelo (Seok, Kim, Jeong, Lee, & Yoon, 2015). Cabe

destacar, que la mitigación del furano se puede realizar antes, durante o después de la elaboración de los alimentos.

Respecto a modificar las condiciones de proceso, en algunos estudios, como el de Vervoort et. al (2012), se obtuvo que, para la cocción de zanahoria, la técnica de alta presión fue la que presentó mejor calidad del producto final y menores concentraciones de furano, en comparación a otros tres tratamientos térmicos. Mariotti et al. (2015) por su lado, propusieron una metodología para minimizar tanto el contenido aceite como la concentración furano y acrilamida en papas fritas, obteniendo que el someter a blanqueado las papas crudas, por 17 minutos y a una temperatura de 67 °C lograban reducir el contenido de éstos en un 19%, 91% y 54%, respectivamente. En el estudio de Guenther, Hoenicke, Biesterveld, Gerhard-Rieben y Lantz (2010), presentaron los factores que afectan la formación de furano y en qué parte del proceso de producción de café se puede disminuir este neo-contaminante. Mariotti, Granby, Rozowski y Pedreschi (2013) propusieron que los niveles de furano en alimentos enlatados o envasados, pueden decrecer por medio del recalentamiento a temperaturas moderadas y la agitación de su contenido. Asimismo, Altaki et al. (2017), observaron que existe una importante disminución de furano cuando se recalientan los alimentos dependiendo del método utilizado. Por ejemplo, los alimentos para bebés cuando son recalentados en un plato dentro de un microondas presentaron una disminución entre un 19% y 35% en el contenido de furano medido, mientras que el recalentamiento del alimento en un baño de agua disminuyó entre un 31% y 53%.

Por otra parte, hay investigaciones que han usado antioxidantes naturales para disminuir los niveles de furano en sistemas modelo, por ejemplo, Oral, Dogan y Sarioglu (2014) encontraron que el añadir 7 tipos de polifenoles reducían la formación de furano hasta en un 85%. Schamberger y Labuza (2007) por su lado investigaron que el agregar polifenoles del té verde en leche y en un sistema modelo de glucosa/glicina es posible controlar reacción de Maillard, disminuyendo la formación de furano. Märk, Pollien, Lindinger, Blank y Märk (2006) demostraron que la presencia de sulfito en un sistema modelo de ácido ascórbico llevó a una reducción de alrededor del 70% de furano. También, se ha reportado que el agregar sulfitos en sistemas modelo de glucosa, alanina

y serina se disminuye la concentración de furano en casi todos los casos, afectando de mayor forma el sulfato de calcio, luego el sulfato de magnesio, BHT, BHA y por último el sulfito de sodio (Kim, Her y Lee, 2015).

Se puede extraer de los estudios, que afectar partes del proceso productivo o agregar aditivos en muchos casos es efectivo en la disminución de furano en los alimentos. Sin embargo, estas variaciones pueden modificar las propiedades sensoriales, nutricionales, el control microbiológico y la formación de otros contaminantes, lo que conlleva a afectar la seguridad alimentaria y las propiedades del producto final que se entrega al consumidor (Anese et al., 2013). Por otra parte, se tiene que considerar que entre más compleja sea la matriz del alimento, se vuelve más complejo determinar cuál es factor que promueve la formación de furano, dado que puede haber múltiples interacciones entre los componentes de este (Kettlitz et al., 2019).

2.4. Mecanismos de formación del furano

Los alimentos en los que se ha encontrado furano son muy variados y distintos entre ellos, lo que ha llevado a estudiar cuáles son las distintas rutas de formación de este compuesto. En un comienzo se pensó que la principal ruta de formación de furano en los alimentos era la degradación térmica de los carbohidratos como la glucosa, lactosa y fructosa (Maga, 1979). Sin embargo, gracias a las distintas investigaciones realizadas en sistemas modelo se ha logrado proponer diversos mecanismos de formación de furano (Figura 2-2), donde los principales precursores son: azúcares reductores, aminoácidos, ácido ascórbico/ácido deshidroascórbico, ácidos grasos poliinsaturados (PUFAS) y carotenoides, los cuales se encuentran presente en diversos alimentos (Becalski y Seaman, 2005; Pérez y Yaylayan, 2004; Crews y Castle, 2007; Limacher et al., 2007; Van Lancker, Adams, Owczarek-Fendor, De Meulenaer y De Kimpe, 2010).

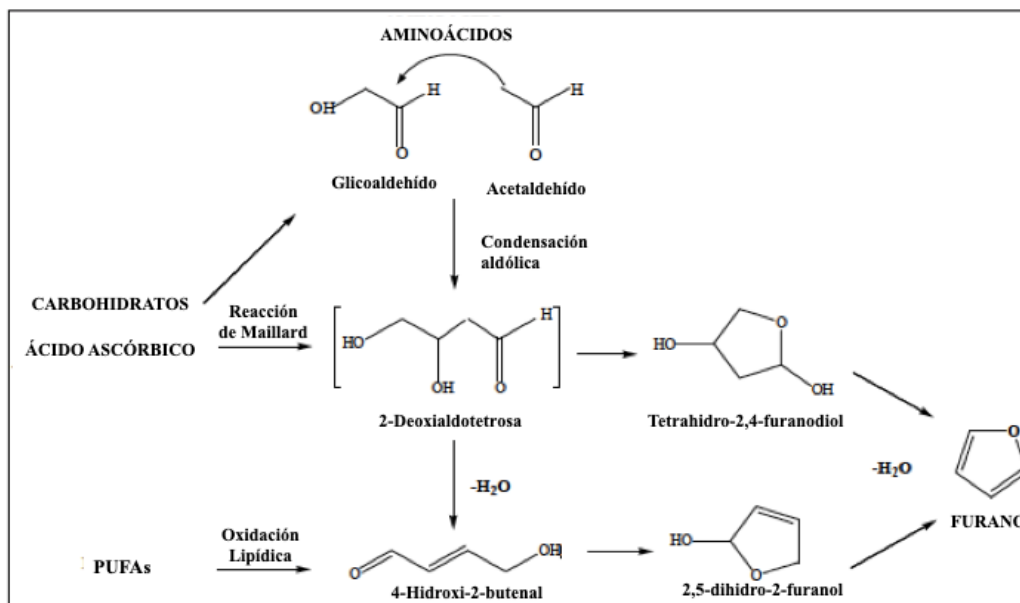


Figura 2-1. Mecanismos de formación del furano.
Obtenido de: Mariotti Celis (2014)

La formación de furano a partir de carbohidratos y/o aminoácidos, de acuerdo con Beliz et al. (2004) posee varias rutas, entre las que se destacan la reacción de Maillard, el pardeamiento no enzimático y cuando cada reactivo reacciona por sí solo para formar este neo-contaminante.

La reacción de Maillard es sumamente compleja y ocurre principalmente durante el tratamiento térmico de los alimentos cuando existe en ellos la presencia de azúcares reductores y aminoácidos (Lamberts et al., 2008) (Figura 2-2). En ésta se liberan distintos compuestos que contribuyen tanto al color, que en este caso son tonalidades marrones, como a las cualidades sensoriales (Bi, Zhang, Qiao y Xu, 2017). Según Nie et. al (2013a), la reacción de Maillard normalmente implica tres etapas: la primera involucra la condensación de azúcares y aminoácidos, y la reorganización de productos de Amadori, la segunda etapa la deshidratación y fragmentación del azúcar, y la degradación de aminoácidos, especialmente a altas temperaturas. Por último, se tiene la etapa de oscurecimiento, la cual conlleva la polimerización y saturación de los intermediarios, en donde se forman distintos compuestos como melanoidinas, furano y otros compuestos nitrogenados heterocíclicos. Según lo estudiado por Pérez y Yaylayan

(2004) y Limacher et. al (2008), en esta última etapa cuando el azúcar se encuentra en presencia de alanina, treonina o serina (aminoácidos) y el medio es acuoso, se pueden formar acetaldehídos y glicolaldehídos, los cuales por medio de recombinación de los fragmentos C2 dan paso a la formación de furano.

