



PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE CHILE
ESCUELA DE INGENIERIA

**EFFECTO DE LA ADICIÓN INTEGRADA DE UN
EXTRACTO DE CORONTA DE MAÍZ MORADO (ZEA
MAYS L.) OBTENIDO MEDIANTE EXTRACCIÓN CON
LÍQUIDOS CALIENTES PRESURIZADOS SOBRE EL
CONTENIDO DE CONTAMINANTES NEOFORMADOS
EN GALLETAS SALADAS**

MAYKABETH WENDH GARCIA SIU

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

Profesores Supervisores:

FRANCO WILFREDO PERESCHI PLASENCIA

MARIA SALOME MARIOTTI CELIS

Santiago de Chile, enero, 2023



PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE CHILE
ESCUELA DE INGENIERIA

**EFFECTO DE LA ADICIÓN INTEGRADA DE UN
EXTRACTO DE CORONTA DE MAÍZ MORADO (ZEA
MAYS L.) OBTENIDO MEDIANTE EXTRACCIÓN CON
LÍQUIDOS CALIENTES PRESURIZADOS SOBRE EL
CONTENIDO DE CONTAMINANTES NEOFORMADOS EN
GALLETAS SALADAS**

MAYKABETH WENDH GARCIA SIU

Tesis presentada a la Comisión integrada por los profesores:

FRANCO WILFREDO PEDRECHI PLASENCIA 

MARIA SALOME MARIOTTI CELIS 

JOSE RICARDO PEREZ CORREA 

SERGIO BENAVIDES VALENZUELA 

ALEJANDRO MAC CAWLEY VERGARA 

Para completar las exigencias del grado de
Magister en Ciencias de la Ingeniería

Santiago de Chile, enero, 2023

A Dios por cumplir sus promesas en mi vida. A mi madre, Susana, por animarme cada día. A mi papá, hermanos y sobrinos. A Renzo, por creer siempre en mí.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi supervisor Dr. Franco Pedreschi por aceptarme como su alumna, por su preocupación a lo largo de este camino. A mi co-supervisora Dra. María Salomé Mariotti Celis por su apoyo durante el proceso de esta investigación, por facilitarme las instalaciones de su laboratorio, por ser una amiga y guía, por impulsarme a trabajar con todo mi potencial.

Al Dr. Ricardo Pérez por brindarme las instalaciones del laboratorio de extracción de compuestos de alto valor para realizar parte de esta investigación y a Fernanda Erpel por sus enseñanzas en el manejo de los equipos.

A Migdalia Arazo y Juan Pablo Gómez, por el apoyo brindado en sus respectivos laboratorios durante la realización de los ensayos.

A los amigos del LIANS, especialmente a Andrea Doblado por ser compañera y amiga durante los meses en el laboratorio, por instruirme en la realización de algunos ensayos y apoyarme para culminar esta investigación.

A Paola y Susan, por su amistad y compañía en un país distinto al nuestro.

Al Programa Nacional de Becas y Crédito Educativo (PRONABEC) por la Beca Generación del Bicentenario que permitió la realización de esta meta.

Finalmente, a Lucero y Marlon por ser mi familia durante estos años que duró el magister.

INDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS.....	iii
INDICE DE ABREVIATURAS	vi
INDICE DE TABLAS.....	vii
INDICE DE FIGURAS.....	viii
RESUMEN.....	x
ABSTRACT	xi
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Galletas.....	3
1.2. Neocontaminantes: 5-HMF y acrilamida.....	3
1.2.1. Mecanismo de formación de 5-HMF.....	4
1.2.2. Mecanismos de formación de acrilamida	6
1.2.3. Exposición de neocontaminantes en la dieta y peligro potencial.....	8
1.2.4. Metodologías de mitigación de Contaminantes Neoformados (NFC) en productos de panadería	9
1.3. Maíz morado: fuente de compuestos bioactivos.....	14
1.3.1. Composición química del maíz morado	15
1.4. Extracción de compuestos mediante líquidos calientes presurizados.....	18
1.5. Justificación	21
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	22
2.1. Hipótesis.....	22
2.2. Objetivos	22
2.2.1. Objetivo general:.....	22
2.2.2. Objetivos específicos:.....	22
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
3.1. Diseño experimental y análisis estadístico.....	23
3.2. Reactivos	23
3.3. Obtención del extracto de coronta de maíz morado (Zea mays L.).....	24
3.3.1. Materia prima.....	24
3.3.2. Obtención del extracto de coronta de maíz morado (Zea mays L.) mediante líquidos calientes presurizados.....	24

3.3.3.	Rendimiento de extracción	26
3.4.	Caracterización del extracto de coronta de maíz morado	26
3.4.1.	Determinación del contenido de antocianinas totales	26
3.4.2.	Medición de contenido de polifenoles totales (PFT)	27
3.4.3.	Medición de la capacidad antioxidante	28
3.4.4.	Determinación del 5-HMF	29
3.4.5.	Medición de contenido de glucosa y fructosa	29
3.5.	Elaboración de las galletas saladas con extracto de coronta de maíz morado (<i>Zea mays</i> L.) incorporado	30
3.6.	Determinación del contenido de neocontaminantes en galletas saladas	32
3.6.1.	5-HMF.....	32
3.6.2.	Acrilamida.....	32
4.	RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	34
4.1.	Obtención y caracterización de extracto de coronta de maíz morado (<i>Zea mays</i> L.) mediante líquidos calientes presurizados.....	34
4.2.	Determinación de 5-HMF y selección del extracto de coronta de maíz morado (<i>Zea Mays</i> L.) obtenido mediante HPLE.....	40
4.3.	Determinación de neocontaminantes en galletas saladas	42
4.3.1.	Contenido de 5-HMF	42
4.3.2.	Acrilamida en galletas	46
5.	CONCLUSIONES	51
	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	53
	ANEXOS.....	68

INDICE DE ABREVIATURAS

AA:	Acrilamida
5-HMF:	5-Hidroximetilfurfural
RM:	Reacción de Maillard
ASE:	Extracción acelerada por solvente
HPLC:	Extracción líquido caliente presurizado
EA:	Extracción convencional con acetona
AG:	Extracción convencional con agua
PFT:	Polifenoles totales
AT:	Antocianinas totales
Cy3G:	Cianidina-3-O-glucósido
EAG:	Equivalente de ácido gálico
μ M Eq. Trolox:	Micro Mol Equivalente Trolox
GCS:	Gramo de coronta seca
HPLC-DAD:	Cromatografía líquida de alta resolución con detector de arreglo de diodos
HPLC-IR:	Cromatografía líquida de alta resolución con detector de índice de refracción
GC-MS:	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas
Coronta:	Mazorca del maíz después de ser desgranada

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Valores indicativos del contenido de AA en 10 categorías de alimentos establecidos por la Unión Europea, 2011 (Lineback et al., 2011).....	8
Tabla 2: Aplicación de compuestos antioxidantes como metodología de mitigación de acrilamida y 5-HMF aplicadas en productos de panadería.....	12
Tabla 3: Composición química del maíz morado (Collazos, 1962 y Fernández, 1995 (Citado por Guillén, 2019)).....	16
Tabla 4: Compuestos fenólicos identificados en el extracto de coronta de maíz morado (<i>Zea mays</i> L.) (R. Pedreschi & Cisneros-Zevallos, 2007).....	16
Tabla 5: Compuestos de un extracto comercial de antocianinas de corontas de maíz morado (de Pascual-Teresa et al., 2002; Gorriti Gutiérrez et al., 2009)	17
Tabla 6: Formulación de galletas saladas. Modificado de Noor Aziah y Komathi (2009).	30
Tabla 7: Concentración de extracto de coronta de maíz morado (<i>Zea mays</i> L.) en galletas	31
Tabla 8: Resultados de los cálculos de rendimiento, polifenoles totales (PFT), antocianinas totales y capacidad antioxidante	34
Tabla 9: Contenido de 5-HMF en extracto de coronta de maíz morado obtenido por HPLE	40
Tabla 10: Contenido de 5-HMF en galletas saladas bajo condiciones experimentales....	43
Tabla 11: Contenido de acrilamida en galletas saladas bajo condiciones experimentales	46
Tabla 12: Promedios de la concentración de ácido gálico para curva de calibración.....	70

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Mecanismos de formación de 5-HMF (Lee et al., 2019).....	5
Figura 2: Vías para la formación de AA en los alimentos. (A) Vía principal de formación de AA. (B) Vía de formación de AA menor.....	7
Figura 3. Maíz morado (<i>Zea Mays</i> L.)	15
Figura 4. Coronta de maíz morado (<i>Zea Mays</i> L.) pulverizada.....	24
Figura 5. (a) Celda de extracción del ASE (b) Equipo ASE (c) Botella de recolección del extracto de coronta de maíz morado (<i>Zea Mays</i> L.) (d) Extracto liofilizado	25
Figura 6. Cubetas de espectrofotómetro con muestra a pH 1.0 y 4.5 respectivamente....	27
Figura 7. Viales con diluciones de extractos para ensayo de determinación capacidad antioxidante	28
Figura 8. Viales para lectura de HMF.....	29
Figura 9. (a) Masas de las diferentes formulaciones (b) Galletas elaboradas correspondiente a cada formulación (c) Galletas trituradas dispuestas para los respectivos análisis.....	31
Figura 10. Viales para lectura del contenido de acrilamida mediante HPLC-DAD.....	32
Figura 11: (a) Rendimiento (%) de cada condición de extracción (b) Contenido de polifenoles totales (c) Contenido de antocianinas totales y (d) Capacidad antioxidante ...	36
Figura 12: Incremento porcentual del contenido de 5-HMF en extractos de coronta de maíz morado.....	41
Figura 13: Reducción porcentual del contenido de 5-HMF en galletas saladas con extracto de maíz morado, respecto al control (sin extracto).....	44
Figura 13: (a) Contenido de acrilamida en diferentes formulaciones de galletas saladas con extracto de coronta de maíz morado (b) Reducción porcentual del contenido de acrilamida en galletas saladas con extracto de maíz morado, respecto al control (sin extracto).....	47
Figura 14: Curva de calibración para polifenoles totales	70

LISTA ANEXOS

Anexo A: Ficha técnica de coronta de maíz morado pulverizada expedida por la empresa proveedora Kumara Food	69
Anexo B: Curva de calibrado para determinación de polifenoles totales	69
Anexo C: Resultados de análisis de varianza para % de Rendimiento de extracción por HPLE de los extractos de coronta de maíz morado	71
Anexo D: Resultados de análisis de varianza para polifenoles totales (PFT) de los extractos de coronta de maíz morado.....	71
Anexo E: Resultados de análisis de varianza para antocianinas totales de los extractos de coronta de maíz morado	71
Anexo F: Resultados de análisis de varianza para capacidad antioxidante de los extractos de coronta de maíz morado	72
Anexo G: Resultados de análisis de varianza para contenido de 5-HMF de los extractos de coronta de maíz morado	72
Anexo H: Resultados de análisis de varianza para contenido de 5-HMF en las formulaciones de galletas con extracto de coronta de maíz morado	72
Anexo I: Resultados de análisis de varianza para contenido de acrilamida en las formulaciones de galletas con extracto de coronta de maíz morado	73

RESUMEN

Las galletas y otros productos de panadería de consumo masivo que sufren la aplicación de tratamientos térmicos durante su fabricación son fuente importante de contaminantes neoformados (NFC) como 5-HMF y acrilamida. Este grupo de alimentos representa el ~70% de la exposición dietaria de la población chilena. Sin embargo, este proceso térmico es necesario para la formación de compuestos responsables del sabor, aroma, color y textura de los productos horneados.

Debido a lo mencionado, esta investigación tiene como objetivo aplicar una metodología alternativa para la reducción de 5-HMF y acrilamida en galletas saladas y evaluar su efecto sobre el contenido de estos NFC, adicionando un extracto de coronta de maíz morado (*Zea mays* L.) obtenido mediante extracción con líquidos calientes presurizados (HPLE). La coronta de maíz morado fue sometida a un proceso HPLE usando diversas mezclas etanol: agua como solvente de extracción y diversas temperaturas (T1: 90°C- 0% etanol; T2: 90 °C-32,5% etanol y T3: 150 °C-50% etanol) para la obtención de extractos crudos de compuestos polifenólicos, los que fue caracterizados fisicoquímicamente para determinar polifenoles totales, antocianinas totales y actividad antioxidante. El extracto seleccionado (T2) obtuvo 55,43 mg EAG/gcs de polifenoles totales, 13,42 mg Cy3G/gcs de antocianinas totales y 1120,18 µM Eq. Trolox/gcs. Este extracto fue incorporado en concentraciones de 1000 ppm, 2000 ppm y 3000 ppm en galletas saladas para la cuantificación de los niveles de 5-HMF y acrilamida por HPLC-DAD y GS-MS, respectivamente.

La adición de 1000 ppm de extracto de coronta de maíz morado redujo significativamente ($p < 0,05$) los niveles de 5-HMF en 99,3% y de acrilamida en 67,7% en galletas saladas horneadas a 180 °C por 13 minutos. Obteniendo una galleta con 11% del valor indicativo de acrilamida establecido por la Unión Europea y el 2% del valor de 5-HMF en alimentos del mismo grupo de alimentos.

Palabras clave: Inocuidad, galletas, acrilamida, 5-HMF, reacción de Maillard, compuestos neoformados, coronta de maíz morado

ABSTRACT

Effect of the Integrated Addition of a Purple Corn (*Zea mays* L.) Cob Extract obtained by hot pressurized liquid extraction (HPLE) over the Neoformed Contaminants Content in Crackers.

Cookies and other bakery products of massive daily consumption that undergo heat treatment during their manufacture are an important source of neoformed contaminants (NFC) such as 5-HMF and acrylamide. This food group represents ~70% of the dietary exposure for the Chilean population. However, this thermal process is required to form compounds responsible for the flavor, aroma, color and texture of baked products.

This research aims to apply an alternative methodology for the reduction of 5-HMF and acrylamide in crackers and to evaluate its effect on the content of these NFC, by adding an extract of purple corn (*Zea mays* L.) cob obtained by hot pressurized liquid extraction (HPLE). The purple corn cob was subjected to an HPLE process using different ethanol:water mixtures as extraction solvent and temperatures (T1: 90°C- 0% ethanol; T2: 90°C-32,5% ethanol and T3: 150°C-50% ethanol) to obtain crude extracts of polyphenolic compounds, which were physicochemically characterized to determine total polyphenols, total anthocyanins, and antioxidant activity. The selected extract (T2) obtained 55,43 mg EAG/gcs total polyphenols, 13,42 mg Cy3G/gcs total anthocyanins, and 1120,18 µM Eq. Trolox/gcs. This extract was incorporated at concentrations of 1000 ppm, 2000 ppm, and 3000 ppm in crackers for quantification of 5-HMF and acrylamide levels by HPLC-DAD and GS-MS, respectively.

Adding 1000 ppm of purple corn cob extract significantly ($p < 0.05$) reduced the levels of 5-HMF by 99.3% and acrylamide by 67.7% in crackers baked at 180 °C for 13 min. Obtaining a cookie with 11% of indicative value of acrylamide established by the European Union and 2% of the value of 5-HMF in food of the same food group.

Key words: safety, crackers, acrylamide, 5-HMF, Maillard reaction, neo-formed compounds, purple corn cob

1. INTRODUCCIÓN

Los productos de panadería, como las galletas, son de conocida preferencia por los consumidores en todo el mundo. Por ejemplo, en Perú el consumo per cápita es cercano a 4,1 kilos anuales, cercano a Chile con 5 kilos anuales (PROMPERU, 2020); siendo Chile el país de la región en el que más creció el consumo de snacks y galletas el último año (FORBES CHILE, 2022). El consumo per cápita en países como Estados Unidos y México también es de 5 kg por habitante, superado ampliamente por países europeos como Bélgica y Holanda, donde alcanza los 15 kg (The Food Tech, n.d.). Sin embargo, estos productos junto con el café, papas fritas y cereales para desayuno representan la mayor contribución a la ingesta dietaria de acrilamida (AA) (EFSA (European Food Safety Authority), 2012; R. Liu et al., 2020).

El proceso térmico empleado para el horneado de galletas es generalmente realizado a temperaturas superiores a 120 °C. Esto favorece su conservación e inocuidad y el desarrollo de aromas y colores deseados. Sin embargo, las altas temperaturas empleadas transforman sus ingredientes principales (asparagina, azúcares y lípidos), generando compuestos no deseables conocidos como contaminantes neoformados (NFC). Dentro de estos, el 5-hidroximetilfurfural (5-HMF) y la acrilamida (AA) se generan principalmente en alimentos ricos en carbohidratos gracias a la Reacción de Maillard (Mariotti et al., 2015; Palermo et al., 2012; Wang & Xu, 2014). Ambos NFC están catalogados como un riesgo para los humanos, siendo la acrilamida considerada en 1994 potencialmente cancerígena por la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC por sus siglas en inglés). Por su parte, el 5-HMF es considerado de alta toxicidad, reconocido como posible mutagénico y carcinogénico (Glatt & Sommer, 2007; Huamán Castilla et al., 2017).

Se han propuesto diversas técnicas para disminuir el nivel de NFC en los alimentos. Algunas de estas están basadas en la reducción de los niveles de sus precursores, reformulación, modificaciones de parámetros de proceso, adición de agentes enzimáticos (como la asparaginasa) (Hu et al., 2022; Huamán Castilla et al., 2017; Mariotti et al., 2015; Schouten et al., 2023) y la incorporación de agentes antioxidantes (Ma et al., 2022; F. Pedreschi et al., 2018). En los últimos años, se ha investigado el efecto de varios antioxidantes y extractos antioxidantes naturales en la formación de NFC debido a la capacidad de éstos para

reaccionar con los precursores de acrilamida o 5-HMF, con intermediarios de la RM o con los NFC mismos (Jin et al., 2013; Y. Liu et al., 2015) .

Por tanto, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la adición del extracto de coronta de maíz morado (*Zea Mays L.*) en galletas saladas como tecnología de mitigación de 5-HMF y acrilamida.

1.1. Galletas

Las pastas horneadas como las galletas están categorizadas dentro de los “Alimentos farináceos” descritos en el párrafo III “Del pan y de los productos de pastelería y repostería” del título XV del Reglamento Sanitario de los Alimentos (RSA), Artículo 358, donde se describen las especificaciones que deben cumplir las masas horneadas elaboradas en base a harinas, adicionadas o no de especies y otros ingredientes o aditivos permitidos; las cuales son: a) el aspecto de la masa será homogéneo, adecuado para dar la característica típica del producto; b) acidez no superior al 0,25% expresada en ácido sulfúrico (Ministerio de Salud, 2018).

Chile es el tercer mayor importador de galletas de Latinoamérica, seguido de México y Guatemala, destacando que en el 2019 el mercado chileno tuvo un crecimiento de 19,4% respecto al año 2018 y en los últimos cinco años una tasa de crecimiento anual de 1,1%, en cuanto a las importaciones de galletas y bocadillos dulces similares (PROMPERU, 2020).

En general, las galletas son productos horneados, usualmente planos, elaborados a base de harina de cereales y contienen manteca o aceites, azúcar, sal y levadura, siendo la harina de trigo la más común para su elaboración. La mayoría de las galletas tiene un contenido de humedad bajo (inferior a 10%), lo que le confiere propiedades de crocancia y una vida útil mayor a la de otros productos de panificación.

Estos productos horneados representan una fuente importante de ingesta de acrilamida y 5-HMF; por lo que su reducción en esta matriz alimentaria es un objetivo muy importante tanto para los investigadores como para los departamentos encargados de I+D en las empresas productoras de galletas.

1.2. Neocontaminantes: 5-HMF y acrilamida

Durante el proceso de horneado se da lugar a la Reacción de Maillard (RM) que está relacionada principalmente al tratamiento térmico y la composición de los alimentos y se considera un pardeamiento no enzimático. La RM es una operación clave en el procesamiento de alimentos

pues genera productos secundarios algunos de los cuales son de bajo peso molecular responsables de algunas de las características sensoriales atractivas como sabores y aromas característicos de los productos horneados (Jousse et al., 2002; Michael Murkovic et al., 2018; Patrignani et al., 2015; F. Pedreschi & Mariotti, 2023). Esta reacción nos garantiza obtener un producto con las características fisicoquímicas deseadas y una vida útil prolongada; sin embargo, la sinergia de los parámetros de proceso (tiempo y temperatura) con la composición de la masa rica en el aminoácido libre asparagina, azúcares reductores, pH, contenido y actividad de agua (A_w) de la masa, la convierten en una de las principales vías para la formación de acrilamida (Becalski et al., 2002; Miskiewicz et al., 2018; Mustafa et al., 2008). Junto con la AA, durante el tratamiento térmico, se forma un compuesto furánico (5-HMF) como intermediario en la Reacción de Maillard a partir del calentamiento de los carbohidratos en presencia de aminoácidos o proteínas, o la deshidratación directa de azúcares en condiciones ácidas (caramelización) (Ames, 1992; Capuano & Fogliano, 2011; Fogliano, 2014; Kroh, 1994).

1.2.1. Mecanismo de formación de 5-HMF

Para la formación de 5-HMF en los alimentos se consideran dos vías principales, la primera implica la descomposición de la 3-desoxiglucosona (3-DG) por Reacción de Maillard y la segunda es la caramelización de los azúcares (**Figura 1**).

Durante la reacción de Maillard en presencia de calor, azúcares reductores (como glucosa o fructosa), y aminoácidos se forma una base Schiff (F. J. Morales, 2008), posteriormente la ciclación de esta base da como resultado la formación de productos de reordenamiento de Heyns y Amadori, los cuales son inestables y se degradan rápidamente a 1,2-eneaminol por 1,2-enolización a valores de $\text{pH} \leq 7$. La deshidratación de 1,2-eneaminol da como resultado la generación de 3-DG que se considera el intermediario clave para la formación de 5-HMF. Finalmente, esta 3-DG forma 3,4-didesoxiglucosona (3,4-DGE) por deshidratación produciendo 5-HMF a través de la ciclación (Capuano & Fogliano, 2011; Kocadagli & Gökmen, 2016; Locas & Yaylayan, 2008; Zhang & An, 2017).

1.2.2. Mecanismos de formación de acrilamida

Hasta hoy se han realizado varios estudios sobre el mecanismo de formación de la acrilamida en algunas matrices alimentarias. Dichos estudios han revelado que la asparagina juega un rol importante en su formación y es el sustrato limitante (Halford et al., 2012), estando el mecanismo principal relacionado con la reacción entre el grupo amino de asparagina y el carbonilo proveniente de un azúcar reductor de la Reacción de Maillard desencadenada durante el calentamiento (Xu et al., 2014; Zyzak et al., 2003), donde se produce una base de Schiff. Si el azúcar presente es una aldosa, esta base se cicla para producir una aldosilamina; de ser una glucosa sería una glucosamina. La aldosilamina se reorganiza para dar un 1,2-enaminol y su cetotautómero, una 1-amino-2-desoxicetosa sustituida por N. Estos compuestos son los productos de reordenamiento de Amadori; las cetosas como la fructosa, dan productos de reordenamiento de Heyns. La amina neutra del compuesto de Amadori descarboxilado se forma por transferencia de protones y la subsiguiente eliminación beta produce la AA (de Vleeschouwer et al., 2009; Lineback et al., 2011; Stadler et al., 2004).

Alternativamente a esta vía, se ha descrito que a partir de iluros de azometina se origina la formación de 3-aminopropionamida (3-APA), un importante intermediario, que mediante desaminación originará finalmente la AA (Barrios Rodríguez, 2021; Xu et al., 2014).

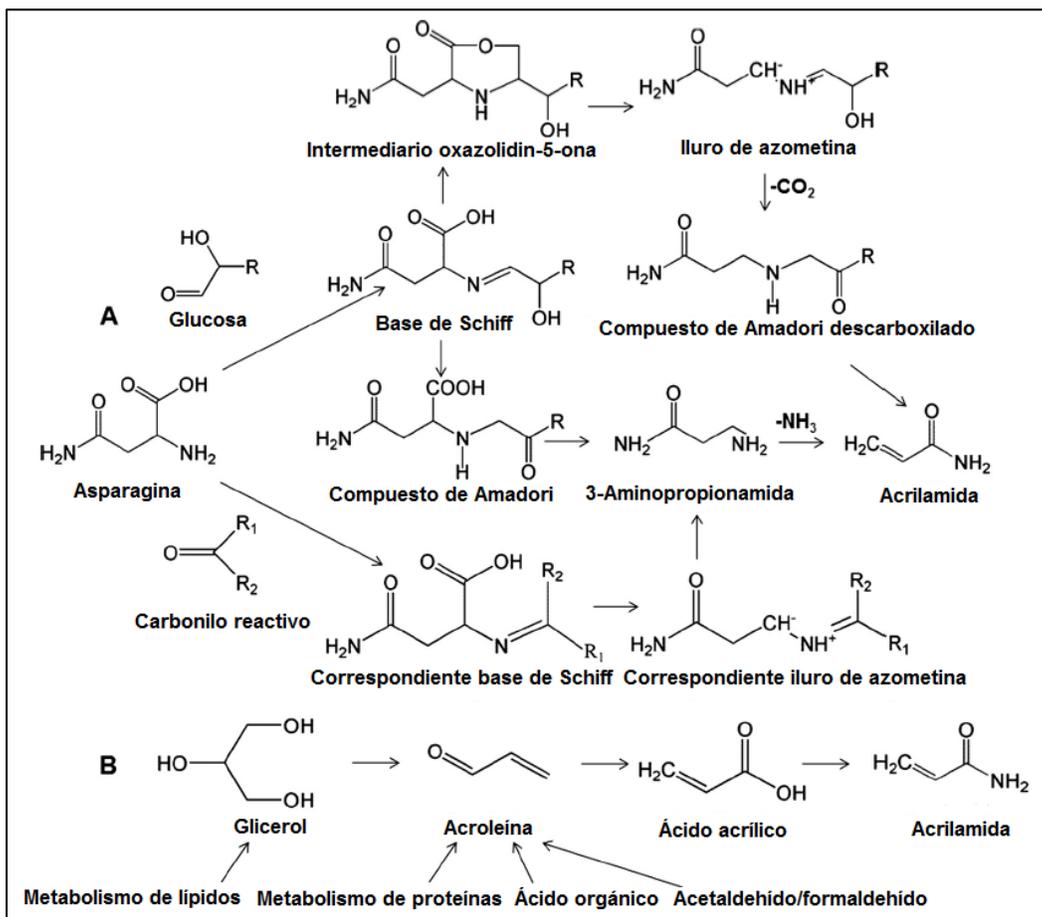


Figura 2: Vías para la formación de AA en los alimentos. (A) Vía principal de formación de AA. (B) Vía de formación de AA menor. (Xu et al., 2014)

Otras vías de reacción de menor aporte han sido propuestas, como la del ácido acrílico que puede reaccionar con el amoníaco liberado durante la degradación de aminoácidos y proteínas o la de la acroleína, conocido producto de la degradación lipídica, esta última podría reaccionar con la asparagina, proporcionando el carbonilo para la RM. Los aminoácidos presentes en el gluten del trigo pueden también generar acrilamida a las condiciones pirolíticas adecuadas (Lineback et al., 2011; Stadler et al., 2003; Yasuhara et al., 2003; Yaylayan & Stadler, 2005) (**Figura 2**).

1.2.3. Exposición de neocontaminantes en la dieta y peligro potencial

La acrilamida es una molécula tóxica y potencial carcinógeno para los humanos según la “International Agency for Research on Cancer” (IARC) en 1994, clasificándola como carcinógeno del grupo 2ª, además la Unión Europea (EC, 2002) la clasificó como carcinógeno y mutágeno de Categoría 2.

Este NFC no se encuentra en alimentos crudos ni cocidos, sino en alimentos procesados a altas temperaturas como galletas, pan y papas, especialmente si son fritas u horneadas (Tareke et al., 2002; van der Fels-Klerx et al., 2014; Xu et al., 2014). En 2012, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) informó que la acrilamida puede encontrarse en muchos alimentos procesados térmicamente, entre ellos las galletas, cereales para desayuno y el pan (**Tabla 1**). En 2015 al publicar su primera evaluación completa del riesgo de la acrilamida en los alimentos, los expertos concluyeron que la acrilamida aumenta potencialmente el riesgo de desarrollar cáncer en todos los grupos de edad de los consumidores.

Tabla 1: Valores indicativos del contenido de AA en 10 categorías de alimentos establecidos por la Unión Europea, 2011 (Lineback et al., 2011)

Categoría de alimento	Valor indicativo (µg/kg)
Papas fritas	600
Papas chips	1000
Pan de molde	150
Cereales para desayuno (no incluye papillas)	400
Galletas cracker, obleas, pan crujiente (no incluye pan de jengibre)	500
Café tostado	450
Café instantáneo soluble	900
Alimentos para bebés, otras galletas y bizcochos	80
Galletas y bizcochos para niños	250
Cereales procesados en base a cereales para niños, no incluye galletas y bizcochos	100

Por otro lado, el 5-HMF se ha identificado en una amplia variedad de alimentos procesados a temperaturas entre 110 °C y 121 °C, como jugos de frutas procesados, bebidas alcohólicas, productos lácteos, miel, entre otros (Ramirez-Jimenez et al., 2000). Hasta la fecha no se han podido confirmar los riesgos potenciales para la salud humana que representa el 5-HMF (Capuano & Fogliano, 2011), sin embargo, se ha demostrado que en modelos vivos 5-HMF se convierte en 5-sulfoximetilfurfural (SMF) un compuesto genotóxico a concentraciones muy altas, causando irritación en los ojos, tracto respiratorio superior, piel y membranas mucosas (Abraham et al., 2011; Glatt & Sommer, 2007; F. J. Morales, 2008).

Tardiff et al. (2010) estimaron en su investigación una ingesta diaria tolerable (IDT) de acrilamida de 40 µg/kg-día para la neurotoxicidad y para el cáncer una IDT de 2,6 µg/kg-día. Mientras la Comisión Técnica de Materiales en Contacto con Alimentos, Enzimas, Aromatizantes y Auxiliares Tecnológicos (CEF) de la EFSA estimó una ingesta dietética de HMF de 1,6 mg/persona día, que dista del umbral de 540 µg/persona día derivado de la base de datos de la JEFCA, 1996. Finalmente, Zaitsev et al. (1975) sugirieron una ingesta diaria tolerable de 132 mg/persona día.

El peligro potencial de la acrilamida y el 5-HMF radica principalmente en la exposición dietaria, pues están presentes en los alimentos amiláceos de consumo diario; lo que puede representar un problema de salud pública y un reto tecnológico para la industria. Barrios-Rodríguez, (2021) determinó que el grupo de alimentos de papas y pan contribuye un ~70% a la exposición dietética de acrilamida en Chile, siendo la población comprendida entre 12 y 17 años la que presenta mayor ingesta de AA.

1.2.4. Metodologías de mitigación de Contaminantes Neoformados (NFC) en productos de panadería

Según el Reglamento 2017/2158/EC (Comisión Europea, 2017), los operadores de la industria alimentaria están obligados a aplicar medidas para reducir los niveles de AA, a fin de obtener niveles por debajo de los establecidos en el mismo reglamento.

Por su mecanismo de formación, la mitigación de acrilamida se basa principalmente en el control de sus precursores y la RM. Por su lado, 5-HMF aumenta principalmente con el incremento de la

temperatura y el tiempo de calentamiento (Fan et al., 2019). En tal sentido, la disminución de azúcares reductores y asparagina, la variación de temperatura y tiempo de proceso, contenido y actividad de agua, pH y adición de otros aditivos como ácidos o antioxidantes son las técnicas usualmente aplicadas para mitigar su formación en los productos de panadería. Al ser la acrilamida, al igual que 5-HMF, un subproducto de la RM donde además se generan los compuestos que confieren color, sabor y textura de los alimentos horneados y fritos, el desafío de mitigación es mayor ya que las metodologías aplicadas no deberán alterar de manera negativa las características sensoriales de los mismos.

Las condiciones óptimas para la formación de estos NFC son una temperatura en el rango de 140 °C y 180 °C y humedad menor a 30%. Alcanzando los niveles máximos de acrilamida cuando la temperatura es superior a 190 °C, disminuyendo cuando el proceso de horneado se da a 260 °C (Ahrné et al., 2007; Onacik-Gür et al., 2022; Xu et al., 2014).

Al reducir la temperatura de horneado, si bien es cierto se formará menor contenido de acrilamida y 5-HMF, se deberá aumentar el tiempo de proceso para lograr la humedad y textura deseada en el producto final. Por lo que algunos investigadores aplicaron presiones de vacío durante el proceso térmico, lo que acorta los tiempos para lograr la humedad deseada; sin embargo, a pesar de lograr una reducción en los contenidos de acrilamida y 5-HMF, los productos horneados carecían del color característico del “tostado” por lo que se plantea que estos productos sean destinados preferentemente a productos recubiertos de chocolate o agregar aditivos colorantes (Mogol & Gökmen, 2014).