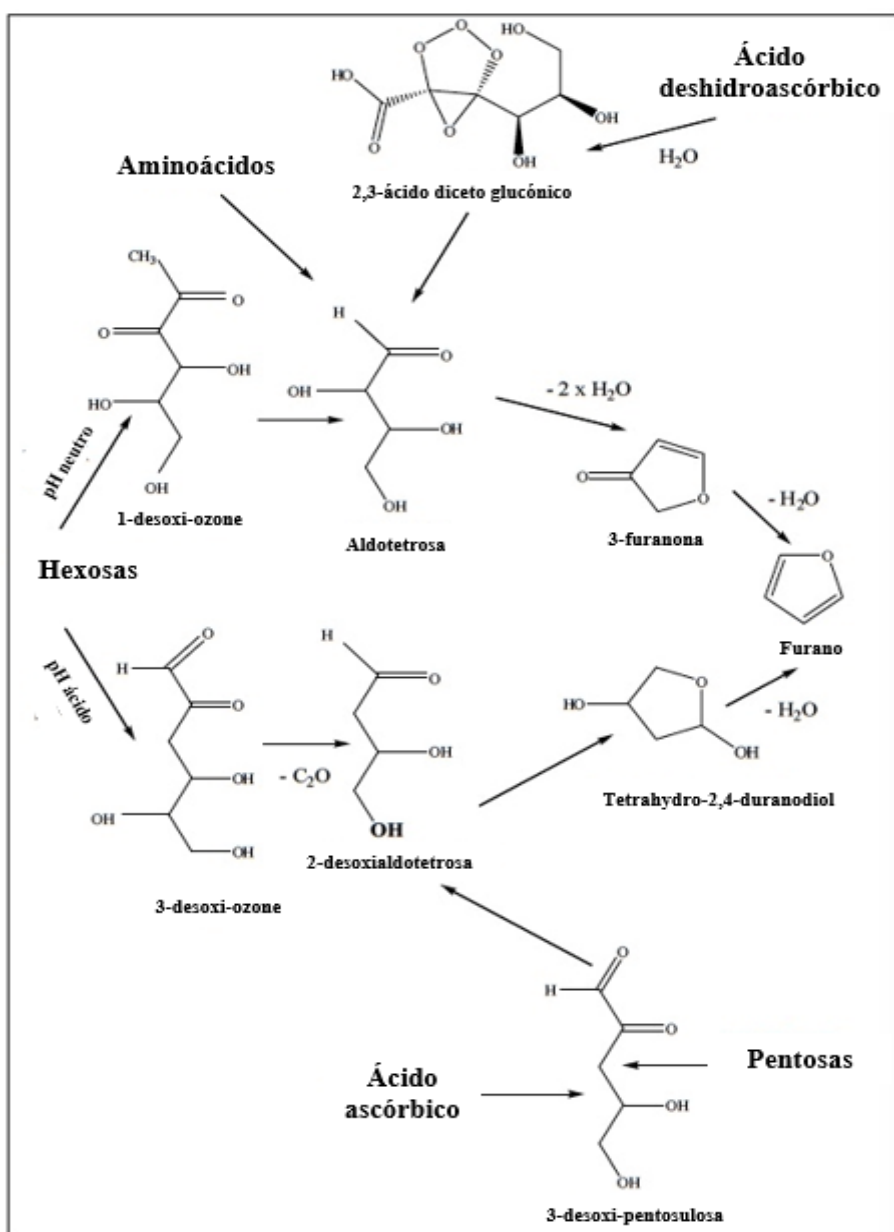


Figura 2-2. Formación de furano por medio de la reacción de Maillard.
Obtenido de: Mariotti Celis (2014)

Con respecto a los aminoácidos, se tiene que no todos pueden reaccionar por si solos para formar furano. En el caso de la cisteína y serina tienen mayor influencia en la generación de furano respecto a otros aminoácidos, dado que provocan una vía de formación adicional al resto, específicamente, ambos pueden metabolizar a acetaldehídos y glicolaldehídos, los cuales reaccionan mediante condensación aldólica produciendo derivados de aldotetrosa y, eventualmente, furano (Vranova y Ciesarova, 2009). En cambio, la alanina, treonina y ácido aspártico cuando se encuentran solos no pueden producir furano, dado que generan solo acetaldehído, por lo que requieren la presencia de azúcares reductores, serina o cisteína para producir glicolaldehídos y finalmente furano (Pérez y Yaylayan, 2004).

Los azúcares por su parte, cuando se encuentran solos en un sistema modelo y son sometidos a condiciones de calor seco (similares a las del proceso de horneado ~200 °C), la formación de furano proviene principalmente a partir del esqueleto de éste (Limacher, Kerler, Davidek, Schmalzried, y Blank, 2008). El rendimiento del azúcar para formar furano según lo estudiado por Villamiel, Del Castillo y Corzo (2006), dependerá principalmente del tipo de azúcar reductor utilizado, los cuales clasifican a las pentosas como las más reactivas, luego las hexosas y por último los disacáridos. Pérez y Yaylayan (2004) también proponen que existe una dependencia, obteniendo que la formación de es decreciente según el siguiente orden de azúcares: D-eritrosa>D-ribosa>D-sacarosa>D-glucosa=D-fructosa. Por otra parte, cuando el sistema contiene un aminoácido y la condición es de pirólisis, se obtienen mayores niveles en las muestras que contienen fructosa que las de glucosa. En cambio, en condiciones acuosas Limacher et al. (2008) obtuvo que los resultados se invertían, presentando mayor concentración para la glucosa.

De acuerdo a lo anterior, se espera poder investigar el efecto que se produce al mezclar un aminoácido y un azúcar reductor, ya sea aislándolos en sistemas modelo o directamente en una matriz alimentaria. Se debe tener presente que éstos pueden formar furano por más de una ruta, el tipo de reactivo y las condiciones de proceso escogidas

afectan los resultados finales, y en el caso de los alimentos, la cantidad de furano formado puede verse afectada la competencia entre los precursores presentes en el alimento y la matriz alimentaria.

2.5. Actividad de agua

La actividad de agua en los alimentos se define como el agua que se encuentra disponible dentro de una matriz alimentaria. Al estar libre, esta puede ser utilizada tanto para el crecimiento de microorganismos como reacciones dentro del alimento, afectando directamente la velocidad de las reacciones químicas y actividad enzimática (Fennema, Damoradan y Parkin, 2007a). Además, se ha observado que la variación de la actividad de agua en los alimentos podría tener relación con su contenido final de furano (Duan y Barringer, 2012; Lee, Laye, Kim, y Morr, 1996). Por su parte Mariotti et al. (2012), obtuvieron que, al disminuir la actividad de agua presente en papas fritas, la concentración de furano aumentaba. Por otro lado, estudios realizados con concentrados de proteína de suero de leche envasados, se observó que con el pasar de los días la actividad de agua aumentaba y al medir la concentración de furano también lo hacía (Lee et al., 1996), esto tiene un efecto inverso al observado en el proceso de producción de las papas fritas. Importante mencionar que la actividad de agua puede tener diferentes comportamientos en la formación de furano, dependiendo de si se analiza el proceso productivo o el almacenaje.

De acuerdo a lo estudiado por Eichner y Karel (1972) en sistemas modelo en base a azúcares y aminoácidos, plantean que la actividad de agua tiene influencia en la reacción de Maillard, uno de los mecanismos importantes para la formación de furano. Obteniendo que habitualmente la reacción es mayor cuando la actividad de agua del alimento se encuentra entre los 0,3 y 0,7, lo que dependerá principalmente del estado de unión en que se encuentre el agua y la distribución de los reactivos tanto en los alimentos como en sistemas modelo.

Dado que las investigaciones sobre el efecto de la actividad de agua en la formación de furano son escasas, se revisó literatura con respecto a contaminantes similares al furano, como la acrilamida. En éstas, se propone que en sistemas modelo en base a un azúcar

reductor y un aminoácido, existe un aumento en la formación de acrilamida cuando la actividad de agua disminuye (Bassama et al., 2011; Hedegaard, Frandsen, Granby, Apostolopoulou y Skibsted, 2007)

Por lo tanto, se puede concluir que la actividad de agua en los alimentos o en sistemas modelo si presenta un efecto sobre la formación de neo-contaminantes. Pero, para el caso específico del furano, aún falta profundizar estas investigaciones.

2.6. Métodos de cuantificación del furano

2.6.1. Cromatografía de gases/ espectrometría de masa (GC/MS)

La metodología oficial utilizada para la cuantificación de furano en alimentos es la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masa (GC/MS). En este sentido, las muestras contenidas en viales cerrados herméticamente son calentadas con el fin de volatilizar el compuesto de interés. Posteriormente del espacio de cabeza del contenedor se recoge la muestra, la cual es separada en el cromatógrafo y posteriormente pasa a un detector de MS donde, tras recibir un impacto de electrones, se determina la presencia de furano asociada a una relación m/z específica.

El método del espacio de cabeza fue sugerido inicialmente por la FDA (2004). Este considera el uso de diez gramos de muestra fortificadas con d_4 -furano y selladas en frascos en donde se deja un espacio de cabeza. Seguido de un análisis por GC/MS para detectar furano y d_4 -furano en el modo de exploración. Específicamente el furano se cuantifica utilizando una curva de adiciones estándar que requiere siete extracciones por muestra, en donde la concentración de furano en las porciones de prueba fortificadas se traza frente a factores de respuesta furano/ d_4 -furano usando iones a m/z 68 y m/z 72 (para d_4 -furano). El método de agregar un estándar interno es preferible a usar una curva de calibración externa, ya que es bien sabido que la matriz tiene una influencia significativa en la retención de furano (Van Lancker, Adams, Owczarek, De Meulenaer y De Kimpe, 2009).

A modo de resumen, la metodología consiste en que una muestra de alimento en forma líquida o pastosa se calienta en un vial sellado para lograr una partición de equilibrio

entre la fase líquida y el espacio de cabeza gaseoso, luego se añaden las soluciones estándares de furano y d₄-furano, y por último la muestra es medida por medio de cromatografía de gases-espectrometría de masa (Vranova y Ciesarova, 2009).

2.6.2. Microextracción en fase sólida

De acuerdo a la revisión realizada, el método de micro extracción en fase sólida acoplada a una cromatografía de gases se está utilizando por varios investigadores en el último tiempo para medir furano tanto en alimentos como en sistemas modelo. Según Seok et al. (2015), esta metodología consiste en exponer una aguja recubierta con un material polimérico, que tiene la capacidad de adsorber los compuestos volatilizados, en el espacio de cabeza de la muestra a medir. Luego, ésta es sometida a un tratamiento térmico entre los 90 °C y los 300 °C, con la finalidad de desorber los compuestos que hayan sido retenidos en el polímero. Lo cual es realizado dentro de un cromatógrafo de gases para su posterior análisis. Esta metodología tiene una mejor selectividad y es más sensible que otras existentes, lo que permite medir concentraciones más bajas de compuestos en distintos tipos de alimentos o sistemas modelo. Dada la sensibilidad de esta medición, es que ha sido posible aplicarlo en una amplia gama de alimentos, como jugos de fruta, colados para bebés, comida para mascotas, café, entre otros (Goldmann, Périsset, Scanlan, & Stadler, 2005), y también en sistemas modelos (Cho y Lee, 2014).

Con respecto a las mejoras que se han realizado para optimizar la adsorción que tiene el método, específicamente para furano, se ha encontrado que, si se utiliza una fibra de carbocén/polidimetilsilocano, se obtiene una mejor selectividad del contaminante y sensibilidad de la medición (Hasnip et al., 2006). Por otro lado, también se observó que el proceso de desorción mejoraba si el tiempo de exposición utilizado es 20 minutos y la temperatura de 50 °C (Goldmann et al., 2005; Mariotti et al., 2012).