A nivel laboratorio se han desarrollado diversos experimentos con el fin de mitigar la formación de NFC; por ejemplo, en el pan de jengibre se logró una reducción de más del 97% del contenido de acrilamida mediante la aplicación de asparaginasa (1000 µg/kg) con 48 horas de incubación antes del horneado, sin tener efectos negativos sobre su calidad sensorial (Ciesarova et al., 2009). Amrein et al. (2004) evaluaron el efecto de diferentes agentes de cocción en la formación de acrilamida, determinando que el uso de hidrogenocarbonato de sodio como agente de cocción redujo la concentración de AA hasta un 60%. Por otro lado, la adición de cloruro de sodio (NaCl) en un modelo asparagina/D-glucosa, logra reducciones en el contenido de AA de 32, 36 y 40%

con adiciones de 1, 5 y 10% respectivamente, respecto a la mezcla sin NaCl (Kolek et al., 2006). Shakeri et al. (2019) evaluaron los efectos del azúcar y los procesos de horneado en la formación de AA en galletas Kolompeh, concluyendo que para ambas formulaciones (con y sin azúcar), la formación de AA fue de 1,97 y 1,87 veces mayor en el proceso de horneado doméstico que en el proceso industrial. Mientras que Nguyen et al. (2016) demostraron que la concentración de 5-HMF fue más alta en galletas con glucosa y fructosa, mientras que la concentración de AA fue mayor en galletas con glucosa, a partir de un estudio variando el tipo de azúcar en galletas, analizando cuatro formulaciones distintas (1) sacarosa, (2) glucosa y fructosa, (3) fructosa y (glucosa).

En esta misma línea Huamán et al. (2017) evaluó la influencia de edulcorantes comerciales como estevia y sucralosa en la reducción de 5-HMF en galletas, concluyendo que la adición de estevia mitigó la formación de 5-HMF en ~60%, siendo una alternativa para la formulación de alimentos inocuos y seguros para consumo humano. No obstante, la adición de sucralosa promueve la formación de 5-HMF debido a la hidrólisis que sufre este edulcorante al ser sometido a altas temperaturas, donde se generan fructopiranosil (fructosa) y galactopiranosil (glucosa) que son azúcares reductores (Huamán Castilla et al., 2017).

1.2.4.1. Antioxidantes y formación de neocontaminantes

En la búsqueda de tecnologías de mitigación de contaminantes neoformados se ha investigado el efecto de la adición de compuestos antioxidantes en sistemas modelo y matrices alimentarias. Algunos estudios lograron mitigación, mientras que otros ningún efecto o incluso generaron un aumento en los niveles de NFC. Estos resultados se pueden atribuir a las diferentes reacciones que tienen los compuestos fenólicos con precursores de acrilamida, intermediarios de la reacción de Maillard o con la misma AA, tales como, prevenir la oxidación lipídica, limitar la acumulación de carbonilos, la formación de quinonas que reaccionan posteriormente con la asparagina (Jin et al., 2013; Y. Liu et al., 2015; Yáñez et al., 2017; Zhang & Jin, 2016). Además, la formación de NFC no solo está condicionada por el tipo de antioxidante sino también por la concentración de éste (Jin et al., 2013; Zhang & Zhang, 2008).

Pedreschi et al. (2018) investigaron el efecto del extracto polifenólico de vainas de tara (*Caesalpinia spinosa*) en la reducción de acrilamida y 5-HMF en la matriz de pan chileno, demostrando que dicho extracto mitigó eficazmente la formación de los NFC mencionados, sin afectar sus atributos sensoriales. Pedreschi et al. (2022), integraron un extracto de tara roja en galletas concluyendo que el contenido de AA y 5-HMF son inversamente proporcionales a la concentración de extracto añadido. Morales et al. (2014), sumergieron papas en extractos antioxidantes de té verde, canela u orégano, a una concentración de 1 g/L durante un minuto, previo a la fritura, logrando reducción del contenido de acrilamida en 62%, 39% y 17% respectivamente.

Tabla 2: Aplicación de compuestos antioxidantes como metodología de mitigación de acrilamida y 5-HMF aplicadas en productos de panadería

Matriz Alimentaria	Tipo de polifenoles	% Mitigación o reducción		Referencia
		Acrilamida	5-HMF	
Galletas	Antioxidantes de hojas de bambú (0,2 g/kg),	63,9%	No evaluado	(Li et al., 2012)
	Eritorbato de sodio (0,1 g/kg)	43,0%		
	Polifenoles del té (0,1 g/kg)	71,2%		
	Vitamina E (0,1 g/kg)	49,6%		
	Hidroquinona de terc-butilo (0,2 g/kg)	54,1%		
Galletas	Extracto de romero acuoso liofilizado (0,1%, 0,2% y 0,5%)	9,4% , 12,2% y 18,4%	No evaluado	(Miskiewicz et al., 2018)
Galletas	Compuestos fenólicos canela (0,25 a 4 %)	12,6 a 34,0%	No evaluado	(Zhu et al., 2011)
	Compuestos fenólicos curcumina (0,25 a 4 %)	21,3 a 40,7%		
	Compuestos fenólicos eugenol (0,25 a 4 %)	17,5 a 42,3%		
Galletas crackers	Extracto de tara 2560 µg/mL de agua en masa	40%	32%	(F. Pedreschi et al., 2022)

Galletas	Tirosol	16,8%	No evaluado	(Alper Oral et al., 2013)
	Punicalagina	10,25%		
	Acido clorogénico	15,04%		
	Epicatequina	16,61%		
	Acido cafeico	18,79%		
	Oleuropeina	16,83%		
	Ácido elágico	19,16%		
	Agua residual almazara	15,96%		
	Zumo de arándano	16,85%		
Cáscara de granada	10,82%			
Galletas de mantequilla	Catequina 4%	No evaluado	29,2- 43,21%	(Hu et al., 2022)
	Curcumina 2%		HMF aumento	
Galletas	Polifenoles de residuos de té verde U-SDF 3%, F-SDF 1 % H-SDF 1%	Reducción de niveles solo a 3% de H-SDF y F-SDF	118,7%^ 38,8% 47,8%	(Ma et al., 2022)
Galletas	Atomizado de agua residual de olivo (0,05%, 0,1% y 0,2%)	47%, 55 % y NS	76%, 58% y 35%	(Troise et al., 2020)
Galletas	Aceite de olivo 3 niveles de polifenoles (Bajo, intermedio, alto)	Reducción inversamente proporcional al contenido de polifenoles	No hubo efecto	(Arribas-Lorenzo et al., 2009)
Galleta	Jengibre molido (1%, 3%, 5% y 7%)	6,2% , 15,6% , 19,1% y 23,7%	No evaluado	(H. Yang et al., 2019)
Palitos fritos de pan	Antioxidante de hojas de bambú	82,9%	No evaluado	(Zhang Bsc & Zhang, 2007)
	Extracto de té verde	72,5%		
Rosquillas fritas	Extracto acuoso de té verde (0,25; 0,5 y 1,0 g/100g)	15%, 10% y 120%^	No evaluado	(Budryn et al., 2012)
	Extracto acuoso café verde (0,5; 0,5 y g/100g)	40%^, 7% y 9%		

Pan	Extracto acuoso de romero al 1%	62%	No evaluado	(Hedegaard et al., 2007)
	Aceite de romero	67%		
	Hojas secas de romero	57%		
Pan chileno	Extracto de vaina de tara (600 a 1500 mg/kg de harina de trigo)	31,72% a 97,12%	41,24% a 38,65%	(Saavedra, 2016)
Pan pita	Extractos liofilizados (EL) de menta, hinojo y curcumina (25 g EL/100 g de harina de trigo)	No se detectó acrilamida en esos niveles de concentración	No evaluado	(Namir et al., 2018)
Pan árabe		98% , 24% y 23%		
Patonasale	Especia: tomillo, comino, anís (3 g/100 g de harina)	93%, 7% y 39%	No evaluado	(Tesby et al., 2018)
Cresina		100% , 26% y 31%		
Muffin	Extracto de vaina de tara (250-1500 mg/kg de harina)	No determinado	36,3% - 58,4%	(Marín Troncoso, 2022)

^Significa incremento

1.3. Maíz morado: fuente de compuestos bioactivos

El maíz morado (*Zea mays* L.) es un cereal oriundo del Perú y México, que florece cultivado o en estado silvestre, en diversos lugares de América (Guillen-Sánchez et al., 2014). Hoy es conocido en todo el mundo, especialmente en Asia, Estados Unidos y Europa (Cristianini & Guillén Sánchez, 2020) (Figura 3). Este cereal contiene pigmentos denominados antocianinas, que se encuentran, al igual que los demás compuestos bioactivos, en mayor cantidad en la coronta y en menor proporción en el pericarpio (cáscara) del grano, 611 mg de antocianinas/100 g y 52 mg de antocianinas/100g respectivamente. El maíz morado es insumo relevante en la dieta de los peruanos, incluido principalmente en la elaboración de bebidas como la chicha morada y postres como la mazamorra morada (Guillen-Sánchez et al., 2014).



Figura 3. Maíz morado (*Zea Mays L.*)

El color púrpura intenso se debe principalmente a su alto contenido de antocianinas, que representan los principales pigmentos hidrosolubles visibles al ojo humano (STRACK & WRAY, 1989); su color depende de varios factores intrínsecos, por ejemplo, si se aumentan los hidroxilos del anillo fenólico se intensificará el color azul, mientras que si se introducen metoxilos provocaran la formación del color rojo (Aguilera Ortiz et al., 2011).

Recientemente el maíz morado (*Zea mays L.*) ha sido considerado buena fuente de en polifenoles y antocianinas con beneficios potenciales para la salud (T. H. Lee et al., 2021), entre ellos destacan sus propiedades anticancerígenas, antioxidantes, antiinflamatorias, antimutagénicas, entre otras (Abdel-Aal et al., 2014; R. Pedreschi & Cisneros-Zevallos, 2007). Estos compuestos bioactivos tienen una influencia beneficiosa sobre la actividad celular y los mecanismos fisiológicos del ser humano (Biesalski et al., 2009). Los compuestos fenólicos que contiene el maíz morado actúan como antioxidantes, secuestrando especies reactivas de oxígeno e inhibiendo las enzimas productoras de radicales libres (Atmani et al., 2011; C. H. Lee et al., 2010).

1.3.1. Composición química del maíz morado

Los granos de maíz morado presentan un alto contenido de carbohidratos y proteínas, mientras que la coronta tiene un alto contenido de fibra. La composición de los granos y la coronta de maíz morado se reporta en la Tabla 3.

Tabla 3: Composición química del maíz morado (Collazos, 1962 y Fernández, 1995 (Citado por Guillén, 2019))

Componente	Granos (%)	Coronta (%)
Humedad	11,4	11,2
Proteína	6,7	3,74
Grasa	1,5	0,32
Fibra	1,8	24,01
Cenizas	1,7	3,29
Carbohidratos	76,9	57,44

Los compuestos bioactivos presentes en el maíz morado, como antocianinas, ácidos fenólicos y flavonoides, se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal (R. Pedreschi & Cisneros-Zevallos, 2007). Pedreschi y Cisneros, (2007) identificaron diferentes compuestos fenólicos en un extracto de coronta de maíz morado, el perfil determinado se presenta en la Tabla 4.

Tabla 4: Compuestos fenólicos identificados en el extracto de coronta de maíz morado (*Zea mays* L.) (R. Pedreschi & Cisneros-Zevallos, 2007)

Compuesto	Concentración (mg/g extracto)	Tiempo de retención (minutos)
Ácido protocatecúico	14,61	4,62
Ácido vanílico	8,46	8,87
Desconocido	6,98	14,36
Ácido p-cumárico	Trazas	14,67
Derivado de la quercetina	20,00	15,90
Derivado de la quercetina	5,36	16,40
Derivado de la quercetina	20,02	16,92
Derivado de la hesperitina	11,55	18,67
Desconocido	23,10	18,95
Derivado del ácido hidroxicinámico	3,17	21,01
Derivado del ácido hidroxicinámico	3,05	21,64

Derivado del ácido hidroxicinámico	4,88	22,44
Derivado del ácido hidroxicinámico	14,69	22,81

Mientras los estudios realizados por Pascual-Teresa et al. (2002) y Gorriti-Gutiérrez et al. (2009), describieron la presencia de glucósidos de cianidina presentes en un extracto comercial de coronta de maíz morado. Los resultados se muestran en la **Tabla 5**.

Tabla 5: Compuestos de un extracto comercial de antocianinas de corontas de maíz morado (de Pascual-Teresa et al., 2002; Gorriti Gutiérrez et al., 2009)

Compuesto	RT (min)	[M+H] ⁺	Fragmentos [M+H] ⁺	AR (%)
Dímero*	14,0	899	737, 575, 423	1,8
Cianidina-3-glucósido	28,8	449	287	54,3
Pelargonidina-3-glucósido	34,8	433	271	6,1
Peonidina-3-glucósido	37,2	463	301	14,7
Cianidina-3-(6"-malonilglucósido)	39,8	535	449; 287	11,6
Pelargonidina-3-(6"-malonilglucósido)	42,3	519	433; 271	3
Peonidina-3-(6"-malonilglucósido)	43,2	549	463; 301	5,5
Cianidina-3-(6"-etilmalonilglucósido)	47,7	563	449; 287	2,6
Pelargonidina-3-(6"-etilmalonilglucósido)	48,9	547	433; 271	0,2
Peonidina-3-(6"-etilmalonilglucósido)	49,5	577	463; 301	0,1

*: Dímero formado por la condensación directa de un flavan-3-ol y cianidina-3,5-diglucósido, AR: Abundancia relativa.

Por las propiedades físicas y características nutraceuticas expuestas, el interés de la agroindustria por el maíz morado se ha visto incrementado, por ejemplo, la incorporación de maíz morado en distintas formulaciones alimenticias como yogurt, galletas, pan y tortillas se ha extendido ya sea como harina de los granos o como extracto rico en polifenoles extraído de la coronta del maíz. Esto último representa una oportunidad económica pues la coronta de maíz morado, fuente del mayor contenido de compuestos bioactivos, es un residuo generado durante el procesamiento para la obtención de harina.

1.4. Extracción de compuestos mediante líquidos calientes presurizados

Los métodos más extendidos para la extracción de compuestos bioactivos son los convencionales como la maceración y la lixiviación, que consisten en la adición de solvente a la matriz sólida y la aplicación de calor y/o mecanismos de agitación (Azmir et al., 2013), prefiriéndose mezclas hidroalcohólicas, pues permiten obtener extractos con altos contenidos de compuestos bioactivos (Arroyo et al., 2008; Dai & Mumper, 2010; Haminiuk et al., 2012). La desventaja de estos métodos convencionales es que consumen cantidades importantes de energía y solventes, lo que se traduce en procesos más costosos, además de provocar la degradación de los compuestos de interés por el prolongado tiempo de exposición (Mustafa & Turner, 2011; Ramos et al., 2002).

En tal sentido, han surgido tecnologías de extracción alternativas, llamadas “tecnologías verdes”, que no provocan efectos sobre la calidad nutricional ni fisicoquímica de los extractos obtenidos, garantizan un máximo rendimiento de polifenoles en tiempos cortos de extracción y menor consumo de solventes (Huang et al., 2013; Panja, 2017). En esta gama de tecnologías verdes tenemos la extracción con fluidos super críticos, las extracciones asistidas por microondas y ultrasonido entre otras, además de la extracción con líquidos calientes presurizados. Estas tecnologías fueron aplicadas a matrices como cáscaras de maní, orujo de arándano, biomasa y hojas de olivo, entre otras hojas y residuos agroindustriales (Martínez-Patiño et al., 2018; Rico et al., 2017; Tamkute et al., 2020).

La extracción con líquidos calientes presurizados, HPLE por sus siglas en inglés, introducida por primera vez en 1995 por la empresa Dionex Corporation, es conocida también como extracción acelerada por solvente (ASE) se basa en mantener solventes, de bajo punto de ebullición, a altas temperaturas pero en estado líquido debido a altas presiones, aumentando la difusividad de los analitos de la matriz sólida que brinda una mayor eficiencia de extracción (Alvarez-Rivera et al., 2020; Kaufmann & Christen, 2002). HPLE es una alternativa limpia y de grado alimentario que permite reducir el tiempo de reacción y los volúmenes de solvente empleado, así como mejorar el rendimiento de polifenoles (Huamán-Castilla et al., 2019), sin embargo, a temperaturas sobre los 150 °C se pueden generar neocontaminantes. La extracción con líquidos calientes presurizados se realiza en modo estático durante uno o varios ciclos de un rango común de 5-15 minutos, una vez alcanzados los parámetros establecidos de temperatura y presión. Al finalizar

el último ciclo de extracción se purga con gas inerte para lavar la celda y se recibe el extracto en una botella colectora. La mayoría de las celdas de extracción están hechas de acero inoxidable 316L, lo que restringe la extracción a pH extremos; estas celdas contienen además de la muestra un agente dispersante usado para llenar la celda y reducir el consumo de disolvente mediante la reducción del volumen de celda. El agente dispersante comúnmente es tierra diatomea que además evita la obstrucción de los filtros de la celda, pudiéndose usar también perlas de vidrio en muestras de baja humedad (Huamán-Castilla et al., 2019; Mustafa & Turner, 2011; Vergara-Salinas et al., 2016).