Los puntos planteados anteriormente son base para la elección de precursores, neo-contaminante objetivo y de la metodología a utilizar en este trabajo. Además, dan pie a la formulación de la hipótesis y los objetivos de esta investigación que se presentan en el capítulo posterior.

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

La hipótesis de este trabajo plantea que es factible modular la generación de furano en un sistema modelo alimentario en base a glucosa/serina variando la actividad de agua de la matriz y la temperatura de proceso.

Dado lo anterior, el objetivo general de esta tesis es estudiar el efecto de la actividad de agua y la temperatura de calentamiento sobre la formación de furano en un sistema modelo alimentario en base a glucosa/serina. Además, analizar la influencia que tiene la presencia de diferentes razones molares de glucosa y serina en el sistema modelo. A partir de este objetivo, se plantean los siguientes objetivos específicos:

1. Diseñar un sistema modelo y un sistema experimental para el posterior análisis de muestras.
2. Determinar el efecto de la actividad de agua, temperatura de proceso y la razón molar entre glucosa y serina, sobre la formación de furano en un sistema modelo glucosa/serina.
3. Determinar la interacción entre los factores de estudio sobre la formación de furano.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

En el presente capítulo se detallarán los materiales y la metodología experimental utilizada para poder lograr los objetivos específicos. Entre ellos se detalla el diseño de los sistemas modelos, la descripción de las condiciones de proceso (temperatura, actividad de agua y razón molar entre glucosa y serina), el funcionamiento de los equipos e instrumentos utilizados para llevar a cabo el desarrollo del experimento. Además, se presenta la metodología para cuantificar el furano y el análisis estadístico.

4.1. Materiales

Como materias primas de los sistemas modelo se utilizaron D-(+)-glucosa ($\geq 99,5\%$), D-serina ($\geq 98\%$) y glicerol ($\geq 99,5\%$), los cuales fueron obtenidos de Sigma-Aldrich desde Estados Unidos, China y Alemania, respectivamente. Para el análisis experimental también fueron utilizados furano ($100 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ en acetonitrilo, Dr. Ehrenstorfer GmbH, Alemania), d_4 -furano ($100 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ acetonitrilo, Dr. Ehrenstorfer GmbH, Alemania) y metanol (grado HPLC, Merck, Alemania).

4.2. Diseño sistema modelo

Para diseñar los sistemas modelo de esta investigación, se tomó como alimento objetivo los alimentos colados para bebés. Al analizar los ingredientes de dicho alimento, se decidió escoger dos de los principales reactivos (azúcar reductor y un aminoácido) en la reacción de Maillard, la cual es un mecanismo relevante para la formación de furano (Altaki et al., 2017; Pérez y Yaylayan, 2004; Seok et al., 2015).

Para determinar el tipo de azúcar reductor y aminoácido, en primer lugar, se analizó un colado de carne y vegetales, ya que en varias investigaciones se indica que este tipo de colados es uno de los que presenta mayor contenido de furano. En segundo lugar, se revisaron los ingredientes presentes en la información nutricional de un colado de carne y vegetales de la marca Nestlé que se encuentra presente en el mercado chileno, entre

ellos se destaca: la zanahoria, papa, puré de tomates y carne de vacuno (12,6%) (Figura 4-1). Estos tres vegetales presentes aportan azúcares y carbohidratos a la composición de los colados, por lo que para la elección se planteó como supuesto que la gran mayoría se pueden descomponer como unidad básica en glucosa (Fennema, Damoradan y Parkin, 2007b). Con respecto al aminoácido, se escogió la serina en base a dos razones, la primera razón se sustentó en que, a diferencia de otros aminoácidos, la serina además de formar furano por sí sola, puede formar furano por medio de la reacción de Maillard cuando se encuentra en presencia de un azúcar reductor (Pérez y Yaylayan, 2004). La segunda, de acuerdo a Raunio, Alho, y Linko (1978), se plantea que dentro del grupo de aminoácidos que pueden formar furano por si solos y que están presentes en este tipo de alimentos, la serina es la que se encuentra en mayor proporción en los colados de carne y vegetales.

En base a estos argumentos, se decide utilizar glucosa y serina como precursores en los sistemas modelo a estudiar.



Figura 4-1. Ingredientes colado carne con verduras marca Nestlé. Recuperado de: <https://www.comienzosanovidasana.cl/naturnes/>

Una vez elegidos los precursores, se debe determinar las proporciones de cada uno en los sistemas modelo a estudiar. Para eso se proponen tres razones molares distintas con el objetivo de conocer cuál es el reactivo limitante de la mezcla, que restringe la formación del producto final en la reacción, es decir, que la cantidad de producto a formar se ve limitado por la cantidad de uno de estos dos reactivos (Gallego Picó & Garcinuño Martínez, 2013). Por lo tanto, la primera razón molar propuesta fue considerando la serina en exceso ($0,02 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} / 0,002 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$), la segunda, igualando la proporción entre ellos ($0,02 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} / 0,02 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) y finalmente el caso en donde se puede apreciar la glucosa en exceso ($0,002 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} / 0,02 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$).

Por otro lado, se debe determinar las condiciones de proceso de temperatura y actividad de agua para los sistemas modelo. Para la elección de las temperaturas de calentamiento se revisaron estudios previos que obtienen que al incrementar la temperatura aumenta el contenido de furano formado (Bi, Zhang, Qiao y Xu, 2017; Cho y Lee, 2014; Duan y Barringer, 2015; Fromberg, Mariotti, Pedreschi, Fagt, y Granby, 2014; Hasnip et al., 2006; Yuan et al., 2016). Además, por medio de ensayos preliminares se sometieron las muestras de glucosa/serina (en medio acuoso) a 4 temperaturas (90 °C, 120 °C, 150 °C y 160 °C) obteniendo que para 90 °C las concentraciones de furano medidas en el cromatógrafo eran no detectables y para el caso de los 160 °C los valores sobrepasaban el límite detectable del equipo. Dado esto, se escogió 120 °C, 130 °C, 140 °C y 150 °C como las temperaturas de proceso a estudiar, con el objetivo de evaluar el efecto que tiene este factor sobre el contenido de furano.

Con respecto a las actividades de agua a investigar, se utiliza el glicerol, como compuesto clave que permite variar la actividad de agua en los sistemas modelo sin interactuar con los reactivos de la muestra (Hedegaard et al. 2007). En base a esto, para la elección de la primera actividad de agua se consideró utilizar un medio acuoso ($a_w = 1,00$, 100% agua destilada), puesto que es el valor más alto de actividad de agua y es un valor cercano al que presenta un colado de carne y vegetales chileno (Tabla 4-1). Para la elección de los otros dos valores (0,65 y 0,55), se basó en que la reacción de Maillard se favorece entre actividades de agua 0,3 y 0,7 (Eichner y Karel, 1972). Por estas razones, para evaluar el efecto que tiene a actividad de agua sobre la formación de furano se

consideró utilizar valores de 1,00, 0,65 y 0,55, donde los dos valores bajo 1,00, se logran alcanzar cuando existe una proporción de agua destilada:glicerol (v/v) de 30:70 ($a_w=0,55$) y 40:60 ($a_w=0,65$).

Tabla 4-1. Medición de actividad de agua para colados de carne y vegetales marca Nestlé

Muestras	Medición 1	Medición 2	Medición 3
Colado Carne y verduras 1	0,97	0,97	0,97
Colado Carne y verduras 2	0,97	0,97	0,97

4.3. Elaboración de los sistemas modelos

El proceso experimental de este trabajo se resume a continuación por medio de un diagrama de bloques (Figura 4-2).

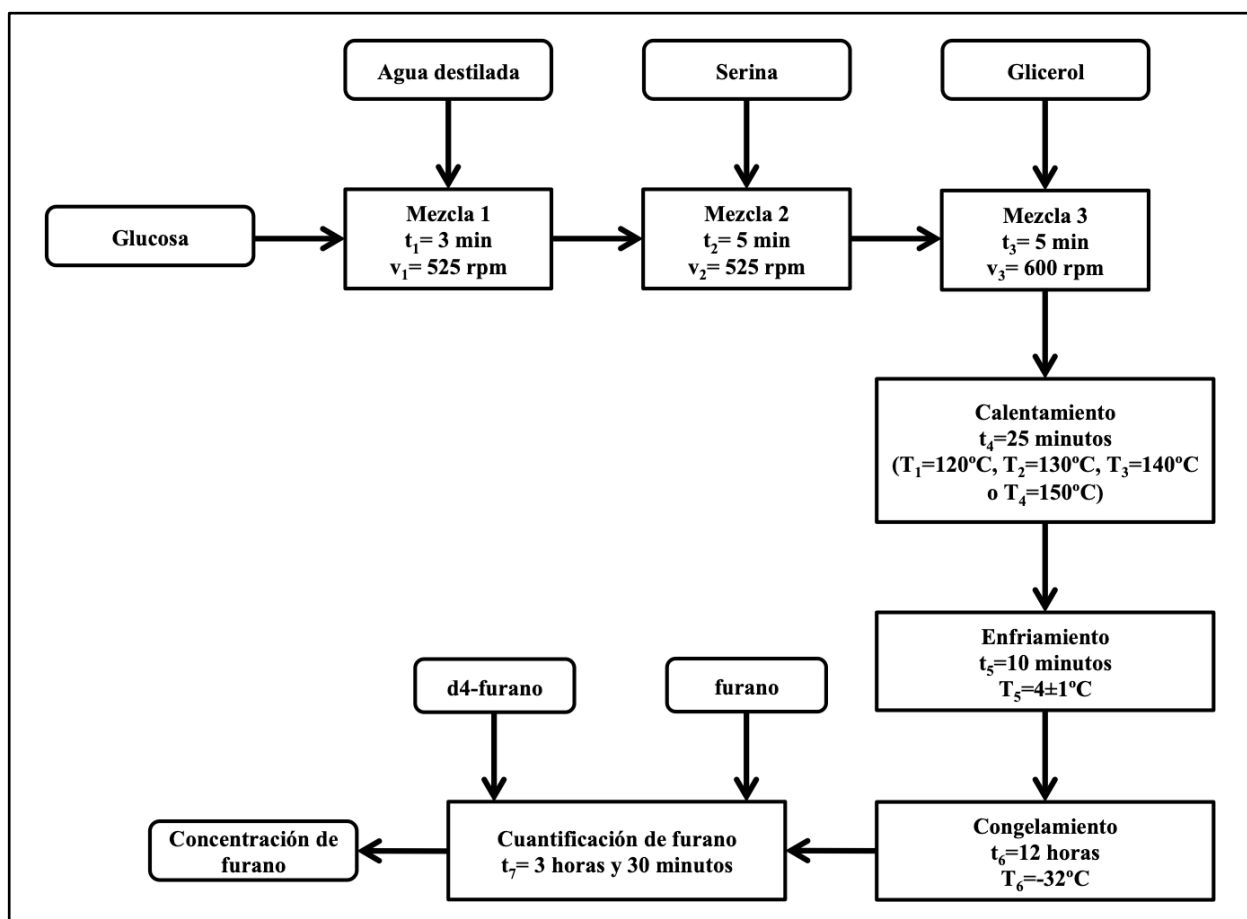


Figura 4-2. Diagrama de bloques del proceso experimental

En primer lugar, para la elaboración de los sistemas modelo, se mezcló 30 mL de agua destilada con glucosa en un vaso precipitado de capacidad igual a 100 mL, el cual luego fue inmediatamente agitado por 3 minutos (t_1) en un agitador vórtex (Figura A-1) a velocidad 3.5, equivalentes a 525 rpm (v_1). A continuación, se añadió la serina y se agitó nuevamente, pero esta vez por 5 minutos (t_2) a la misma velocidad anterior ($v_2=525$ rpm) para obtener una homogenización total de la muestra. Donde las razones molares de glucosa y serina que se consideraron fueron: 10:1 ($0,02 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}/ 0,002 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 1:1 ($0,02 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}/ 0,02 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) y 1:10 ($0,002 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}/ 0,02 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$). Por último, a las muestras se agregó una cantidad específica de glicerol según la actividad de agua con la que se iba a trabajar, homogenizando la mezcla a una velocidad de 600 rpm (v_3) por 5 minutos más (t_3). Las razones entre agua destilada y glicerol necesarias para preparar las

actividades de agua 0,55 y 0,65 fueron 30:70, 40:60 (v/v) respectivamente; para el caso de actividad de agua igual a 1,0 solo se utilizó agua destilada para la elaboración de los sistemas modelo.

Tabla 4-2. Razones molares glucosa/serina utilizadas en la preparación de los sistemas modelo

Razón glucosa : serina	Glucosa [$\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$]	Serina [$\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$]
10:1	0,02	0,002
1:1	0,02	0,02
1:10	0,002	0,02

Posteriormente, se tomaron siete muestras de $5 \pm 0,02$ g de la mezcla preparada y se introdujeron cada una en viales de 10 mL. Luego, los 7 viales fueron sometidos a la misma temperatura, procedimiento que se realizó para las cuatro temperaturas de proceso definidas anteriormente ($T_1=120$ °C, $T_2=130$ °C, $T_3=140$ °C y $T_4=150$ °C) en un baño de aceite termorregulado por un tiempo de 25 minutos (t_4). Una vez calentados los viales, éstos fueron introducidos por 10 minutos (t_5) en un recipiente de poliestireno expandido que contenía agua con hielo, aproximadamente a una temperatura de 4 ± 1 °C (T_5), y luego fueron congelados por 12 horas (t_6) en un congelador a una temperatura de -32 °C (T_6) hasta su análisis. Las muestras se prepararon en duplicado para cada condición.

4.4. Condiciones de calentamiento

Para el sistema de calentamiento se utilizó un baño de aceite termo regulado como se muestra en la Figura A-2, dado que se requería someter las muestras a temperaturas superiores a 100 °C y porque se necesitaba que todos los puntos dentro del baño estuvieran a la misma temperatura para poder realizar una transferencia de calor homogénea.

Respecto al equipo, este cuenta con dos compartimientos, cada uno con capacidad de 12 litros de aceite. Además, posee dos termocuplas introducidas en cada compartimiento,

las que se encuentran conectadas a un tablero con termostato. A través del termostato se reguló la temperatura del aceite (120 °C, 130 °C, 140 ° o 150 °C), teniendo una variación de aproximadamente ± 1 °C.

Por otro lado, se construyó un soporte de acero inoxidable con siete agujeros circulares en donde se posicionaron 6 viales en forma de una circunferencia y uno se colocó al medio de la placa, con la finalidad de que todos los viales tuvieran la misma cantidad de aceite a su alrededor, y así disminuir la variabilidad del experimento (Figuras A-3 y A-4). Además, sobre las tapas de los viales se les colocó una rejilla de acero para que estos no flotaran y todos permanecieran a una misma elevación dentro del aceite (Figura A-5).

4.5. Actividad de agua (a_w)

La actividad de agua de las muestras fue medida con el equipo Novasina LabStart- a_w (Figura A-6), el cual monitorea el cambio en la humedad del aire dentro del quipo y emite un valor estable una vez que la actividad de agua no cambia más de 0,001 en un tiempo de dos minutos. Para esta medición se controló la temperatura de la habitación por medio de aire acondicionado, donde se mantuvo la temperatura constante a 20 °C.

4.6. Cuantificación de furano

A continuación, se presenta la metodología utilizada para cuantificar el contenido de furano de los sistemas modelo. Se describe la metodología de cómo se deben preparar las muestras para su posterior medición, y luego la técnica utilizada (cromatografía de gases/espectrometría de masa) con la cual se miden los niveles de furano cada una de las muestras.

4.6.1. Preparación de las muestras

La cuantificación de furano en los sistemas modelos se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Mariotti et al. (2012). Se utilizaron siete viales, donde a cada uno se les agregó 5 gramos de muestra, dejando aproximadamente la mitad como espacio de cabeza. Luego, los viales fueron sellados y sometidos al tratamiento térmico.

Posteriormente, se procedió a añadir el estándar interno (d_4 -furano) y furano, e introducirlos al cromatógrafo. Una vez, detectado el furano formado y d_4 -furano se utilizó el muestreo automatizado del espacio de cabeza seguido de una cromatografía de gases/espectrometría de masa (GC/MS). Finalmente, el furano se cuantificó utilizando una curva de adición estándar, donde se presentó la concentración de furano en las proporciones de prueba fortificadas frente a los factores de respuesta furano/ d_4 -furano. Cabe destacar que, para construir la curva de calibración, se utilizaron los siete viales mencionados anteriormente, de los cuales cuatro fueron enriquecidos con furano, de la siguiente manera: a dos viales se les agregó la mitad de la concentración esperada de furano en la muestra, a otro vial la concentración esperada en su totalidad y a un cuarto vial el doble de la concentración esperada de furano en la muestra.

4.6.2. Cromatografía de gases / espectrometría de masa (GS/MS)

Las muestras fueron analizadas mediante cromatografía de gases - espectrometría de masas (GC/MS) con ionización electrónica en modo SIM. Para esto se utilizó un cromatógrafo Agilent 7890A GC, el que cuenta con un sistema con detector de masa Agilent 597C XL EI/CI MSD y con una columna Agilent HP-Plot Q, 15 m, 0,32 mm ID, 20 micras.

La medida de la jeringa del equipo que se utilizó para hacer la inyección de la muestra fue de 2.5 mL-HS, la cual se calentó a 70 °C por 20 minutos. Al mismo tiempo se calentaron a 60 °C por 20 minutos los viales que contienen el sistema modelo en su interior. Luego, se inyectó al equipo (cromatógrafo) 1,0 μ L de los 5 mL de gas que había en el espacio de cabeza del vial, a una velocidad de 500 μ L $\cdot$ s⁻¹.

Por otra parte, las condiciones de funcionamiento del equipo que fueron elegidas son las que se enumeran a continuación: i) flujo de helio a 1.7 mL $\cdot$ min⁻¹ (flujo constante); ii) temperatura del inyector igual a 200 °C; iii) temperatura del horno, 50 °C por 1 minuto, con un aumento de temperatura de 10 °C $\cdot$ min⁻¹ hasta alcanzar los 160 °C, la que se mantuvo por 12 minutos; iv) la temperatura de la fuente del espectrómetro de masa fue 230 °C y la temperatura del cuadrante de 150 °C; v) tiempo de espera, 50 milisegundos.

El espectrómetro de masa fue operado en modo de ionización electrónica, lo que significa que el furano se detectó mediante el monitoreo de iones únicos de los fragmentos m/z 68 y m/z 39, el estándar interno d4-furano se detectó monitorizando el m/z 72 y m/z 42. Todas las determinaciones analíticas se llevaron a cabo en dos réplicas.

4.7. Análisis estadístico

Con la finalidad de investigar el efecto de los 3 factores de estudio tales como temperatura de proceso (4 niveles: 120 °C, 130 °C, 140 °C y 150 °C), actividad de agua (3 niveles: 0.55, 0.65 y 1.00) y razón molar entre glucosa/serina (3 niveles: 1:10, 1:1 y 10:1) sobre el contenido de furano en un sistema modelo, se utilizó un diseño factorial completo $4 \times 3 \times 3$ con 2 repeticiones. Un total de 72 experimentos aleatorios fueron realizados con un nivel de confiabilidad del 95% (Anexo B). El análisis de datos fue realizado utilizando el programa Statgraphics Plus, Windows 4.0 (Statpoint Technologies, Inc., Virginia, E.E.U.U). El modelo estadístico usado es el siguiente:

$$Y_{ijk} = u + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + (\alpha\beta)_{ij} + (\beta\gamma)_{jk} + (\alpha\gamma)_{ik} + (\alpha\beta\gamma)_{ijk} + \varepsilon_{ijk}$$

$$i = 1,2,3,4$$

$$j = 1,2,3$$

$$k = 1,2,3$$

Donde:

- Y_{ij} : es el valor o contenido de furano en $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$ obtenido con el i-ésimo factor A (temperatura), j-ésimo factor B (actividad de agua), k-ésimo factor C (razón molar glucosa/serina) en sistemas modelos de glucosa/serina.
- μ : es el efecto de la media general.
- τ_i : es el efecto de la i-ésima temperatura.