Al igual que en la extracción convencional, la capacidad de extracción de polifenoles mediante ASE está influenciada por las propiedades de solvatación del solvente, la temperatura de extracción, el porcentaje de mezcla de solvente, naturaleza de la matriz y la estructura del polifenol. Por ejemplo, se utilizaron mezclas de etanol-agua a diferentes temperaturas para la obtención de extractos de orujo de uva concluyendo que a una temperatura de 150 °C y 32,5% de etanol, los extractos presentaron mayor capacidad antioxidante y el mayor contenido de polifenoles totales (Huamán-Castilla et al., 2019); Feuereisen et al. (2016), mediante la aplicación del método de superficie respuesta establecieron los parámetros óptimos de extracción ASE para pulpa y cáscaras de pimienta rosa siendo 100 °C/75 °C, 10/10 minutos, 54,5/54,2% etanol y 5/0,03% ácido acético los parámetros que garantizan los mejores rendimientos para la recuperación de antocianinas y biflavonoides. Por otro lado, Kovacevic et. al. (2018) determinaron que la temperatura fue el parámetro más importante para la extracción de compuestos bioactivos y glucósidos de esteviol de hojas de *Stevia rebaudiana*, donde las mayores recuperaciones de los compuestos bioactivos (excepto carotenoides) fueron a 160 °C. En cuanto a efecto de solventes, Tamkutè et al. (2020), determinaron que el etanol en condiciones óptimas mostro un rendimiento de 55,89%, mientras que el agua solo un 6,5% y usando etanol como solvente se recuperó la mayor parte de los polifenoles, antocianinas y procianidinas. HPLE fue comparada con la extracción asistida por ultrasonido (EAU) para la obtención de compuestos fenólicos de orujo de cal de Tahití usando mezcla etanol agua (3:1), resultando que HPLE tuvo los mayores rendimientos y capacidad antioxidante (Oliveira et al., 2022).

Además, el contenido de 5-HMF fue mínimo o no detectable en extractos de orujo de uva obtenidos por HPLE a temperaturas inferiores a 150 °C (Huamán-Castilla et al., 2019; Mariotti-Celis et al., 2018; Vergara-Salinas et al., 2015). Mientras que en un extracto de granos café se obtuvo una reducción de 5-HMF de 95% a 90 °C y 16% de etanol durante la extracción y 80% de etanol durante una posterior purificación en resinas macroporosas (Mariotti-Celis et al., 2018b).

1.5. Justificación

Los antecedentes discutidos permiten sugerir que el uso de compuestos antioxidantes como metodología de mitigación o reducción de contaminantes neoformados sigue siendo de interés para la industria alimentaria ya que los productos de panificación (galletas dulces o saladas, panes, bizcochos, etc.) son una matriz alimentaria con características fisicoquímicas distintas entre sí y de alta ingesta en Chile. Además, los resultados obtenidos entre los distintos investigadores que incorporaron compuestos antioxidantes en alimentos difieren entre ellos, si bien algunos lograron reducir el contenido de acrilamida o 5-HMF, contrariamente a los esperado, otros obtuvieron incrementos, y en algunos casos no hubo efecto. Esto constituye una oportunidad en la búsqueda de un ingrediente alimentario rico en antioxidante capaz de mitigar de manera efectiva la formación de compuestos neoformados en productos de panadería, con la finalidad de conseguir valores por debajo de los establecidos por la Comisión Europea en el reglamento mencionado (500 µg AA/kg).

Dado que los extractos polifenólicos obtenidos mediante líquidos calientes presurizados (HPLE) los que han reportado tener mayor rendimiento, contenido polifenólico, mejores propiedades antioxidantes y bajos contenidos de 5-HMF, fue esta la metodología de extracción utilizada para la obtención del extracto a partir de coronta de maíz morado (*Zea mays* L.). Este extracto fue luego incorporado en galletas saladas, ya que se encuentra en el grupo de alimentos de mayor consumo y que representan un ~70% de la exposición de NFC a los consumidores.

Adicionalmente, la obtención de un extracto de alto valor tecnológico a partir de un residuo agroindustrial (coronta de maíz morado), puede representar una oportunidad económica para las industrias dedicadas al procesamiento de maíz morado y productos de panadería.

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1. Hipótesis

La adición de un extracto obtenido mediante extracción con líquidos calientes presurizados a partir de coronta de maíz morado (*Zea mays* L.) a galletas saladas horneadas permitirá reducir su contenido de neocontaminantes.

2.2. Objetivos

2.2.1. Objetivo general:

Evaluar el efecto de la adición de un extracto obtenido mediante extracción con líquidos calientes presurizados a partir de coronta de maíz morado (*Zea mays* L.) sobre el contenido de neocontaminantes en galletas saladas horneadas.

2.2.2. Objetivos específicos:

1. Obtener un extracto de coronta de maíz morado (*Zea mays* L.) mediante la aplicación de líquidos calientes presurizados.
2. Cuantificar el contenido de antocianinas, polifenoles totales y capacidad antioxidante del extracto crudo de coronta de maíz morado (*Zea mays* L.).
3. Evaluar el efecto del extracto obtenido sobre la formación de 5-HMF en galletas saladas horneadas
4. Evaluar el efecto del extracto obtenido sobre la formación de AA en galletas saladas horneadas.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Diseño experimental y análisis estadístico

Se realizó un diseño completo al azar (DCA) para las dos etapas de estudio (i) obtención de extracto crudo de coronta de maíz morado y (ii) adición del extracto obtenido en la elaboración de galletas saladas. Para la primera etapa el factor serán las condiciones de extracción ASE (Condiciones de extracción ASE) (T1: 90 °C-0% Etanol; T2: 90 °C- 32,5% Etanol; T3: 150 °C-50% Etanol), estas condiciones fueron establecidas sobre la base de los resultados obtenidos previamente por Mariotti et al., (2018) y Huamán-Castilla et al., (2019). Además, se realizaron dos extracciones convencionales para determinar rendimiento, polifenoles y antocianinas totales y capacidad antioxidante. Para la etapa de elaboración de galletas se realizaron 4 formulaciones o niveles, en las que se varió la concentración de extracto de coronta de maíz morado incorporada (GC: 0 ppm, G1: 1000 ppm, G2: 2000 ppm, G3: 3000 ppm).

Para el estudio del efecto de los tratamientos se aplicaron análisis de varianza de una vía (ANOVA) y pruebas de Múltiples Rangos de diferencias mínimas significativas según Tukey a las variables de respuesta con un nivel de confianza de 95%.

3.2. Reactivos

Acrilamida-D3 (Sigma Aldrich), Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico; Sigma Aldrich), ácido gálico (>99%, Sigma Aldrich), AAPH (2,2'-azobis(2-metilpropionamida); Sigma Aldrich), reactivo de Folin-Ciocalteu (Merck), soluciones de Carrez I y II, carbonato de sodio anhidro p.a. (Merck), etanol absoluto (Merck), agua destilada, acetonitrilo grado HPLC (Merck), ácido acético, metanol, n-Hexano grado HPLC (Merck), fosfato dipotásico (K₂HPO₄; Merck), fosfato monopotásico (KH₂PO₄; Merck) , agua ultrapura (MiliQ; Merck), fluoresceína (Sigma Aldrich), cloruro de potasio anhidro p.a. (Merck), acetato de sodio trihidratado (Merck), ácido clorhídrico p.a. (Merck), ácido acético glacial anhidro p.a. (Merck).

3.3. Obtención del extracto de coronta de maíz morado (*Zea mays* L.)

3.3.1. Materia prima

Se utilizó coronta de maíz de morado (*Zea mays* L.) pulverizada (harina de coronta de maíz morado) de procedencia peruana de la empresa Kumara Food S.A.; con una humedad de 6,27 % y una granulometría de Mesh N° 30.

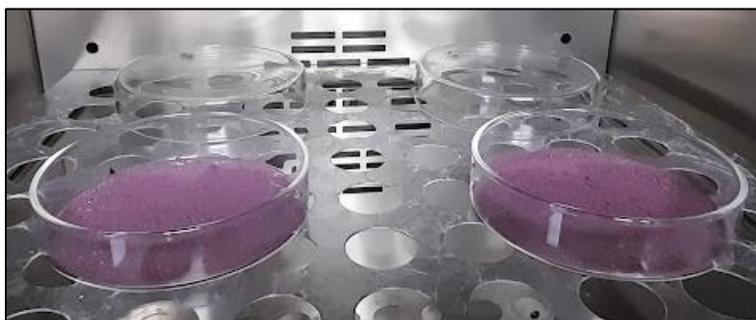


Figura 4. Coronta de maíz morado (*Zea Mays* L.) pulverizada

3.3.2. Obtención del extracto de coronta de maíz morado (*Zea mays* L.) mediante líquidos calientes presurizados

Para la extracción con líquidos calientes presurizados de la coronta de maíz morado (*Zea mays* L.) se emplearon soluciones hidroalcohólicas, con diferentes porcentajes de etanol, como solvente de extracción; según el método descrito por Huamán-Castilla et al. (2019) con algunas modificaciones:

- Temperatura: 90 °C y 150 °C
- Concentración de etanol: 0, 32,5 y 50% de etanol
- Tiempo de extracción: 5 minutos
- Muestra: 5 g
- Ratio muestra-solvente: 1:20 (g:mL)

Además, en la celda de extracción (100 mL) se agregaron 130 g de cuarzo como agente dispersante, de los cuales 70 g fueron mezclados con la muestra. Posteriormente, del extracto obtenido se apartó la cantidad necesaria para los análisis de caracterización en viales apropiados

y el restante fue rotaevaporado y congelado para finalmente ser llevado a sequedad en un liofilizador de sobremesa marca BIOBASE BK-FD10S a $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ en el compresor, 4 Pa de vacío durante 48 horas, para el almacenamiento final.



Figura 5. (a) Celda de extracción del ASE (b) Equipo ASE (c) Botella de recolección del extracto de coronta de maíz morado (*Zea Mays* L.) (d) Extracto liofilizado

Con la finalidad de comparar, se obtuvieron extractos mediante método convencional con la misma proporción muestra:solvente, con agua y solución de acetona 60%, a 30°C con agitación constante, el extracto fue filtrado, centrifugado y almacenado para su posterior caracterización.

3.3.3. Rendimiento de extracción

Para la determinación del rendimiento de extracción tomamos en cuenta el peso de la muestra y el peso final del extracto seco, empleando la ecuación (1):

$$Rendimiento = \frac{Peso\ de\ extracto\ seco\ (PMF)(g) \times 1\ ml}{Peso\ de\ muestra\ del\ extracto\ total\ (g) / Volumen\ total\ del\ extracto\ (ml)} \times 100 \quad Ec.1$$

3.4. Caracterización del extracto de coronta de maíz morado

3.4.1. Determinación del contenido de antocianinas totales

La determinación del contenido de antocianinas totales se realizó con el método del pH diferencial descrito en la (AOAC, 2006), que se basa en el cambio de color que experimentan las antocianinas con el cambio de pH, la forma coloreada existe a pH 1.0 y la forma incolora a pH 4.5.

Para el análisis, se determinó el factor de dilución adecuado diluyendo una alícuota de prueba con el tampón de pH 1.0 y leyendo a una longitud de onda de 520 nm, hasta que la absorbancia quede dentro del rango de linealidad del espectrofotómetro. Una vez determinado este factor de dilución, se prepararon dos diluciones del extracto, una con tampón pH 1.0 y otra con tampón pH 4.5. El tampón de pH 1.0 constaba de una solución de cloruro de potasio 0.025 M ajustada con HCl 0.1 M y el tampón pH 4.5 fue acetato de sodio 0.4 M ajustado con ácido acético 0.1 M. Las lecturas de absorbancia se realizaron a 520 nm y 700 nm.

Para el cálculo de la absorbancia de antocianinas totales se utilizó la ecuación 2:

$$A = (A_{520\ nm} - A_{700\ nm})_{pH\ 1.0} - (A_{520\ nm} - A_{700\ nm})_{pH\ 4.5} \quad Ec. 2$$

La concentración de antocianinas totales (AT) se determinó mediante la ecuación 3 expresada en mg de cianidina-3-O-glucósido/mL, donde se utiliza el peso molecular (PM) y el coeficiente de extinción molar del pigmento antociano presente en mayor proporción, en este caso cianidina-3-O-glucósido (PM= 449.2 g/mol y $\epsilon=26900$ mol cm).

$$AT = \frac{A \times PM \times FD}{\epsilon \times L} \quad \text{Ec. 3}$$

En la Ec.3, “A” es la absorbancia calculada con la Ec.2, “FD” el factor de dilución de la muestra analizada y “L” es la longitud de la cubeta en cm (usualmente 1 cm).

Con el contenido de volumen final del extracto y la cantidad de muestra usada se obtuvo el contenido total de antocianinas expresado en miligramos de cianidina-3-O-glucósido por gramo de coronta de maíz morado seca.

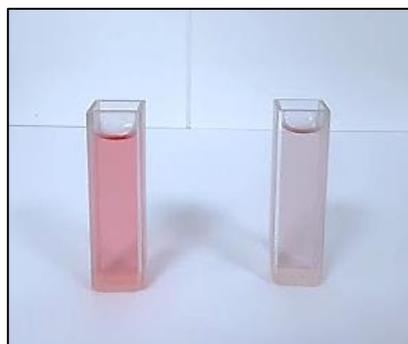


Figura 6. Cubetas de espectrofotómetro con muestra del extracto obtenido a pH 1.0 y 4.5 respectivamente

3.4.2. Medición de contenido de polifenoles totales (PFT)

Se evaluó el contenido de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu descrito por Bravo et al. (2011) con algunas modificaciones. Para este ensayo se realizaron previamente diluciones del extracto, determinando finalmente un FD=10. En un matraz aforado de 10 mL se agregaron 100 μ L del extracto diluido, 4900 μ L de agua destilada y 500 μ L del reactivo de Folin-Ciocalteu y se colocó en oscuridad durante 3 minutos.

Posteriormente, se adicionaron 1700 μ L de carbonato de sodio al 20% y se aforó con agua destilada hasta los 10 mL (2800 μ L). Luego se colocó nuevamente en oscuridad esta vez por 30 minutos, pasado el tiempo se hizo la lectura en un espectrofotómetro UV/VIS (METASH UV-5100) a 765 nm. La curva de calibración se construyó con 9 disoluciones de ácido gálico (entre 50 y 800

ppm). Los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico por g de coronta seca de maíz morado (mg de EAG/gcs).

3.4.3. Medición de la capacidad antioxidante

Para este ensayo se siguió el método descrito por Ou et al., (2001) con modificaciones; este método mide el retraso de la disminución de la fluorescencia, debido a la acción de radicales peroxilo ($ROO\bullet$), en presencia de compuestos antioxidantes (TROLOX). Se utilizó como agente oxidante el AAPH, para generar el radical peroxilo ($ROO\bullet$).

El equipo utilizado fue el lector de placas multipocillos Synergy HT (proveedor). En el pocillo de la microplaca se colocaron 25 μ L de muestra y 250 μ L de fluoresceína 55,5 mM, luego se llevó a pre-incubación a 37°C por 10 minutos. Se inyectaron 25 μ L de AAPH 153 mM, que debe estar a bajas temperaturas (baño de hielo). Luego se procedió a la lectura de los pocillos cada minuto por un tiempo de 55 minutos con un intervalo de lectura de 1 minuto. En cada ensayo se realizó un blanco (solución de fluoresceína + AAPH) usando tampón fosfato 75 mM en lugar de la muestra y siete soluciones de calibrado usando TROLOX como antioxidante (8, 16, 24, 32, 40, 70 y 100 μ M, concentración final). Los datos sin procesar expedidos por el software GEN 5 se exportaron a una hoja de Microsoft Office Excel 2010 para la realización de los cálculos. Los resultados se expresaron en mg Eq. Trolox/g de coronta de maíz morado.

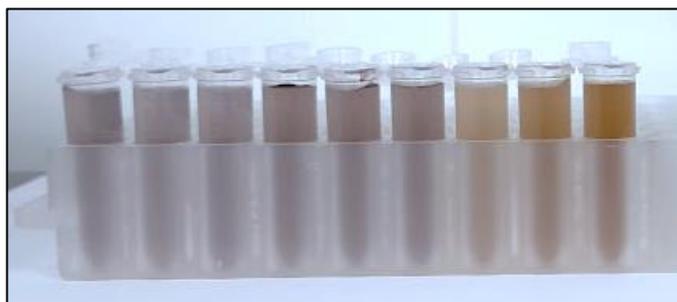


Figura 7. Viales con diluciones de extractos para ensayo de determinación capacidad antioxidante

3.4.4. Determinación del 5-HMF

Se agregaron 10 mL del extracto a analizar en un tubo de centrifuga de 50 mL, luego se adicionaron 10 mL de agua destilada, 1,5 mL de solución de Carrez I ((15g de $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$ en 100 mL de agua) y 1,5 mL de solución de Carrez II (30g de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ en 100 mL de agua), posteriormente se llevaron los tubos a la centrifuga por 15 minutos a 6000 rpm. El sobrenadante se pasó por filtros de nylon de 0,22 μm a viales de 2 mL para su posterior inyección de lectura.