- β_j : es el efecto de la j-ésima actividad de agua.
- γ_k : es el efecto de la razón molar de la k-ésima relación glucosa/serina.
- e_{ij} : es el efecto del error experimental en el i-ésimo tratamiento.

El análisis de varianza (ANOVA multifactorial) permitió establecer si existen diferencias estadísticamente significativas entre los factores de estudio y sus interacciones ($p < 0.05$) sobre la variable de respuesta.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 5-1 muestra la influencia de la temperatura de proceso (120 °C, 130 °C, 140 °C y 150 °C), la actividad de agua (0,55; 0,65; 1,00) y razón molar entre glucosa/serina (1:10, 1:1, 10:1), así como sus interacciones, sobre la generación de furano en sistemas modelo glucosa/serina.

Tabla 5-1. Concentración de furano ($\eta\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) en sistema modelo glucosa/serina para las distintas combinaciones de temperaturas (120 °C, 130 °C, 140 °C y 150 °C), actividades de agua (0,55; 0,65; 1,00) y razones de glucosa/serina (1:10, 1:1 y 10:1)

Temperatura (°C)	aw	Relación molar Glu:Ser	Promedio $\pm$ DE
120	0.55	1:10	0,63 ^a $\pm$ 0,18
		1:1	4,05 ^b $\pm$ 1,20
		10:1	0,35 ^a $\pm$ 0,014
	0.65	1:10	0,10 ^a $\pm$ 0,00
		1:1	0,49 ^a $\pm$ 0,042
		10:1	0,23 ^a $\pm$ 0,035
	1	1:10	0,42 ^a $\pm$ 0,01
		1:1	0,21 ^a $\pm$ 0,064
		10:1	0,37 ^a $\pm$ 0,035
130	0.55	1:10	2,60 ^a $\pm$ 0,34
		1:1	6,59 ^b $\pm$ 0,35
		10:1	1,07 ^a $\pm$ 0,24
	0.65	1:10	1,04 ^a $\pm$ 0,30
		1:1	2,30 ^a $\pm$ 0,064
		10:1	0,59 ^c $\pm$ 0,014
140	1	1:10	1,87 ^a $\pm$ 0,39

		1:1	2,035 ^a ±0,092
		10:1	1,34 ^a ±0,071
		1:10	6,62 ^b ±0,30
	0.55	1:1	15,76 ^d ±1,12
		10:1	2,59 ^a ±0,61
		1:10	4,11 ^{b,a} ±1,146
140	0.65	1:1	9,60 ^c ±0,93
		10:1	1,16 ^a ±0,2
		1:10	7,065 ^{b,c} ±1,039
	1	1:1	7,00 ^{b,a} ±0,424
		10:1	2,50 ^a ±0,049
		1:10	21,45 ^c ±0,11
	0.55	1:1	57,20 ^d ±3,50
		10:1	8,75 ^a ±0,025
		1:10	12,49 ^b ±1,47
150	0.65	1:1	60,55 ^e ±4,42
		10:1	6,63 ^a ±0,40
		1:10	50,055 ^f ±1,58
	1	1:1	21,58 ^c ±3,85
		10:1	10,02 ^{a,b} ±0,72

Letras diferentes dentro de cada columna indican diferencias significativas ($p < 0.05$). DE es la desviación estándar (n=2)

Además, por medio de los resultados obtenidos, fue posible realizar un análisis multifactorial el cual permite construir un modelo de regresión, el que tiene como fin establecer los parámetros óptimos para a reducción del furano. La ecuación del modelo de regresión encontrada es la siguiente:

$$furano = c_0 + c_1 \cdot T + c_2 \cdot a_w + c_3 \cdot T \cdot R$$

Donde: c_0 es una constante, T , a_w y R son la temperatura, actividad de agua y razón molar, y c_1 , c_2 y c_3 son los coeficientes de la temperatura (T), actividad de agua (a_w) y la interacción entre los factores ($T \times R$).

Tabla 5-2. Coeficientes de regresión para furano.

Coeficientes	Estimado
c_0	-4.844,77
c_1	115,14
c_2	253,17
c_3	2,15

De lo anterior, se encontró que la mejor condición (niveles más bajos de furano) se da cuando los factores toman los valores de 120 °C, $a_w=1,0$ y razón 1:1.

5.1.1. Efecto de la temperatura en la formación de furano

De acuerdo a los resultados obtenidos, el mayor contenido de furano ($60,55 \pm 4,42 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$) se generó a 150 °C, razón 1:1 de glucosa:serina y actividad de agua 0,65. Contrariamente, la menor formación de furano ($0,10 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$) se alcanzó a 120 °C, con un exceso de serina (1:10) y a una actividad de agua de 0,65. Por medio del análisis estadístico realizado, se obtuvo que los niveles de furano incrementaron significativamente a medida que la temperatura de proceso aumentó ($p < 0,05$). En donde, un aumento en la temperatura de proceso de 120 °C a 130 °C, 120 °C a 140 °C y 120 °C a 150 °C, genera un incremento del contenido de furano en aproximadamente 170%, 684% y 3359%, respectivamente.

Al analizar el comportamiento de la formación de furano para las temperaturas 120 °C, 130 °C y 140 °C, se observa que los valores obtenidos en condiciones de a_w igual a 0,55

y razón molar 1:1, son en promedio 751 veces más grande que el resto de las condiciones.

Cuando la temperatura de proceso es 150 °C, para las condiciones de exceso de serina (1:10) e igualdad de los reactivos (1:1), se puede observar que la concentración de furano aumenta considerablemente respecto a las temperaturas menores, alcanzando valores entre $21,58 \pm 3,845 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ y $60,55 \pm 4,42 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$. En cambio, las muestras con exceso de glucosa (para las tres actividades de agua) el contenido de furano formado en las muestras tiende a ser menor que el resto de los valores para esta temperatura, puesto que los resultados varían entre $6,63 \pm 0,40 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ y $10,02 \pm 0,72 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$, los cuales se asemejan a las concentraciones obtenidas en temperaturas menores.

Los resultados anteriormente expuestos, concuerdan con lo reportado por otros autores, como Cho y Lee (2014), Fromberg et al. (2014), Mariotti-Celis, Zúñiga, Cortés y Pedreschi (2017), Nie et al. (2013a) y Yuan et al. (2016), puesto que en sus investigaciones tanto en sistemas modelo como en alimentos obtienen que al aumentar la temperatura de proceso se provoca un aumento de los niveles de furano medidos.

Por lo tanto, se puede extraer que las “bajas” temperaturas ($\leq 120 \text{ °C}$) permiten minimizar la formación de furano. Por lo que es importante controlar la temperatura con la cual se procesan los alimentos. Sin embargo, se debe tener en consideración que existen limitaciones al respecto, dado que la temperatura es un factor importante en la inocuidad alimentaria.

5.2. Efecto de la razón de glucosa/serina en la formación de furano

Según lo obtenido en el análisis estadístico, la variación de la razón molar entre glucosa y serina en los sistemas modelo no tiene un efecto significativo en la formación de furano. Sin embargo, analizar el efecto de este factor puede ayudar a comprender cuál es el reactivo limitante en la reacción, y así aportar a futuros estudios que deseen evaluar esta variable.

Analizando los resultados se puede extraer, que cuando la actividad de agua es igual a 0,55 y 0,65, los niveles de furano obtenidos en cada caso siguen una formación similar,

alcanzando valores mayores cuando la razón molar de los reactivos es la misma (1:1) y los menores en la condición de exceso de glucosa. En cambio, para el caso de actividad de agua igual a 1,00, los niveles de furano más altos se presentan cuando la serina se encuentra en exceso en las muestras.

El comportamiento de los resultados obtenidos cuando las temperaturas son menores a 150 °C se asemeja a lo planteado en la investigación de Cho y Lee (2014). Los que obtuvieron que al variar las razones molares de un sistema modelo basado en glucosa/serina, condiciones de actividad 1,00 (medio acuoso) y temperatura 121 °C, la combinación que genera mayor contenido de furano se da cuando ambos reactivos se encuentran en la misma proporción. Particularmente en este trabajo, cuando el sistema tiene condiciones de actividad de agua igual a 1,00 y temperatura 150 °C el comportamiento deja de ser similar a lo planteado por los autores, lo que se puede deber a que las proporciones utilizadas en esta investigación son distintas y las condiciones de calentamiento de las muestras también.

Por otra parte, se desprende que, para las tres actividades de agua y cuatro temperaturas, el 100% de los resultados obtienen que el exceso de serina en el sistema modelo forma mayores concentraciones de furano que el exceso de glucosa. Lo que tiene sentido, ya que Pérez y Yaylayan (2004) en su investigación respecto a cómo se comporta la formación de furano en sistemas modelo glucosa/serina a condiciones de pirólisis, plantea que cuando la serina se encuentra en exceso (1:3), el 70% del furano formado proviene del esqueleto de la glucosa y un 30% de la serina. Adicionalmente, este autor plantea que para el caso de exceso de glucosa (3:1), el aporte del azúcar en la generación de furano decrece a un 20%.

Lo anteriormente descrito no es suficiente para determinar que la serina sea el reactivo limitante, dado que no fueron medidas las concentraciones finales de ambos reactivos como para poder haber realizado un balance y saber con certeza cuanto fue lo utilizado para formar furano. Sin embargo, es altamente probable que este reactivo si lo sea, por lo que se debe tener presente para trabajos futuros realizar la medición de estos valores para poder profundizar la influencia de estos factores.