Las muestras fueron inyectadas en un sistema de HPLC-DAD (Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000), equipado con una columna C18 (5 μm 120 A 4,6x 150 mm). La fase móvil utilizada fue una solución de ácido acético al 1% (Solvente A) y acetonitrilo (Solvente B), con gradiente 95:5. Se uso un caudal de 1 mL/min, presión de 1.200 psi y un volumen de inyección de 20 μL . La longitud de onda del detector DAD fue de 284 y la temperatura del horno de 30 $^{\circ}C$.

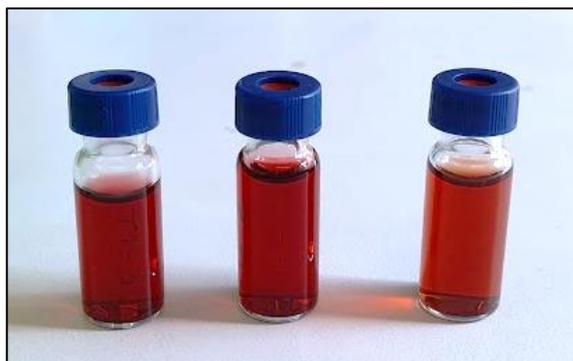


Figura 8. Viales con muestra del extracto obtenido para lectura de HMF

3.4.5. Medición de contenido de glucosa y fructosa

Este ensayo se realizó al extracto seleccionado para la formulación de las galletas saladas. Se hizo por medio de cromatografía líquida de alta resolución acoplado a un detector de índice de refracción (HPLC-IR) siguiendo la metodología descrita por Mariotti-Celis et al., (2018) con modificaciones.

Las muestras se mezclaron con agua MiliQ (3:2) y se centrifugaron a 6000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante se filtró y mezcló con acetonitrilo (3:7) para inyectarlo en un HPLC-IR (Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000) equipado con una fase normal Li ChroCART 250-4 Purospher STAR NH₂ (5 µM) a 40 °C. La separación cromatográfica se llevó a cabo en condiciones isocráticas. La fase móvil, el caudal y el volumen de inyección fueron solución de acetonitrilo (70% v/v), 1 mL/min y 20 µL, respectivamente.

Los resultados se expresaron en mg de azúcar reductor (fructosa/glucosa) por gramo de coronta de maíz morado (*Zea mays* L.) .

3.5. Elaboración de las galletas saladas con extracto de coronta de maíz morado (*Zea mays* L.) incorporado

Se realizó siguiendo la formulación propuesta por Noor Aziah y Komathi (2009) con modificaciones. En la Tabla 6, se presenta la formulación en base a la harina como ingrediente principal.

Tabla 6: Formulación de galletas saladas. Modificado de Noor Aziah y Komathi (2009).

Ingredientes	Cantidad (g)
Harina	100
Sal	1
Manteca	7
Levadura instantánea	3,5
Agua	45

Para la elaboración de las galletas saladas se realizaron lotes en base a 150 g de harina. La masa se formó mezclando inicialmente harina, sal y levadura, posteriormente se agregó el agua (30 °C) con el extracto disuelto según la concentración correspondiente. Luego en el amasado se adicionó la manteca y la masa obtenida se cubrió con un film y se dejó reposar durante 20 minutos, posteriormente se procedió a laminarla hasta un espesor de 2-3 mm y se hizo el cortado en cuadrados de 30 mm por lado aproximadamente. Las galletas fueron perforadas con ayuda

de un tenedor y llevadas al horno a 180 °C por 13 minutos. El tiempo de horneado fue establecido hasta obtener una galleta con un porcentaje de humedad constante de ~10%.

Una vez frías, las galletas fueron trituradas, dispuestas en bolsas de cierre hermético destinadas para los ensayos correspondientes y almacenadas a -18 °C hasta su análisis.

Las cantidades de extracto añadido se establecieron previamente según estudios similares en otros productos horneados (Matus, 2017; Saavedra, 2016), estas se indican en la Tabla 7.

Tabla 7: Concentración de extracto de coronta de maíz morado (*Zea mays* L.) en galletas

Formulación	Concentración (ppm)*
Control	0
G1	1000
G2	2000
G3	3000

*Concentración de extracto de coronta de maíz morado (*Zea mays* L.) ($\mu\text{g/g}$) añadida en base al contenido de agua de las galletas saladas.

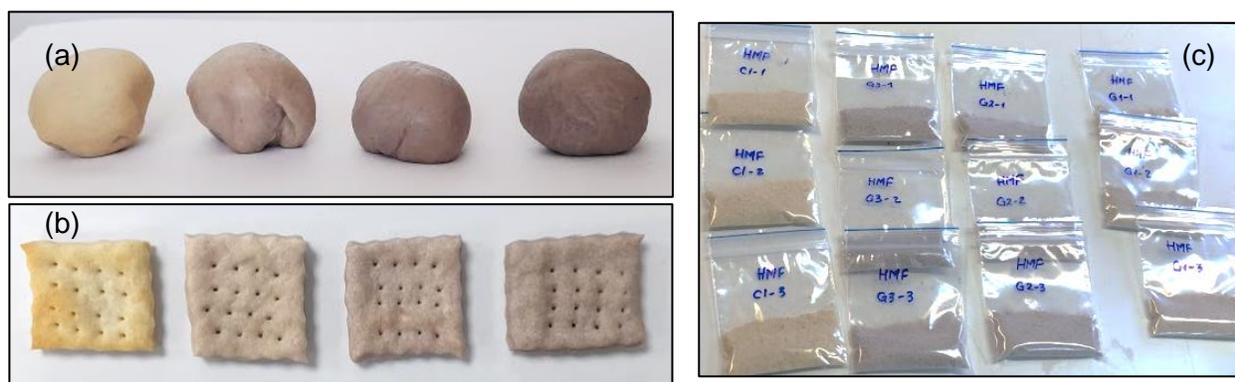


Figura 9. (a) Masas de las diferentes formulaciones (b) Galletas elaboradas correspondiente a cada formulación (c) Galletas trituradas dispuestas para los respectivos análisis.

3.6. Determinación del contenido de neocontaminantes en galletas saladas

3.6.1. 5-HMF

Para la cuantificación del contenido de 5-HMF en las galletas elaboradas, se pesó 1 g de muestra molida en un tubo de centrifuga y se adicionaron 20 mL de agua destilada. Posteriormente se siguió el método ya descrito en el apartado 4.4.4.

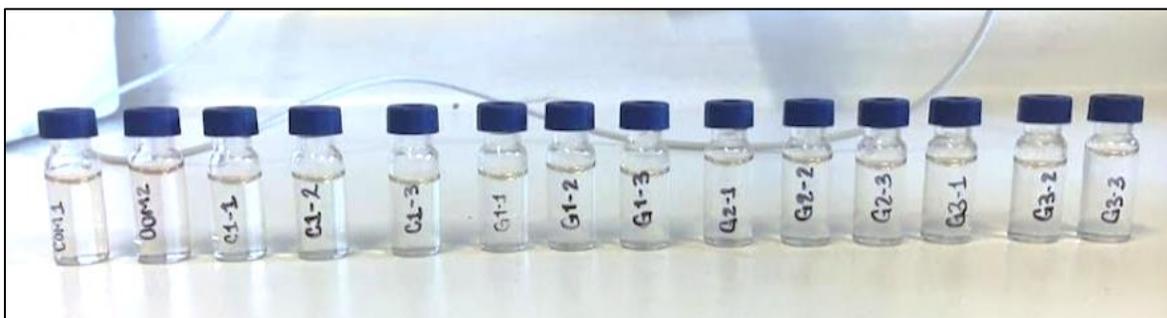


Figura 10. Viales para lectura del contenido de acrilamida mediante HPLC-DAD

3.6.2. Acrilamida

Se determinó el contenido de acrilamida en galletas mediante cromatografía de gases acoplado a un detector de masa (GC-MS), según la metodología descrita por Ciesarova et al. (2006) con algunas modificaciones. Para lo cual se pesaron 2 g de muestra en un tubo de centrifuga y se adicionaron 40 μ L de solución de trabajo SI (20 mg/L AA-D3) y 10 mL de metanol, se agitaron por 30 segundos en Vortex y se dejó en baño ultrasonido a 6 °C por 20 minutos. Posteriormente, se centrifugaron las muestras a -4°C, 6000 rpm por 10 minutos. Se tomaron 5 mL del sobrenadante y se pasaron por un cartridge de fase reversa C18 acoplado a un manifold de vacío para recuperar el extracto, seguidamente se pasan 5 mL de metanol y se mezclan con el volumen de extracto obtenido anteriormente en un tubo de centrifuga de 50 mL. Luego a esta mezcla se le adicionaron 10 mL de n-Hexano y fue sonicada por 5 minutos, centrifugada a -10 °C, 6000 rpm por 10 minutos. La parte inferior (Metanol) se lleva a un balón esmerilado de 100 mL y se evapora a 40 °C, hasta llegar a la sequedad. Para la reconstitución se agrega 1 mL de metanol y se filtra el contenido con un filtro de 0,2 μ M en un vial de 2 mL para su inyección en el GC-MS .

Los equipos utilizados son: cromatógrafo Agilent 7890A GC Sistema con detector masa Agilent 597C XL EI/CI MSD y con una columna Agilent DB-FFAP 122-3232 de 30 m x 0.25 mm ID, 25 micras. Las condiciones de inyección: volumen de inyección de 2 μ L; rampa de temperatura del

horno a 60 °C por un minuto, 10 °C/min hasta 190 °C y 50 °C/min hasta 240 °C; flujo de columna 0,8 mL/min helio a 200 °C; temperatura de la fuente (MS) 250 °C, temperatura del cuádruplo (MS) 150 °C y temperatura de interfase 250 °C.

4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. Obtención y caracterización de extracto de coronta de maíz morado (*Zea mays* L.) mediante líquidos calientes presurizados

El extracto de coronta de maíz morado (*Zea mays* L.) fue obtenido siguiendo la metodología descrita en la **sección 3.3.2** y posteriormente se determinó el rendimiento de extracción como porcentaje de sólidos totales por gramo de coronta seca, así como los contenidos de polifenoles totales, antocianinas totales y capacidad antioxidante correspondiente a cada extracto. En base a los resultados obtenidos de PFT, AT y Capacidad antioxidante, se seleccionó el mejor extracto de coronta de maíz morado (*Zea mays* L.), el cual sería incorporado en las galletas elaboradas. Las respuestas fueron analizadas de acuerdo con lo expuesto en el diseño experimental y los resultados de estos ensayos se presentan en la Tabla 8.

Tabla 8: Resultados de los cálculos de rendimiento, polifenoles totales (PFT), antocianinas totales y capacidad antioxidante

CONDICION DE EXTRACCION	Rendimiento (%)		PFT (mg EAG/gcs)		Antocianinas totales (mg Cy3G/gcs)		Capacidad Antioxidante (μ M Eq. Trolox/gcs)	
	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD	Promedio	SD
T1	18,7 ^c	\pm 0,5	37,4 ^c	\pm 4,4	7,3 ^b	\pm 0,4	855 ^b	\pm 68
T2	23,1 ^b	\pm 0,3	55,4 ^b	\pm 1,2	13,4 ^a	\pm 0,2	1120 ^a	\pm 164
T3	27,5 ^a	\pm 1,5	86,2 ^a	\pm 0,7	3,1 ^d	\pm 0,4	917 ^{ab}	\pm 98
EA	12,6 ^d	\pm 0,2	14,9 ^d	\pm 0,3	4,1 ^c	\pm 0,3	1048 ^{ab}	\pm 46
AG	10,6 ^e	\pm 0,2	12,1 ^d	\pm 0,1	2,5 ^d	\pm 0,1	918 ^{ab}	\pm 63

*La tabla muestra las medias de los resultados obtenidos para cada uno de los tratamientos (condiciones de extracción) \pm SD (desviación estándar), estos valores se emplearon para realizar las gráficas de barras.

*Las diferentes letras minúsculas en superíndice en columnas indican la diferencia significativa ($p < 0,05$) entre los niveles del tratamiento a través de comparación de rangos múltiples de Tukey..

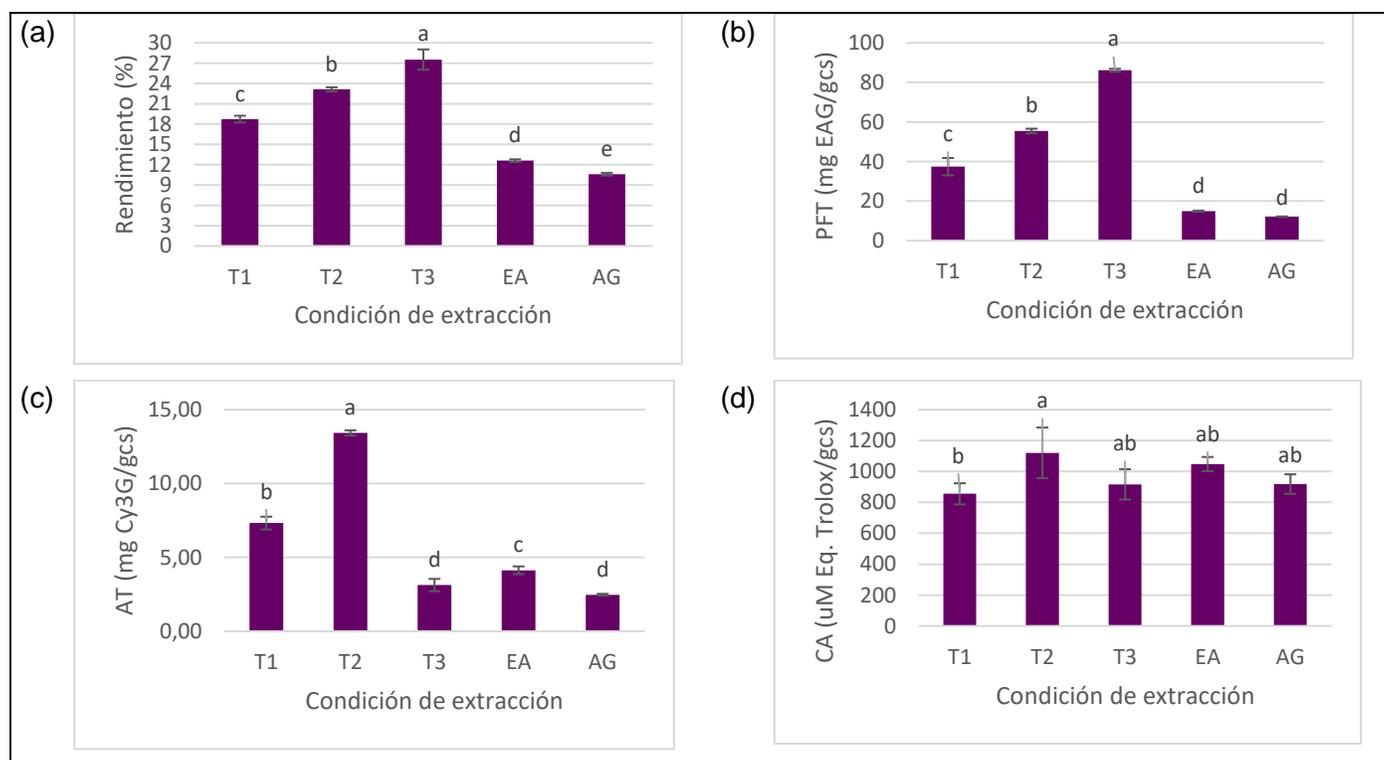
*T1: 90°C-0% Etanol ASE; T2: 90°C- 32,5% Etanol ASE; T3: 150°C-50% Etanol ASE; EA: Extracción convencional 70% acetona- 30 min y AG: Extracción convencional con agua 30 °C-30 min.

En la Tabla 8, se observa que, a las condiciones de extracción mediante ASE (HPLC) 150 °C y 50% etanol (T3) se obtuvo el mayor rendimiento (%) de extracción, seguido por T2 (90 °C y 32,5%). Al realizar el análisis estadístico se encontró diferencia significativa ($p < 0,05$) (ANEXO 3) entre las condiciones de extracción por HPLC y respecto a las condiciones de extracción convencionales. Por otro lado, observamos que mayores temperaturas y adiciones de etanol como cosolvente resultan en mayores rendimientos respecto a la extracción convencional con acetona (49%, 84% y 119% más, se obtuvo a las condiciones de T1, T2 y T3 respectivamente). Se obtuvo un 24% más de rendimiento en T2 (32,5% etanol) comparado con T1 (0% etanol), ambos obtenidos a 90 °C.