Por lo tanto, se propone que el reactivo limitante en la formación de furano es la serina, debido a que se presenta una disminución en las concentraciones de furano obtenidas cuando disminuyó este reactivo y se dejó en exceso la glucosa. Esto se observa en todas las condiciones de temperaturas y actividad de agua.

5.3. Efecto de la actividad de agua en la formación de furano

Para estudiar el efecto de la actividad de agua sobre la formación de furano, se grafican los resultados fijando la razón molar entre reactivos y variando la temperatura y la actividad de agua (Figura 5-1).

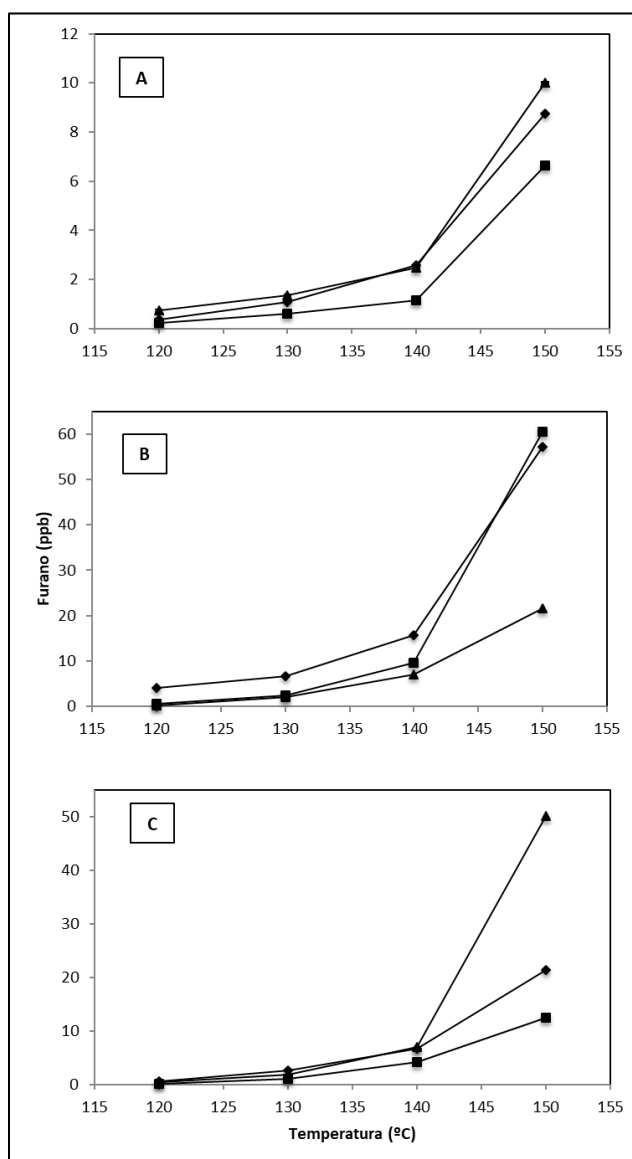


Figura 5-1. Formación de furano en sistema modelo glucosa/serina cuando las razones molares de ambos son 10:1 (A), 1:1 (B) y 1:10 (C) y las temperaturas son 120 °C, 130 °C, 140 °C y 150 °C. Las actividades de agua son 0,55 (♦), 0,65 (■) y 1,00 (▲).

Cuando la temperatura de proceso varía de 120 °C a 130 °C, y el sistema modelo presenta exceso de serina, se puede observar que el aumento de la actividad de agua de 0,55 a 0,65 genera una disminución en el contenido de furano en los sistemas modelo. En cambio, al variar de 0,65 a 1,00 la concentración de furano aumenta, pero no supera los valores obtenidos en la condición de actividad de agua es 0,55.

Cuando la temperatura se eleva alcanzando valores de 140 °C o 150 °C, la formación de furano se comporta distinto a las temperaturas más bajas, presentando una disminución de furano al aumentar de 0,55 a 0,65; y un incremento al variar de 0,65 a 1,00, alcanzando la mayor concentración en esta última actividad de agua.

Para el caso de los sistemas modelo con exceso de glucosa, se puede observar que para las 4 temperaturas las concentraciones de furano más alta se obtienen cuando la actividad de agua es 1,00 y las menores en 0,65.

A diferencia de lo anterior, se puede observar que cuando la razón molar entre reactivos es la misma (1:1) y la temperatura de calentamiento está entre los 120 °C y 140 °C, el contenido de furano aumenta cuando la actividad de agua disminuye, presentando el mismo comportamiento propuesto por Yuan et al. (2016) y Mariotti et al. (2012). Sin embargo, cuando la temperatura de proceso alcanza los 150 °C ocurre una variación particular en la concentración de furano obtenida, puesto que los resultados se invierten respecto a los de temperaturas menores, presentando un incremento del 6% en la concentración de furano al aumentar la actividad de agua de 0,55 a 0,65 y una disminución del 64% al variar de 0,65 a 1,00.

6. CONCLUSIONES Y TRABAJO FUTURO

- De los resultados se puede desprender que la mayor concentración de furano obtenida se presentó cuando las condiciones de proceso eran 150 °C, actividad de agua 0,65 y razón molar entre reactivos 1:1, alcanzando valores igual a $60,55 \pm 4,42 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$; y la menor concentración $0,10 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ en condiciones de 120 °C, actividad de agua 0,65 y razón 1:10.
- Al analizar los valores obtenidos por medio del análisis estadístico, se pudo determinar el efecto de los tres factores estudiados (temperatura de proceso, actividad de agua y razón molar entre azúcar/aminoácido) sobre la formación de furano en un sistema modelo basado en glucosa/serina. En el cual se obtuvo que dos de los tres factores afectaban significativamente el contenido de furano ($p < 0,05$). En donde la variación de la temperatura genera un incremento en las concentraciones de furano y la actividad de agua una disminución. Esto último, es muy interesante para investigaciones futuras, debido a que se busca tratar de mitigar los niveles de furano en los alimentos sin alterar la seguridad alimentaria.
- Dado lo anterior se puede concluir, que es factible modular la generación de furano en un sistema modelo alimentario en base a glucosa/serina cuando se varía la actividad de agua de la matriz, la temperatura de proceso y la razón molar entre reactivos, ya que fue posible controlar la formación de furano al variar estos tres factores. Además, se encontró que la mejor condición (niveles más bajos de furano) se da cuando los factores toman los valores de 120 °C, $a_w=1$ y razón 1:1.
- De los resultados y conclusiones obtenidas, se desprenden posibilidades de profundizar esta investigación y además realizar nuevamente el experimento utilizando otros valores de actividad de agua o razones molares, para descubrir si los niveles de furano siguen la misma tendencia obtenida o varía completamente. Además, esto contribuiría a estudios futuros que deseen poder atacar estas variables en el procesamiento de alimentos, ya que la actividad de agua es un punto crítico dentro de la producción de alimentos, por su gran influencia en la actividad microbiana, velocidad de reacción, la seguridad alimentaria, entre otras.

- Por otro lado, se propone medir el color de las muestras y el tiempo de proceso, dado que pueden ser variables que afectaron los resultados, lo cual se recomienda controlar y probar a que tiempo de calentamiento la tendencia de formación varía o presenta un comportamiento más estable. Además, el tiempo ayudaría a presentar una ecuación de Arrhenius, la cual permitiría comprobar la dependencia de la constante de velocidad (o cinética) de la reacción entre glucosa y serina con respecto a la temperatura a la que se lleva a cabo.

REFERENCIA

Altaki, M. S., Santos, F. J. y Galceran, M. T. (2011). Occurrence of furan in coffee from spanish market: Contribution of brewing and roasting. *Food Chemistry*, 126(4), 1527-1532.

Altaki, M. S., Santos, F. J., Puignou, L. y Galceran, M. T. (2017). Furan in commercial baby foods from the spanish market: Estimation of daily intake and risk assessment. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 34(5), 728-739.

Anese, M., Manzocco, L., Calligaris, S. y Nicoli, M. C. (2013). Industrially applicable strategies for mitigating acrylamide, furan, and 5-hydroxymethylfurfural in food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(43), 10209-10214.

Bassama, J., Brat, P., Bohuon, P., Hocine, B., Boulanger, R. y Günata, Z. (2011). Acrylamide kinetic in plantain during heating process: Precursors and effect of water activity. *Food Research International*, 44(5), 1452-1458.

Becalski, A. y Seaman, S. (2005). Furan precursors in food: A model study and development of a simple headspace method for determination of furan. *Journal of AOAC International*, 88(1), 102-106.

Belitz, H. D., Grosch, W. y Schieberle, P. (2004). *Food chemistry*, rd 3 edn. Heidelberg: Springer. Doi, 10, 978-973.

Bi, K. H., Zhang, L., Qiao, X. G. y Xu, Z. X. (2017). Tea polyphenols as inhibitors of furan formed in the maillard model system and canned coffee model. *Journal of Food Science*, 82(5), 1271-1277.

Cho, H. y Lee, K. (2014). Formation and reduction of furan in maillard reaction model systems consisting of various sugars/amino acids/furan precursors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(25), 5978-5982.

Crews, C. y Castle, L. (2007). A review of the occurrence, formation and analysis of furan in heat-processed foods. *Trends in Food Science & Technology*, 18(7), 365-372.

Damoradan, S., Fennema, O., y Parkin, K. (2007a). Chapter II: Water and ice. En *Fennema's Food Chemistry 4th Edition* (pp. 17-82). Nueva york, E.E.U.U: CRC Press.

Damoradan, S., Fennema, O., y Parkin, K. (2007b). Chapter III: Carbohydrates. En *Fennema's Food Chemistry 4th Edition* (pp. 83-154). Nueva york, E.E.U.U: CRC Press.

Duan, H. y Barringer, S. A. (2012). Changes in furan and other volatile compounds in sliced carrot during air-drying. *Journal of Food Processing and Preservation*, 36(1), 46-54.

Eichner, K. y Karel, M. (1972). Influence of water content and water activity on the sugar-amino browning reaction in model systems under various conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 20(2), 218-223.