Para el contenido de polifenoles totales (PFT) se encontró diferencia significativa ($p < 0,05$) (ANEXO 4) para las condiciones de extracción en el ASE y las extracciones convencionales con acetona y agua. El mayor contenido de PFT se observó en el extracto obtenido a 150 °C con un 50% etanol como cosolvente (T3) y fue $86,2 \pm 0,7$ mg de ácido gálico/gcs. En la Tabla 8 se observa que los extractos obtenidos mediante HPLC presentaron 151%, 272% y 479% respectivamente, más contenido de polifenoles totales que el extracto obtenido por maceración en solución de acetona al 70%.

De los resultados presentados podemos calcular también que la extracción de polifenoles en T2 (32,5% etanol) es 48% mayor que en T1 (0% etanol) cuando ambos se realizan a 90 °C (Tabla 8 y Figura 11). La efectividad de las mezclas de agua y etanol se puede explicar por la alta velocidad de difusión de las moléculas del agua en la matriz sólida, liberando los polifenoles retenidos en las vacuolas celulares, mientras que las moléculas de etanol interactúan con los polifenoles mejorando su solubilidad y extractabilidad (Huamán-Castilla et al., 2019; Mustafa & Turner, 2011). Además, el contenido de polifenoles en T1 con agua a 90 °C fue 208% mayor al de la extracción convencional con agua a 30 °C. Esto confirma que, entre los diversos parámetros de extracción, la temperatura es el más crucial pues está involucrado en la eficiencia y selectividad de la extracción, pues al incrementarse, la tensión superficial, la viscosidad y la constante dieléctrica (también denominada constante de permeabilidad estática relativa) disminuyen, aumentando la difusividad (Mariotti-Celis et al., 2018; Plaza & Marina, 2019)

Los contenidos de compuestos fenólicos en los extractos obtenidos mediante HPLE (T1, T2 y T3) fueron superiores a los reportados por Muangrat et al., (2018), en extractos de corontas de maíz morado de procedencia tailandesa utilizando 50% de etanol como cosolvente, mediante extracción asistida por ultrasonido (EAU) a 65 °C durante 30 minutos y por Gullón et al. (2019), que extrajo compuestos bioactivos en medio acuoso de las corontas de maíz morado en autoclave a 120 °C, pH 4,75 durante 120 minutos. El contenido de compuestos fenólicos reportados fue de 26,571 mg EAG/g y 0,871 mg EAG/mL, respectivamente. Estos resultados nos hacen inferir que la tecnología ASE es eficiente para la extracción de compuestos polifenólicos de alto valor, pues se obtuvo hasta 479% más recuperación de PFT comparado con la extracción convencional con acetona (EA)



Barras de error correspondientes a la desviación estándar ($n=3$). Letras minúsculas distintas indican diferencia significativa ($p<0,05$) a través de comparación de rangos múltiples de Tukey.

Figura 11: (a) Rendimiento (%) de cada condición de extracción (b) Contenido de polifenoles totales (c) Contenido de antocianinas totales y (d) Capacidad antioxidante

La Tabla 8 y Figura 11 muestran el contenido de antocianinas totales (mg Cy3G/g de coronta seca) en los extractos de coronta de maíz morado procesados mediante HPLE (T1, T2 y T3) comparados con el contenido de antocianinas totales obtenido mediante tecnologías convencionales (acetona 70% y agua, por 30 minutos cada una). Se encontró diferencia significativa ($p < 0,05$) (ANEXO 5) entre todas las condiciones de HPLE, excepto entre T3 y la extracción convencional con agua. Los extractos T1 y T2 mostraron mayor contenido de antocianinas totales respecto de las dos extracciones convencionales, con 77% y 225% más que la extracción con acetona a 30 °C, y 196% y 442% más que la extracción con agua respectivamente.

En cuanto al efecto del solvente, T2 (32,5% etanol) tuvo un contenido de antocianinas 83% mayor a T1 (0% etanol). Ambos extractos fueron obtenidos con los mismos parámetros de extracción en el equipo ASE, y esta diferencia se debe a la afinidad molecular entre disolvente y soluto, que favorece la transferencia de masa. Según los resultados de Mariotti-Celis et al., (2018) la adición de pequeñas cantidades de etanol (15%) es una alternativa para reducir la temperatura del HPLE (de 130 °C a 90 °C) sin disminuir el contenido de compuestos fenólicos de los extractos. Para la extracción de antocianinas además del uso de agua como solvente, se recomienda metanol, sin embargo, este último no es un solvente recomendado cuando se quiere obtener un extracto grado alimentario (Monroy et al., 2016).

Según lo mencionado anteriormente en una extracción de compuestos de alto valor, el factor más determinante es la temperatura porque aumenta la solubilidad de las antocianinas y el coeficiente de difusión del solvente en la matriz vegetal. Por lo que en la extracción a temperatura ambiente requerimos tiempos más largos para obtener valores cercanos a los obtenidos mediante ASE. Este hecho se corrobora con los resultados de este estudio pues el extracto obtenido a 90 °C mediante ASE es 196% mayor al obtenido a 30 °C, cuando ambos son obtenidos con agua como solvente de extracción.

Sin embargo, la temperatura tiene una fuerte influencia negativa en los polifenoles, principalmente en las antocianinas, como muestran estudios previos de Vergara-Salinas et al. (2015). Estos autores reportaron que las temperaturas de la extracción con agua caliente presurizada

disminuyen el contenido de antocianinas individuales y totales en los extractos de orujo de uva. Los resultados obtenidos se encuentran en concordancia con esta premisa, T2 (90 °C) presentó un contenido de antocianinas totales 329% mayor al de T3 (150 °C). La estabilidad de las antocianinas y otros pigmentos disminuirá con el incremento de temperatura, lo cual ocurre posiblemente por la ruptura del enlace glucosídico, generando la formación de agliconas o chalconas, que durante el proceso térmico se convierte en productos marrones; y estructuras hidroxiladas de menor estabilidad que las metiladas, glicosiladas o acetiladas (Rabanal-Atalaya et al., 2021).

Los contenidos de antocianinas en los extractos T1 y T2, $4,5 \pm 0,3$ y $8,0 \pm 0,2$ mg CyC3G/gcs (aproximadamente 0,4 y 0,7 mg CyC3G/mL, respectivamente), fueron superiores a los reportados previamente. Muangrat et al., (2018) obtuvieron mediante extracción asistida por ultrasonido (EAU), extractos de corontas de maíz morado de procedencia tailandesa utilizando 50% de etanol como cosolvente, a 65 °C durante 30 minutos. Gullón et al. (2019) extrajeron compuestos bioactivos en medio acuoso de las corontas de maíz morado en autoclave a 120 °C, pH 4,75 durante 120 minutos. Yang et al. (2007) obtuvieron un extracto de 100 g de coronta de maíz morado con 400 mL de etanol, en oscuridad a 4 °C durante 24 horas. Los contenidos de antocianinas reportados en estos casos fueron de 0,238 mg CyC3G/gcs, 0,008 mg CyC3G/mL y 0,68 mg CyC3G/gcs, respectivamente.

Finalmente, la capacidad antioxidante fue reportada como $\mu\text{M Eq. Trolox/gcs}$ y los valores calculados se presentan en la Tabla 8. Al realizar el análisis estadístico se encontró que no hay diferencia significativa ($p < 0,05$) (ANEXO 6) entre todos los grupos de datos, excepto entre dos condiciones ASE, T1 (90°C-0% etanol) y T2 (90 °C-32,5% etanol) con 855 ± 69 y 1120 ± 164 $\mu\text{M Eq. Trolox/gcs}$, respectivamente. Si bien la capacidad antioxidante del extracto obtenido con agua a 90 °C en ASE (T1) es menor a la capacidad antioxidante de los extractos obtenidos convencionalmente con acetona y agua (1048 ± 46 y 917 ± 63 $\mu\text{M Eq. Trolox/gcs}$, no existe diferencias significativas entre ellos. El extracto que reportó mayor actividad antioxidante (1120 ± 160 $\mu\text{M Eq. Trolox/gcs}$) fue T2.

Los valores obtenidos (Tabla 8) son cercanos a los reportados por Guillén-Sánchez (2019) que reportó que los extractos de corontas de maíz morado procesados por 2,5 horas a 65 °C presentaron la mayor actividad antioxidante dentro del proceso por maceración estática (CE), siendo estos valores de 676,75 $\mu\text{M TE/g}$ peso seco y 682,29 $\mu\text{M TE/g}$ peso seco, según FRAP y ORAC, respectivamente. Asimismo, el extracto procesado a alta presión dinámica (DHP) a 60 MPa y 25 °C, presentó un 36% más de actividad antioxidante que el extracto procesado por maceración estática a 2,5 horas/65 °C (929,31 $\mu\text{M TE/g}$ peso seco). Por su parte Zilic et al. (2012) reportó 35,66 $\mu\text{M Trolox/gms}$ de actividad antioxidante (determinado por ABTS) en un extracto de maíz morado obtenido por maceración de una mezcla de acetona/metanol/agua (7/7/6), estos valores fueron menores a los determinados en este estudio.

De los resultados de la Tabla 8 para compuestos fenólicos y capacidad antioxidante no se evidencia que haya una relación directamente proporcional entre ellos, por lo que se determinó el coeficiente de correlación entre ellos con la finalidad de determinar el mecanismo de acción de los polifenoles sobre la actividad antioxidante. El coeficiente de correlación fue $r < 0$, lo que confirma que no hay relación entre uno y otro. Por otro lado, el coeficiente de correlación entre antocianinas totales y capacidad antioxidante fue $r < 0,59$. Estos resultados se encuentran en concordancia por lo expresado por Vergara-Salinas et al. (2015) que en la extracción HPLE la relación entre el contenido de polifenoles y la actividad antioxidante de los extractos es débil o incluso inversa. Dependiendo de los parámetros empleados durante la extracción en el ASE, es posible obtener extractos con diferente perfil fenólico y actividades antioxidantes, lo que se traduce en extractos con diferentes actividades en sistemas biológicos.

Vergara-Salinas et al. (2015) concluyeron que durante la extracción con líquidos calientes presurizados la temperatura tiene un efecto positivo en el contenido total de antioxidantes, debido posiblemente a que la degradación térmica de la pared celular facilita la liberación de los compuestos fenólicos, dando como resultado un extracto con mayor actividad antirradical. Además, se ha sugerido que durante los procesos de extracción a altas temperaturas se forman compuestos con alta capacidad antioxidante como las melanoidinas, a partir de la RM (Mustafa & Turner, 2011; Plaza & Marina, 2019) e hidroximetilfurfural (5-HMF). Las melanoidinas son estructuras complejas de polímeros marrones de un amplio rango de peso molecular, siendo las

melanoidinas de bajo peso molecular principalmente intermediarios de la RM (M. Yang et al., 2023). Rivero et al. (2005), estudiaron la correlación entre el contenido de melanoides y la actividad antioxidante en cerveza y verificaron el efecto protector de las melanoidinas a través de la inhibición del daño oxidativo del ADN in vitro. Asimismo, Jiang et al. (2019) determinaron mediante un estudio del color polimérico en batata púrpura, que el incremento del índice de color polimérico estuvo relacionado a la formación de pigmentos marrones (melanoidina) debido a la degradación de antocianinas y reacciones de condensación. Finalmente, Hossain et al. (2011) observaron en extractos ASE de romero, mejorana y orégano la formación de melanoidinas a temperaturas de 150 °C o más, siendo su contenido significativamente mayor a la de los extractos obtenidos convencionalmente; sugiriendo además que el aumento de la actividad antioxidante de los extractos obtenidos a 150 °C o más puede estar relacionado con la producción de melanoidinas.

4.2. Determinación de 5-HMF y selección del extracto de coronta de maíz morado (Zea Mays L.) obtenido mediante HPLE

La determinación del contenido de 5-HMF se realizó en los extractos obtenidos mediante HPLE, pues como es sabido se requieren altas temperaturas para su formación. En la Tabla 9 se muestran los resultados obtenidos, el contenido de 5-HMF en extracto de coronta de maíz morado están expresados en μg por gramo de coronta seca.

Tabla 9: Contenido de 5-HMF en extracto de coronta de maíz morado obtenido por HPLE

CONDICION DE EXTRACCION	5-HMF ($\mu\text{g/gcs}$)	
	Promedio	SD
T1	1,4 ^b	$\pm 0,2$
T2	1,5 ^b	$\pm 0,3$
T3	22 ^a	± 3

*La tabla muestra las medias de los resultados obtenidos para cada uno de los tratamientos (condiciones de extracción) \pm SD (desviación estándar).

*Las diferentes letras minúsculas en superíndice en columnas indican la diferencia significativa ($p < 0,05$) entre los niveles del tratamiento.

*T1: 90°C-0% Etanol ASE; T2: 90°C- 32,5% Etanol ASE; T3: 150°C-50% Etanol ASE

En la Tabla 9, se observa que hay diferencia significativa ($p < 0,05$) (ANEXO 7) entre los extractos T1 y T2 con T3. Notándose el mayor contenido de 5-HMF en el extracto obtenido mediante ASE a 150 °C ($22 \pm 3 \mu\text{g}/\text{gramos de coronta seca} = \sim 0,0219 \text{ mg}/\text{gcs}$)

Los resultados obtenidos se asemejan a los reportados por Huamán et al. (2019) que cuantificaron 11,28 mg/g orujo de uva seco en un extracto de orujo de uva obtenido por HPLE a 150 °C y 32,5% etanol como cosolvente. En este estudio los investigadores también determinan que la adición de etanol redujo la formación de 5-hidroximetilfurfural (5-HMF) durante la HPLE realizada a 150 °C (15% etanol: 23,61 mg/ g de orujo de uva seco; 32,5% etanol: 17,83 mg/ g de orujo de uva seco; 50% etanol: 11,28 mg/ g de orujo de uva seco). Además, Huamán et al. (2019) solo detectaron 5-HMF en los extractos obtenidos a 150 °C, contrario a lo determinado por Mariotti-Celis et al. (2018) en su estudio de extractos de pozos de café secos (SGC), que detectaron 5-HMF en los extractos obtenidos a 60 °C, 75 °C y 90 °C (0,12 a 0,15 mg/g de SGC seco).

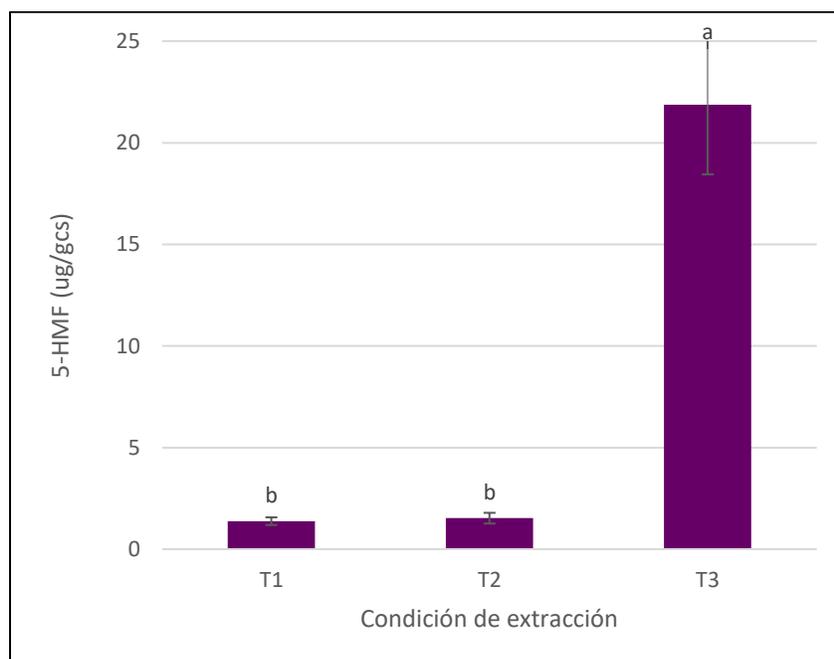


Figura 12: Incremento porcentual del contenido de 5-HMF en extractos de coronta de maíz morado

De la Tabla 9 y Figura 12, podemos calcular que el contenido de 5-HMF en T3 (150 °C - 50% etanol) es ~1330% mayor al de T2 (90 °C – 32,5% etanol). Si bien las temperaturas de extracción altas significan una mayor extracción de polifenoles totales en los extractos de coronta de maíz morado obtenidos con HPLE, las altas temperaturas aplicadas en condiciones de operación favorecerían la formación y extracción de algunos carcinógenos humanos potenciales asociados con la reacción de Maillard, como la acrilamida y el hidroximetilfurfural (HMF) (Vergara-Salinas et al., 2015). El 5-HMF se considera un buen indicador de la presencia de compuestos potencialmente tóxicos en alimentos sometidos a tratamiento térmico, no solo porque su contenido se relaciona directamente con la aparición de acrilamida y otros furanos, sino porque su determinación no es tan costosa como sus pares; y, por lo tanto, su cuantificación puede ser empleada como indicador de seguridad de proceso para optimizar los parámetros de extracción de polifenoles (Mariotti-Celis et al., 2018).