EFSA. (2010). Update of results on the monitoring of furan levels in food. *EFSA Journal*, 8(7), 1702.

EFSA. (2011). Update on furan levels in food from monitoring years 2004–2010 and exposure assessment. *EFSA Journal*, 9(9), 2347.

EFSA. (2017). Scientific opinion on the risks for public health related to the presence of furan and methylfurans in food. *EFSA Journal*, 15, 5005.

FDA, U. S. (2004). Exploratory data on furan in food: Individual food products. United States Food and Drug Administration.

Fromberg, A., Mariotti, M. S., Pedreschi, F., Fagt, S., & Granby, K. (2014). Furan and alkylated furans in heat processed food, including home cooked products. *Czech Journal of Food Sciences*, 32(5), 443-448.

Gallego Picó, A., & Garcinuño Martínez, R. M. (2013). *Química básica*. Madrid: UNED - Universidad Nacional de Educación a Distancia. Retrieved from <http://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliotecascsp/detail.action?docID=3216606>

Goldmann, T., Périsset, A., Scanlan, F. y Stadler, R. H. (2005). Rapid determination of furan in heated foodstuffs by isotope dilution solid phase micro-extraction-gas chromatography–mass spectrometry (SPME-GC-MS). *Analyst*, 130(6), 878-883.

Guenther, H., Hoenicke, K., Biesterveld, S., Gerhard-Rieben, E. y Lantz, I. (2010). Furan in coffee: Pilot studies on formation during roasting and losses during production steps and consumer handling. *Food Additives and Contaminants*, 27(3), 283-290.

Hasnip, S., Crews, C. y Castle, L. (2006). Some factors affecting the formation of furan in heated foods. *Food Additives and Contaminants*, 23(3), 219-227.

Hedegaard, R. V., Frandsen, H., Granby, K., Apostolopoulou, A. y Skibsted, L. H. (2007). Model studies on acrylamide generation from glucose/asparagine in aqueous glycerol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(2), 486-492.

IARC (1995). Dry Cleaning, some chlorinated solvents and other industrial Chemicals. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. I. A. f. R. o. Cancer. Lyon, France: 394-407.

Jestoi, M., Järvinen, T., Järvenpää, E., Tapanainen, H., Virtanen, S. y Peltonen, K. (2009). Furan in the baby-food samples purchased from the finnish markets—Determination with SPME–GC–MS. *Food Chemistry*, 117(3), 522-528.

Kettlitz, B., Scholz, G., Theurillat, V., Cselovszky, J., Buck, N. R., O'Hagan, S. y Scozzi, G. (2019). Furan and methylfurans in foods: An update on occurrence, mitigation, and risk assessment. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(3), 738-752.

Kim, T., Lee, Y., Kim, S., Park, Y. S. y Lee, K. (2009). Furan in commercially processed foods: Four-year field monitoring and risk assessment study in korea. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 72(21-22), 1304-1310.

Lachenmeier, D. W., Reusch, H. y Kuballa, T. (2009). Risk assessment of furan in commercially jarred baby foods, including insights into its occurrence and formation in freshly home-cooked foods for infants and young children. *Food Additives and Contaminants*, 26(6), 776-785.

Lamberts, L., Rombouts, I. y Delcour, J. A. (2008). Study of nonenzymic browning in α -amino acid and γ -aminobutyric acid/sugar model systems. *Food Chemistry*, 111(3), 738-744.

Lee, Y. B., Laye, I., Kim, Y. D. y Morr, C. V. (1996). Formation of volatile compounds in whey protein concentrate during elevated temperature storage as a function of water activity. *International Dairy Journal*, 6(5), 485-496.

Limacher, A., Kerler, J., Conde-Petit, B. y Blank, I. (2007). Formation of furan and methylfuran from ascorbic acid in model systems and food. *Food Additives and Contaminants*, 24(sup1), 122-135.

Limacher, A., Kerler, J., Davidek, T., Schmalzried, F. y Blank, I. (2008). Formation of furan and methylfuran by maillard-type reactions in model systems and food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(10), 3639-3647.

Liu, Y. y Tsai, S. (2010). Assessment of dietary furan exposures from heat processed foods in taiwan. *Chemosphere*, 79(1), 54-59.

Maga, J. A. y Katz, I. (1979). Furans in foods. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 11(4), 355-400.

Mariotti Celis, M. S. (2014). Study of furan formation in starchy foods processed at high temperature and technologies for its mitigation.

Mariotti, M. S., Granby, K., Rozowski, J. y Pedreschi, F. (2013). Furan: A critical heat induced dietary contaminant. *Food & Function*, 4(7), 1001-1015.

Mariotti, M., Cortés, P., Fromberg, A., Bysted, A., Pedreschi, F. y Granby, K. (2015). Heat toxicant contaminant mitigation in potato chips. *LWT-Food Science and Technology*, 60(2), 860-866.

Mariotti, M., Granby, K., Fromberg, A., Risum, J., Agosin, E. y Pedreschi, F. (2012). Furan occurrence in starchy food model systems processed at high temperatures: Effect of ascorbic acid and heating conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(40), 10162-10169.

Mariotti-Celis, M. S., Zúñiga, R. N., Cortés, P., y Pedreschi, F. (2017). A kinetic study of furan formation in wheat Flour-Based model systems during frying. *Journal of Food Science*, 82(1), 232-239.

Märk, J., Pollien, P., Lindinger, C., Blank, I. y Märk, T. (2006). Quantitation of furan and methylfuran formed in different precursor systems by proton transfer reaction mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(7), 2786-2793.

National Toxicology Program. (1993). Toxicology and carcinogenesis studies of furan (CAS no. 110-00-9) in F344 rats and B6C3F1 mice (gavage studies). National Toxicology Program Technical Report Series, 402, 1.

Nie, S., Huang, J., Hu, J., Zhang, Y., Wang, S. A., Li, C., y Xie, M. (2013a). Effect of pH, temperature and heating time on the formation of furan from typical carbohydrates and ascorbic acid. *Journal of Food Agriculture & Environment*, 11(1), 121-125.

Nie, S., Huang, J., Hu, J., Zhang, Y., Wang, S., Li, C., y Xie, M. (2013b). Effect of pH, temperature and heating time on the formation of furan in sugar–glycine model systems. *Food Science and Human Wellness*, 2(2), 87-92.

Oral, R. A., Dogan, M., & Sarioglu, K. (2014). Effects of certain polyphenols and extracts on furans and acrylamide formation in model system, and total furans during storage. *Food Chemistry*, 142, 423-429.

Pavesi Ariseto, A., Vicente, E., Soares Ueno, M., Verdiani Tfouni, S. A. y De Figueiredo Toledo, Maria Cecília. (2011). Furan levels in coffee as influenced by species, roast degree, and brewing procedures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(7), 3118-3124.

Perez Locas, C. y Yaylayan, V. A. (2004). Origin and mechanistic pathways of formation of the parent furan A food toxicant. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(22), 6830-6836.

Pittia, P., Furlanetto, R., Maifreni, M., Mangina, F. T. y Dalla Rosa, M. (2008). Safe cooking optimisation by F-value computation in a semi-automatic oven. *Food Control*, 19(7), 688-697.

Raunio, R. P., Alho, P. S. y Linko, R. R. (1978). Effect of heat treatment on amino acid composition of canned baby food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26(3), 766-768.

Schamberger, G. P. y Labuza, T. P. (2007). Effect of green tea flavonoids on maillard browning in UHT milk. *LWT-Food Science and Technology*, 40(8), 1410-1417.

Seok, Y., Kim, Y., Jeong, S. Y., Lee, J. y Yoon, H. (2015). Furan in thermally processed foods-a review. *Toxicological Research*, 31(3), 241.

Senate Commission on Food Safety SKLM. (2007). Risk assessment of Furan. *Thermal Processing of Food: Potential Health Benefits and Risks* (p.104). Recuperado de http://books.google.cl/books?id=aF0RY4Sg-1cC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q=furan&f=false

Troller, J. (2012). *Water activity and food* Elsevier.

van Boekel, M., Fogliano, V., Pellegrini, N., Stanton, C., Scholz, G., Lalljie, S. y Eisenbrand, G. (2010). A review on the beneficial aspects of food processing. *Molecular Nutrition & Food Research*, 54(9), 1215-1247.

Van Lancker, F., Adams, A., Owczarek, A., De Meulenaer, B. y De Kimpe, N. (2009). Impact of various food ingredients on the retention of furan in foods. *Molecular Nutrition & Food Research*, 53(12), 1505-1511.

Van Lancker, F., Adams, A., Owczarek-Fendor, A., De Meulenaer, B. y De Kimpe, N. (2010). Mechanistic insights into furan formation in maillard model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(1), 229-235.

Vervoort, L., Van der Plancken, I., Grauwet, T., Verlinde, P., Matser, A., Hendrickx, M. y Van Loey, A. (2012). Thermal versus high pressure processing of carrots: A comparative pilot-scale study on equivalent basis. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 15, 1-13.

Villamiel, M., Del Castillo, M. D. y Corzo, N. (2006). Browning reactions. *Food Biochemistry and Food Processing*, , 71-100.

Vranova, J. y Ciesarova, Z. (2009). Furan in food-a review. *Czech J Food Sci*, 27(1), 1-10.

Wegener, J. y López-Sánchez, P. (2010). Furan levels in fruit and vegetables juices, nutrition drinks and bakery products. *Analytica Chimica Acta*, 672(1-2), 55-60.

Yuan, Y., Chen, D., Liu, H., Wu, S. y Yan, H. (2016). A comparison study of frying conditions on furan formation in 3 potato varieties. *Journal of Food Science*, 81(8), T2121.