Finalmente, para elegir el extracto que se incorporaría en las galletas saladas como metodología de mitigación se consideró aquel que presentó mayores contenidos de antocianinas totales (13,4 mg Cy3G/gcs), polifenoles totales (55,4 mg EAG/gcs), capacidad antioxidante (1120 μ M Eq. Trolox/gcs) y menor contenido de 5-HMF (1,5 μ g/gcs). Este extracto fue sometido a un ensayo adicional con la finalidad de cuantificar el contenido de azúcares reductores, precursores de contaminantes neoformados, y poder establecer posteriormente correlación entre el contenido de NFC y estos azúcares en las galletas elaboradas. El contenido de fructosa fue de 729,81 \pm 0,07 μ g/gcs, mientras que el de glucosa fue de 2500 \pm 70 μ g/gcs.

4.3. Determinación de neocontaminantes en galletas saladas

4.3.1. Contenido de 5-HMF

En la Tabla 10 se muestran los resultados del contenido de 5-hidroximetilfurfural (5-HMF) presente en las galletas saladas con diferentes concentraciones de extracto de coronta de maíz morado (*Zea mays* L.)

Tabla 10: Contenido de 5-HMF en galletas saladas bajo condiciones experimentales

FORMULACION	5-HMF (mg/kg)	
	Promedio	SD
GC	22,6 ^a	±4
G1	1,8 ^b	±0,3
G2	0,6 ^b	±0,1
G3	0,1 ^b	±0,03

*La tabla muestra las medias de los resultados obtenidos para cada uno de los tratamientos (concentración de extracto incorporado en la formulación) \pm SD (desviación estándar), los valores mostrados se usaron para el cálculo del porcentaje de reducción de 5-HMF.

*Las diferentes letras minúsculas en superíndice en columnas indican la diferencia significativa ($p < 0,05$) entre los niveles del tratamiento.

*GC: Galletas sin adición de extracto de coronta de maíz morado; G1: 1000 ppm; G2: 2000 ppm; G3: 3000 ppm extracto de coronta de maíz morado.

En la Tabla 10, se observa que el contenido de 5-HMF presente en la galleta sin adición de extracto de coronta de maíz morado (GC) 22,577 \pm 3,6 mg/kg se encuentra dentro del rango estimado (0,5 a 74,5 mg/kg) obtenido durante una revisión de presencia de neocontaminantes en alimentos por Capuano y Fogliano (2011), representando nuestro resultado el 30% del contenido máximo reportado en galletas. Asimismo, al realizar el análisis estadístico se encontró que existe diferencia significativa ($p < 0,05$) (ANEXO 8) para el contenido de 5-HMF entre la galleta control y las galletas con adición de extracto de coronta de maíz morado, mientras que no existe diferencia significativa entre los tres niveles de adición de extracto en las galletas.

La adición del extracto de coronta de maíz morado en diferentes concentraciones (1000 ppm a 3000 ppm) redujo significativamente ($p < 0,05$) el contenido de 5-hidroximetilfurfural en las galletas con respecto a la galleta control (sin adición de extracto), alcanzando una reducción de hasta 99% a una adición de 3000 ppm de extracto, lo que significa un nivel alto de mitigación de 5-HMF.

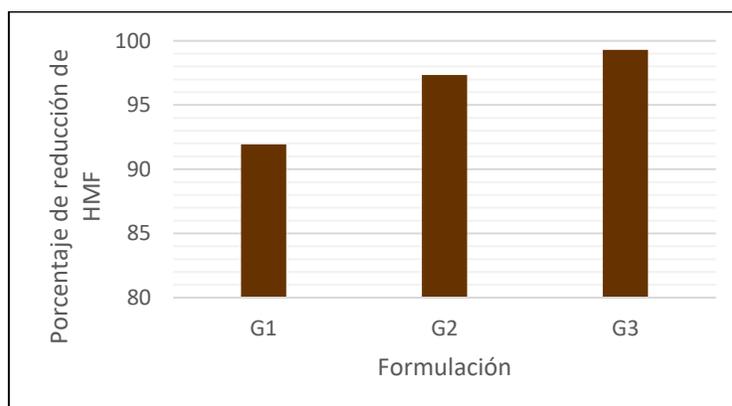


Figura 13: Reducción porcentual del contenido de 5-HMF en galletas saladas con extracto de maíz morado, respecto al control (sin extracto)

De los resultados presentados en la Tabla 10 calculamos el coeficiente de correlación entre la cantidad de extracto agregado y el contenido de 5-HMF, obteniendo un $r=-0,8$ lo que significa que el contenido de 5-HMF es inversamente proporcional a la adición de extracto de coronta de maíz morado en la galleta. Los porcentajes de reducción de 5-HMF producidos por la adición de extracto de coronta de maíz morado en las galletas se observan en la Figura 13.

El porcentaje de mitigación logrado por la adición de extracto de coronta de maíz morado en galletas (92% a 99%) fue superior a los valores reportados por Ma et al. (2022) quienes evaluaron el efecto de polifenoles de fibra dietética soluble de té (SDF), no tratada (U-SDF), fermentada (F-SDF) y sometida a alta temperatura (H-SDF) en la formación de 5-HMF. Estos autores observaron una disminución del contenido de 5-HMF en un 47,3% y 18,6% después de agregar 46000 ppm y 91000 ppm de H-SDF en galletas, 38,8% y 32,4% al agregar 46000 ppm y 136000 ppm de F-SDF, respectivamente. Contrariamente, estos investigadores obtuvieron un efecto negativo al agregar la fibra dietética soluble de té no tratada (U-SDF) con un aumento significativo de 118,7% al agregarse 136000 ppm de U-SDF.

Por su parte, Marín-Troncoso (2022) alcanzó una reducción máxima de 58,4% al adicionar 1500 ppm de extracto de vaina de tara en un producto de panadería (muffin). La reducción del contenido de 5-HMF reportada por Troise et al, (2020) al agregar 500 ppm, 1000 ppm y 2000 ppm

del atomizado de agua de olivo en galletas fue 76%, 58% y 35% en comparación con el control. Los autores encontraron una relación directamente proporcional entre la concentración de agua de olivo atomizada añadida y el contenido de 5-HMF.

Según Capuano y Fogliano (2011), las concentraciones de 5-HMF aumentan drásticamente a medida que aumentan las temperaturas de proceso, sin embargo, en condiciones de sequedad se propuso una vía alternativa a su formación a partir de fructosa y sacarosa (Gökmen & Morales, 2014). En nuestro estudio no se encontró que el contenido de fructosa y glucosa favorezcan la formación de 5-HMF pues el coeficiente de correlación fue $r = -0.81$ para ambos azúcares reductores, lo que se traduce en que el contenido de 5-HMF fue inversamente proporcional a los azúcares reductores aportados por el extracto de coronta de maíz morado.

Los resultados de Hoffman et al. (1999) demostraron la presencia de especies intermedias de radicales libres en las primeras etapas de la reacción de Maillard, como el glioxal (producido por la reacción de reductonas y aminoácidos) que se formó en abundancia como un producto temprano en la mezcla azúcar y aminoácidos antes de la formación de radicales libres. Mientras que los compuestos fenólicos pueden modificar la formación de radicales libres atrapando a sus precursores intermediarios (C. H. Lee et al., 2020). Ma et al. (2022) determinaron las tasas de inhibición en la formación de 5-HMF producidas por distintos polifenoles, identificando que el ácido protocatecuico, ácido vinílico, ácido p-cumárico y ácido caféico causan una disminución significativa de 5-HMF (51,7%; 42,6%; 39,9% y 30% respectivamente), lo que indica que tienen la mayor capacidad de eliminación de radicales libres. Por otro lado, el ácido ferúlico y el ácido gálico fueron los menos inhibidores con 7% y 9,6% respectivamente. Pedreschi y Cisneros-Zevallos (2007) identificaron ácido protocatecuico, ácido vinílico, ácido p-cumárico además de derivados de quercetina al realizar el perfil fenólico de un extracto de corontas de maíz morado, esto explica el alto efecto inhibidor en la formación de 5-HMF del extracto de coronta de maíz morado al incorporarse en la matriz galleta.

El precio por gramo de los polifenoles mencionados oscila entre 17 USD y 5120 USD, siendo el más barato el ácido gálico y el más caro el ácido protocatecuico, el ácido ferúlico tiene un valor

de 1400 USD por gramo, lo que encarecería una formulación alimenticia con adición de estos compuestos en estado puro.

A modo de comparación, se evaluó una muestra comercial de galleta elaborada en base a harina de maíz morado que es expendida en supermercados locales; cuyo contenido de 5-HMF fue de $9,17 \pm 0,01$ mg/kg, valor 400% mayor al cuantificado en la galleta con menor adición de extracto de coronta de maíz morado (1000 ppm).

Finalmente, al no haber diferencia significativa para el contenido de 5-HMF entre las tres formulaciones de galletas planteadas, se propone adicionar la menor cantidad de extracto pues esto reduciría los costos de producción en una línea de elaboración de galletas saladas, además no se afectaría la calidad sensorial (color y sabor) de las mismas.

4.3.2. Acrilamida en galletas

Tabla 11: Contenido de acrilamida en galletas saladas bajo condiciones experimentales

FORMULACION	Acrilamida ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	
	Promedio	SD
GC	172,7 ^a	± 6
G1	55,8 ^c	± 4
G2	69,2 ^b	± 7
G3	72,7 ^b	± 7

*La tabla muestra las medias de los resultados obtenidos para cada uno de los tratamientos (concentración de extracto incorporado en la formulación) \pm SD (desviación estándar), los valores mostrados se usaron para el cálculo del porcentaje de reducción de acrilamida.

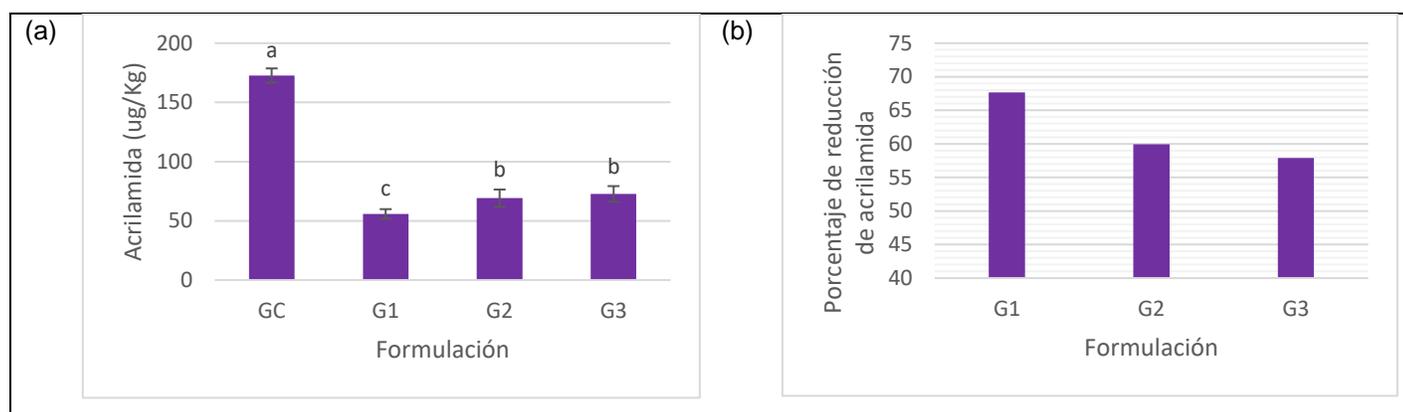
*Las diferentes letras minúsculas en superíndice en columnas indican la diferencia significativa ($p < 0,05$) entre los niveles del tratamiento.

*GC: Galletas sin adición de extracto de coronta de maíz morado; G1: 1000 ppm; G2: 2000 ppm; G3: 3000 ppm extracto de coronta

El contenido de acrilamida en las galletas saladas sin adición de extracto de coronta de maíz morado (GC) $172,7 \pm 6$ $\mu\text{g}/\text{kg}$ fue 35% menor que el valor límite establecido en la Tabla 1 por la

Comisión europea, 2011 (500 µg/kg). Al realizar el análisis estadístico de los datos presentados en la Tabla 11 se encontró que hay diferencia significativa ($p < 0,05$) (ANEXO 9) entre la galleta sin adición de extracto de coronta de maíz morado (GC-control), G1 y G2, mientras que no hay diferencia significativa entre G2 y G3.

La adición de 1000 ppm de extracto de coronta de maíz morado redujo el contenido de acrilamida en galletas saladas hasta un 68% respecto a la galleta control (sin adición de extracto), representando un alto nivel de mitigación. Sin embargo, al incrementarse la concentración de extracto de coronta de maíz morado en las galletas, se notó un incremento en el contenido de acrilamida de 24% y 30% para G2 y G3 (2000 y 3000 ppm de adición respectivamente), respecto a la galleta con menor adición de extracto (1000 ppm) (Figura 14).



Barras de error correspondientes a la desviación estándar ($n=3$). Letras minúsculas distintas indican diferencia significativa ($p < 0,05$) a través de comparación de rangos múltiples de Tukey.

Figura 13: (a) Contenido de acrilamida en diferentes formulaciones de galletas saladas con extracto de coronta de maíz morado (b) Reducción porcentual del contenido de acrilamida en galletas saladas con extracto de maíz morado, respecto al control (sin extracto)

Además, de los datos presentados en la Tabla 11 se calculó el coeficiente de correlación entre el contenido de acrilamida en las galletas y la cantidad de extracto de coronta de maíz morado agregado, obteniendo un $r = -0,69$ lo que significa que la adición del extracto tiene un efecto negativo sobre el contenido de acrilamida en las galletas saladas.

Sin embargo, el coeficiente de correlación entre la cantidad de extracto añadido y contenido de acrilamida en las galletas fue $r = 0,95$ lo que significa que el contenido de acrilamida es directamente proporcional a la adición de extracto de coronta de maíz morado en la galleta. Este r fue calculado para las concentraciones de extracto de coronta de maíz morado (1000 ppm, 2000 ppm y 3000 ppm) con la finalidad de determinar la correlación entre el contenido de acrilamida cuantificado y la dosis de extracto añadido.

La generación de contaminantes neoformados está influenciado por varios factores, entre ellos, el tipo y la concentración de azúcares y aminoácidos (Capuano & Fogliano, 2011; Halford et al., 2012). En el caso de la acrilamida, el azúcar reductor reacciona inicialmente con la asparagina formando la base de Schiff y luego se convierte en acrilamida después de la descarboxilación.

En nuestro estudio se encontró que el contenido de fructosa y glucosa aportado por el extracto de coronta de maíz morado incorporado, favorecen la formación de acrilamida, el coeficiente de correlación fue $r = 0,95$ para ambos azúcares reductores.

Nguyen et al. (2016) evaluaron el efecto del tipo de azúcar en la formación de acrilamida en galletas, preparando cuatro tipos de galletas: (1) con sacarosa, (2) con glucosa y fructosa, (3) con fructosa solamente y (4) con glucosa solamente. El modelo cinético postulado fue capaz de describir la formación de acrilamida durante la cocción de los cuatro tipos de galletas donde fructosa contribuyó significativamente a la formación de acrilamida a través de la ruta específica de aminoácidos y la glucosa podría haber contribuido a la formación de acrilamida, pero su contribución fue insignificante.

El efecto de diversos polifenoles ha sido reportado previamente en otros modelos de alimentos adicionando bajas concentraciones de estos. Por ejemplo, Troise et al. (2020) incorporaron polvo rico en polifenoles a partir del agua residual del proceso de olivo en galletas (0,05%, 0,1% y 0,2%) con la finalidad de reducir el contenido de acrilamida; resultando una reducción de 47% y 55% para los niveles más bajos de adición respectivamente. No se detectó diferencias significativas en la reducción de acrilamida con un 0,2% de adición de polvo rico en polifenoles. Por su parte, Zhang y Zhang (2008), evaluaron el efecto de dos antioxidantes naturales, provenientes de hojas

de bambú (AOB) y extracto de té verde (EGT), sobre el contenido de acrilamida en un sistema modelo de asparagina-glucosa de baja humedad logrando reducciones de hasta 74,4% y 74,3% a una concentración de 10^{-4} mg de AOB y EGT respectivamente, sin embargo, en ambos casos a concentraciones mayores a 10^{-4} mg el efecto fue contrario, pues los porcentajes de reducción del contenido de acrilamida fueron menores. Estos resultados son concordantes por los obtenidos en este estudio, pues no se encontró una correlación entre la tasa de reducción y el nivel de adición del antioxidante. Esta tendencia inversa en la reducción del contenido de acrilamida se conoce como “paradoja antioxidante”, es decir que no significa que exista una relación inevitable de incremento o reducción del contenido de acrilamida. Esto puede estar relacionado con las propiedades del antioxidante añadido y la actividad antioxidante propia de la matriz alimentaria (5-HMF, melanoidinas, entre otros) (Zhang & Zhang, 2008).