ANEXO

A. ANEXO: MATERIALES Y EQUIPOS



Figura A-1. Agitador vórtex, marca equilab



Figura A-2. Baño de aceite termorregulado

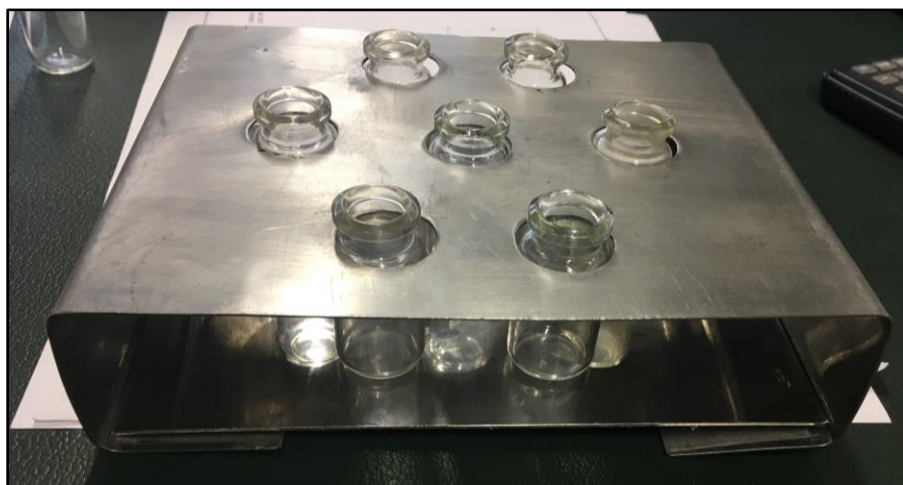


Figura A-3. Placa acero inoxidable

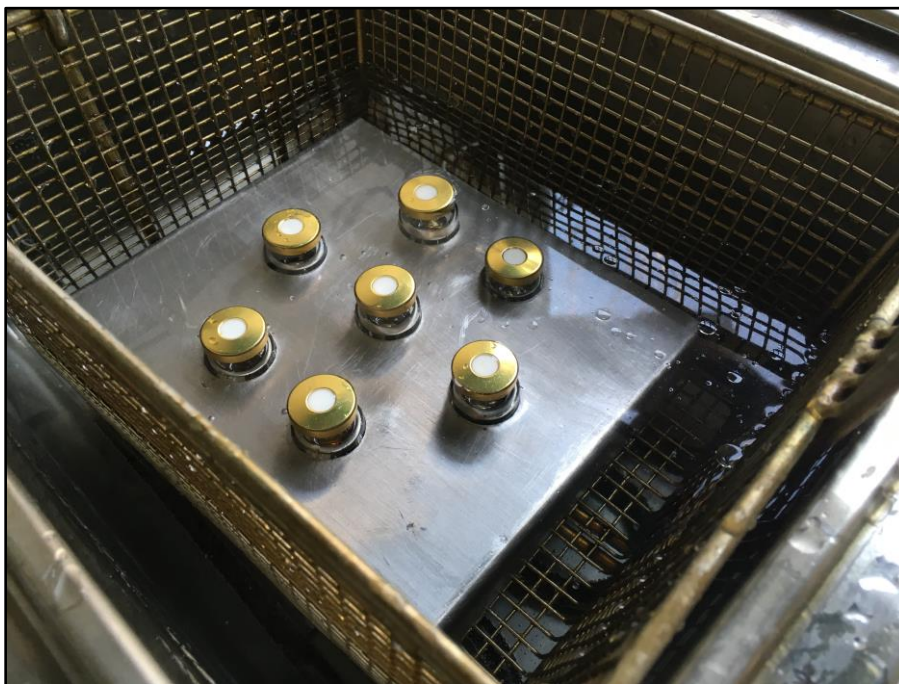


Figura A-4. Viales en baño de aceite termorregulado



Figura A-5. Viales en baño de aceite termorregulado con rejilla

B. ANEXO B: ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se analizaron estadísticamente los contenidos de furano para los 3 factores de estudio tales como temperatura de proceso (4 niveles: 120°C, 130°C, 140°C y 150°C), actividad de agua (3 niveles: 0.55, 0.66 y 1) y razón molar entre glucosa/serina (3 niveles: 1:10, 1:1 y 10:1), de modo de poder identificar si cada factor por si solo o en conjunto afecta significativamente en la formación de furano en los sistemas modelos glucosa/serina. Se desarrolló un diseño factorial completo 4x3x3 con 2 repeticiones, los cuales fueron analizadas aleatoriamente con un nivel de confiabilidad del 95% ($p < 0,05$). El análisis de datos fue realizado utilizando el programa Statgraphics Plus, Windows 4.0 (Statpoint Technologies, Inc., Virginia, E.E.U.U).

A continuación, se presenta el resumen estadístico para cada factor estudiado:

Tabla B-1. Análisis de Varianza para Furano - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Temperatura	501,828	1	501,828	10,20	0,0023
B: Aw	1.083,71	1	1.083,71	22,02	0,0000
C: Razón molar	4,70539	1	4,70539	0,10	0,7584
INTERACCIONES					
AB	2,23531	1	2,23531	0,05	0,8320
AC	561,588	1	561,588	11,41	0,0014
BC	108,122	1	108,122	2,20	0,1441
ABC	1,16106	1	1,16106	0,02	0,8785
RESIDUOS	2.657,74	54	49,2175		
TOTAL (CORREGIDO)	16.633,8	71			

* Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Tabla B-2. Pruebas de comparación múltiple de rangos Tukey. Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Tratamientos</i>			<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
<i>Temperatura °C</i>	<i>Aw</i>	<i>Rz molar</i>			
120	0.65	1:10	2	0.1	a
120	0.65	10:1	2	0.25	a
120	1	1:1	2	0.25	a
120	0.55	10:1	2	0.35	a
120	1	1:10	2	0.4	a
120	0.65	1:1	2	0.5	a
130	0.65	10:1	2	0.6	a
120	0.55	1:10	2	0.65	a
120	1	10:1	2	0.75	a
130	0.65	1:10	2	1.05	a
130	0.55	10:1	2	1.05	a
140	0.65	10:1	2	1.15	a
130	1	10:1	2	1.35	ab
130	1	1:10	2	1.85	abc
130	1	1:1	2	2.05	abc
130	0.65	1:1	2	2.3	abc
140	1	10:1	2	2.5	abc
130	0.55	1:10	2	2.6	abc
140	0.55	10:1	2	2.6	abc
120	0.55	1:1	2	4.05	abcd
140	0.65	1:10	2	4.1	abcd
130	0.55	1:1	2	6.55	bcde
140	0.55	1:10	2	6.6	bcde
150	0.65	10:1	2	6.6	bcde
140	1	1:1	2	7.0	cde
140	1	1:10	2	7.05	cde
150	0.55	10:1	2	8.75	def
140	0.65	1:1	2	9.6	ef
150	1	10:1	2	10.0	ef
150	0.65	1:10	2	12.5	fg
140	0.55	1:1	2	15.8	g
150	0.55	1:10	2	21.4	h

150	1	1:1	2	21.6	h
150	1	1:10	2	50.05	i
150	0.55	1:1	2	57.2	j
150	0.65	1:1	2	60.55	j

Tabla B-3. Tabla de Medias para Furano con intervalos de confianza del 95.0%

					Error Est.		
<i>Temperatura °C</i>	<i>Aw</i>	<i>Rz molar</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>(s agrupada)</i>	<i>Límite Inferior</i>	<i>Límite Superior</i>
120	0.55	1:10	2	0.65	0.909708	-0.654596	1.9546
130	0.55	1:10	2	2.6	0.909708	1.2954	3.9046
140	0.55	1:10	2	6.6	0.909708	5.2954	7.9046
150	0.55	1:10	2	21.4	0.909708	20.0954	22.7046
120	0.65	1:10	2	0.1	0.909708	-1.2046	1.4046
130	0.65	1:10	2	1.05	0.909708	-0.254596	2.3546
140	0.65	1:10	2	4.1	0.909708	2.7954	5.4046
150	0.65	1:10	2	12.5	0.909708	11.1954	13.8046
120	1	1:10	2	0.4	0.909708	-0.904596	1.7046
130	1	1:10	2	1.85	0.909708	0.545404	3.1546
140	1	1:10	2	7.05	0.909708	5.7454	8.3546
150	1	1:10	2	50.05	0.909708	48.7454	51.3546
120	0.55	1:1	2	4.05	0.909708	2.7454	5.3546
130	0.55	1:1	2	6.55	0.909708	5.2454	7.8546
140	0.55	1:1	2	15.8	0.909708	14.4954	17.1046
150	0.55	1:1	2	57.2	0.909708	55.8954	58.5046
120	0.65	1:1	2	0.5	0.909708	-0.804596	1.8046
130	0.65	1:1	2	2.3	0.909708	0.995404	3.6046
140	0.65	1:1	2	9.6	0.909708	8.2954	10.9046
150	0.65	1:1	2	60.55	0.909708	59.2454	61.8546
120	1	1:1	2	0.25	0.909708	-1.0546	1.5546
130	1	1:1	2	2.05	0.909708	0.745404	3.3546
140	1	1:1	2	7.0	0.909708	5.6954	8.3046
150	1	1:1	2	21.6	0.909708	20.2954	22.9046
120	0.55	10:1	2	0.35	0.909708	-0.954596	1.6546
130	0.55	10:1	2	1.05	0.909708	-0.254596	2.3546
140	0.55	10:1	2	2.6	0.909708	1.2954	3.9046
150	0.55	10:1	2	8.75	0.909708	7.4454	10.0546
120	0.65	10:1	2	0.25	0.909708	-1.0546	1.5546
130	0.65	10:1	2	0.6	0.909708	-0.704596	1.9046
140	0.65	10:1	2	1.15	0.909708	-0.154596	2.4546
150	0.65	10:1	2	6.6	0.909708	5.2954	7.9046
120	1	10:1	2	0.75	0.909708	-0.554596	2.0546

130	1	10:1	2	1.35	0.909708	0.0454036	2.6546
140	1	10:1	2	2.5	0.909708	1.1954	3.8046
150	1	10:1	2	10.0	0.909708	8.6954	11.3046
Total			72	9.21528			