Mildner-Szkudlarz et al. (2019) evaluaron el efecto de la adición y concentración de distintos polifenoles sobre el contenido de acrilamida en pan, observando que la quercetina, la catequina y el ácido ferúlico exhibieron efectos inhibitorios a la concentración más baja (0,1%), mientras que en el nivel de adición más alto (2,0%) la capacidad de los compuestos fenólicos para reducir la formación de acrilamida disminuyó.

Jin et al. (2013) en una revisión proponen posibles reacciones en la formación de acrilamida que involucren a los antioxidantes: (1) Reacción con asparagina para formar acrilamida, (2) reacción con sacarosa desencadenando su descomposición, (3) captura de intermediarios de reacción de Maillard, (4) reacciones destructivas y protectoras con acrilamida y (5) rol de la capacidad antioxidante en la oxidación lipídica.

Además, los resultados obtenidos en esta investigación sugieren que la concentración de los polifenoles juega un rol importante, pues se obtuvieron comportamientos contrarios a los esperados entre la concentración de antioxidantes y la formación de acrilamida. En su mayoría se observaron efectos positivos en la reducción de acrilamida a concentraciones bajas de los extractos, y efectos negativos en la reducción a concentraciones altas. Por ello, el estudio de la acción de antioxidantes sobre la formación de NFC es complicado. Estos fenómenos podrían atribuirse al hecho de que algunos antioxidantes participan en múltiples reacciones debido a su

complejidad y los grupos funcionales que lo forman. Son también sensibles al calor, fácilmente oxidable, y pueden transformarse en otros compuestos que ejercen un efecto diferente en la formación de acrilamida (Zhang & Jin, 2016). Cai et al. (2014), al calentar ácido clorogénico junto con polifenol oxidasa para obtener quinona derivada del ácido clorogénico, encontraron un efecto opuesto en comparación al producido por el ácido clorogénico original.

Por lo tanto, el efecto de la adición de polifenoles sobre la formación de acrilamida está relacionado con su naturaleza, composición, concentración y actividad antioxidante, así como de las condiciones de reacción (contenido de humedad de la matriz alimentaria y parámetros del tratamiento térmico).

A modo de comparación, se evaluó una muestra comercial de galleta elaborada en base a harina de maíz morado que es expandida en supermercados locales, cuyo contenido de acrilamida fue de $487 \pm 12 \mu\text{g}/\text{kg}$, valor $\sim 700\%$ mayor al cuantificado en la galleta con menor adición de extracto de coronta de maíz morado (1000 ppm).

5. CONCLUSIONES

Se obtuvieron extractos crudos a partir de la coronta de maíz morado (*Zea mays* L.) mediante HPLE (líquidos calientes presurizados) con una razón de 1:20 (g:mL) empleando mezclas hidroalcohólicas de 0%, 32,5% y 50% etanol, a temperaturas de 90 °C, 90 °C y 150 °C, usando cuarzo como agente dispersante en la celda de extracción.

Los extractos obtenidos mediante HPLE tuvieron mejores propiedades bioactivas que los extractos obtenidos mediante extracción convencional con acetona y agua. La selección del extracto de coronta de maíz morado que fue incorporado en las galletas se basó en el contenido de polifenoles totales, antocianinas totales y capacidad antioxidante. Los mejores valores en las variables respuesta se obtuvieron en el extracto T2 (32,5% etanol y 90 °C).

Se caracterizó el extracto de coronta de maíz morado (*Zea mays* L.) seleccionado obteniendo un rendimiento de 23%, el contenido de polifenoles totales fue 55 ± 1 mg EAG/gcs, contenido de antocianinas totales de $13,4 \pm 0,2$ mg Cy3G/gcs, con una capacidad antioxidante de 1120 ± 164 μ M Eq. Trolox /gcs.

Se determinó además que el contenido de 5-HMF de los extractos está directamente relacionado con la temperatura de extracción. Los extractos T1 (90 °C), T2 (90 °C) y T3 (150 °C) obtenidos por HPLE contenían $1,4 \pm 0,2$ μ g/gcs, $1,5 \pm 0,3$ μ g/gcs y 22 ± 3 μ g/gcs de 5-HMF respectivamente; mientras que no hubo diferencia significativa para el incremento de solvente según los resultados obtenidos entre T1 y T2.

Se determinó una reducción significativa de hasta ~99% del contenido de 5-HMF en galletas saladas al adicionar 3000 ppm de extracto de coronta de maíz morado, describiéndose una tendencia inversamente proporcional entre la concentración de extracto incorporado y el contenido de 5-HMF.

Se determinó una reducción significativa de hasta ~67,66% de acrilamida en galletas saladas al adicionar 1000 ppm de extracto de coronta de maíz morado, sin embargo, se observó un efecto negativo en la reducción de acrilamida al incrementar la concentración de extracto añadido, es decir que no significa que exista una relación inevitable de incremento o reducción del contenido de acrilamida lo que es conocido como “paradoja antioxidante”.

El extracto obtenido fue ~60% más efectivo en la reducción del contenido de 5-HMF y ~24% más efectivo en la reducción del contenido de acrilamida que el atomizado de agua residual de olivo aplicado a 1000 ppm, en galletas por Troise et al. (2020) en galletas. Además, a 3000 ppm fue ~120% más efectivo en la reducción de 5-HMF e igualmente efectivo(~67%) a 1000 ppm, en la reducción del contenido de acrilamida que un extracto de vaina de tara añadido a pan tipo hallulla por Saavedra en 2016.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Abdel-Aal, E. S. M., Akhtar, H., Rabalski, I., & Bryan, M. (2014). Accelerated, Microwave-Assisted, and Conventional Solvent Extraction Methods Affect Anthocyanin Composition from Colored Grains. *Journal of Food Science*, 79(2), C138–C146. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12346>

Abraham, K., Gürtler, R., Berg, K., Heinemeyer, G., Lampen, A., & Appel, K. E. (2011). Toxicology and risk assessment of 5-Hydroxymethylfurfural in food. *Molecular Nutrition & Food Research*, 55(5), 667–678. <https://doi.org/10.1002/MNFR.201000564>

Aguilera Ortíz, M., del Carmen, M., Vargas, R., Chew Madinaveitia, R. G., & Meza Velázquez, J. A. (2011). PROPIEDADES FUNCIONALES DE LAS ANTOCIANINAS. *Biotecnia*, 13(2), 16–22. <https://doi.org/10.18633/BT.V13I2.81>

Ahrné, L., Andersson, C. G., Floberg, P., Rosén, J., & Lingnert, H. (2007). Effect of crust temperature and water content on acrylamide formation during baking of white bread: Steam and falling temperature baking. *LWT - Food Science and Technology*, 40(10), 1708–1715. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2007.01.010>

Alper Oral, R., Dogan, M., & Sarioglu, K. (2013). *Effects of certain polyphenols and extracts on furans and acrylamide formation in model system, and total furans during storage*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.077>

Alvarez-Rivera, G., Bueno, M., Ballesteros-Vivas, D., Mendiola, J. A., & Ibañ Ez, E. (2020). *Pressurized Liquid Extraction*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816911-7.00013-X>

Ames, J. M. (1992). The Maillard Reaction. *Biochemistry of Food Proteins*, 99–153. https://doi.org/10.1007/978-1-4684-9895-0_4

Amrein, T. M., Schönbacher, B., Escher, F., & Amadò, R. (2004). Acrylamide in Gingerbread: Critical Factors for Formation and Possible Ways for Reduction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(13), 4282–4288. <https://doi.org/10.1021/JF049648B>

AOAC. (2006). *AOAC Official Method 2005.02 Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines pH Differential Method First Action 2005*.

Arribas-Lorenzo, G., Fogliano, V., & Morales, F. J. (2009). Acrylamide formation in a cookie system as influenced by the oil phenol profile and degree of oxidation. *European Food*

Research and Technology 2009 229:1, 229(1), 63–72. <https://doi.org/10.1007/S00217-009-1026-Z>

Arroyo, J., Raez, E., Rodríguez, M., Chumpitaz, V., Burga, J., de la Cruz, W., & Valencia, J. (2008). Actividad antihipertensiva y antioxidante del extracto hidroalcohólico atomizado de maíz morado (*Zea mays* L.) en ratas. In *Rev Peru Med Exp Salud Publica* (Vol. 25, Issue 2).

Atmani, D., Begoña Ruiz-Larrea, M., Ruiz-Sanz, I., Lizcano, L. J., Bakkali, F., & Atmani, D. (2011). Antioxidant potential, cytotoxic activity and phenolic content of *Clematis flammula* leaf extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(4), 589–598. <http://www.academicjournals.org/JMPR>

Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M. H. A., Ghafoor, K., Norulaini, N. A. N., & Omar, A. K. M. (2013). *Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review*. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>

Barrios Rodriguez, Y. F. (2021). *Diseño integrado de tecnologías para la mitigación de compuestos neoformados en el procesamiento de café*. <https://repositorio.uc.cl/handle/11534/62791>

Becalski, A., Lau, B. P. Y., Lewis, D., & Seaman, S. W. (2002). Acrylamide in Foods: Occurrence, Sources, and Modeling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(3), 802–808. <https://doi.org/10.1021/JF020889Y>

Biesalski, H.-K., Dragsted, L. O., Elmadfa, I., Grossklaus, R., Müller, M. E., Schrenk, D., Walter, P., & Weber, P. (2009). *Bioactive compounds: Definition and assessment of activity*. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2009.04.023>

Bravo, J., Monente, C., Juárez, I., de Peña, M. P., & Cid, C. (2011). *Influence of extraction process on antioxidant capacity of spent coffee*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.026>

Budryn, G., Żyżelewicz, D., Nebesny, E., Oracz, J., & Krysiak, W. (2012). *Influence of addition of green tea and green coffee extracts on the properties of fine yeast pastry fried products*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.10.006>

Cai, Y., Zhang, Z., Jiang, S., Yu, M., Huang, C., Qiu, R., Zou, Y., Zhang, Q., Ou, S., Zhou, H., Wang, Y., Bai, W., & Li, Y. (2014). Chlorogenic acid increased acrylamide formation

through promotion of HMF formation and 3-aminopropionamide deamination. *Journal of Hazardous Materials*, 268, 1–5. <https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2013.12.067>

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

Ciesarová, Z., Kiss, E., & Boegl, P. (2006). Impact of L-asparaginase on acrylamide content in potato products. *Journal of Food and Nutrition Research*, 45(4), 141–146.

Ciesarova, Z., Kukurová, K., Baxa, S., CieSaroVá, Z., KuKuroVá, K., MarKoVá, L., & Baxa, S. (2009). Improvement of cereal product safety by enzymatic way of acrylamide mitigation. *Special Issue Czech J. Food Sci*, 27. <https://doi.org/10.17221/1061-CJFS>

Comision Europea. (2017). *Reglamento (UE) 2017/2158 de la Comisión de 20 de noviembre de 2017. Referencia para reducir la presencia de acrilamida en los alimentos*. <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2017/2158/oj?locale=es>

Cristianini, M., & Guillén Sánchez, J. S. (2020). Extraction of bioactive compounds from purple corn using emerging technologies: A review. In *Journal of Food Science* (Vol. 85, Issue 4, pp. 862–869). Blackwell Publishing Inc. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15074>

Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules* 2010, Vol. 15, Pages 7313-7352, 15(10), 7313–7352. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES15107313>

de Vleeschouwer, K., van der Plancken, I., Loey, A. van, & Hendrickx, M. E. (2009). Role of precursors on the kinetics of acrylamide formation and elimination under low moisture conditions using a multiresponse approach – Part II: Competitive reactions. *Food Chemistry*, 114, 535–546. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.084>

EFSA (European Food Safety Authority). (2012). Update on acrylamide levels in food from monitoring years 2007 to 2010. *EFSA Journal*, 10(10). <https://doi.org/10.2903/J.EFSA.2012.2938>

Fan, W., Verrier, C., Queneau, Y., & Popowycz, F. (2019). 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) in Organic Synthesis: A Review of its Recent Applications Towards Fine Chemicals. *Current Organic Synthesis*, 16(4), 583–614. <https://doi.org/10.2174/1570179416666190412164738>

Feuereisen, M. M., Gamero Barraza, M., Zimmermann, B. F., Schieber, A., & Schulze-Kaysers, N. (2016). *Pressurized liquid extraction of anthocyanins and biflavonoids from Schinus terebinthifolius Raddi: A multivariate optimization*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.002>

Fogliano, V. (2014). *MAILLARD REACTION PRODUCTS: OCCURRENCE, MITIGATION STRATEGIES AND THEIR PHYSIOLOGICAL RELEVANCE*. *Tesis Doctoral*. <https://doi.org/10.14267/phd.2015001>

FORBES CHILE. (2022). *Chile es el país de mayor crecimiento en ecommerce para el conglomerado de snacks, Mondelēz Internacional*. <https://forbes.cl/negocios/2022-03-21/chile-es-el-pais-de-mayor-crecimiento-en-ecommerce-para-el-conglomerado-de-snacks-mondelez-internacional/>

Glatt, H., & Sommer, Y. (2007). Health risks of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) and related compounds. *Acrylamide and Other Hazardous Compounds in Heat-Treated Foods*, 328–357.

Gökmen, V., & Morales, F. (2014). Processing Contaminants: Hydroxymethylfurfural. . In *Encyclopedia of Food Safety*, 404–408. 10.1016/B978-0-12-378612-8.00209-2

Gorriti Gutierrez, A., Arroyo Acevedo, J., Negron Ballarte, L., Jurado Teixeira, B., Purizaca Llajaruna, H., Santiago Aquise, I., Taype Espinoza, E., & Quispe Jacobo, F. (2009). Antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante de las corontas del maiz morado (*Zea Mays L.*). Método de extracción. *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 8, 509–518. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85617461006>

Guillen-Sánchez, J. (2019). *EXTRACTION OF BIOACTIVE COMPOUNDS FROM PURPLE CORN BY HIGH PRESSURE TECHNOLOGIES EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DO MILHO ROXO POR TECNOLOGIAS DE ALTA PRESSÃO*. <http://lattes.cnpq.br/0275656445845373>

Guillen-Sánchez, J., Mori-Arismendi, S., & Paucar-Menacho, L. M. (2014). Características y propiedades funcionales del maíz morado (*Zea mays L.*) var. subnigroviolaceo. *Scientia Agropecuaria*, 211–217. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2014.04.05>

Gullón, P., Eibes, G., Lorenzo, J. M., Pérez-Rodríguez, N., Lú-Chau, T. A., & Gullón, B. (2019). *Green sustainable process to revalorize purple corn cobs within a biorefinery frame: Co-production of bioactive extracts*. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136236>

Halford, N. G., Curtis, T. Y., Muttucumaru, N., Postles, J., Elmore, J. S., & Mottram, D. S. (2012). The acrylamide problem: a plant and agronomic science issue. *Journal of Experimental Botany*, 63(8), 2841–2851. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers011>

Haminiuk, C. W. I., Maciel, G. M., Plata-Oviedo, M. S. V., & Peralta, R. M. (2012). Phenolic compounds in fruits – an overview. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(10), 2023–2044. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2621.2012.03067.X>

Hedegaard, R. V., Granby, K., Frandsen, H., Thygesen, J., & Skibsted, L. H. (2007). Acrylamide in bread. Effect of prooxidants and antioxidants. *European Food Research and Technology* 2007 227:2, 227(2), 519–525. <https://doi.org/10.1007/S00217-007-0750-5>

Hofmann, T., Bors, W., & Stettmaier, K. (1999). Studies on Radical Intermediates in the Early Stage of the Nonenzymatic Browning Reaction of Carbohydrates and Amino Acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(2), 379–390. <https://doi.org/10.1021/JF980626X>

Hossain, M. B., Barry-Ryan, C., Martin-Diana, A. B., & Brunton, N. P. (2011). Optimisation of accelerated solvent extraction of antioxidant compounds from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), marjoram (*Origanum majorana* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) using response surface methodology. *Food Chemistry*, 126(1), 339–346. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2010.10.076>

Hu, H., Wang, Y., Huang, Y., Yu, Y., Shen, M., Li, C., Nie, S., & Xie, M. (2022). Natural Antioxidants and Hydrocolloids as a Mitigation Strategy to Inhibit Advanced Glycation End Products (AGEs) and 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) in Butter Cookies. *Foods*, 11(5). <https://doi.org/10.3390/foods11050657>

Huamán Castilla, N., Allcca, E., León, N., & Yupanqui RESUMEN, G. (2017). USO DE EDULCORANTES COMERCIALES COMO UNA ALTERNATIVA A LA REDUCCIÓN DE 5-HIDROXIMETIL-2-FURFURAL (HMF) EN GALLETAS MODELO USE OF COMMERCIAL SWEETENERS AS AN ALTERNATIVE TO THE REDUCTION OF 5-HYDROXYMETHYL-2-FURFURAL (HMF) IN MODEL COOKIES. *Rev Soc Quím Perú*, 83(2).

Huaman-Castilla, N. L., Martínez-Cifuentes, M., Camilo, C., Pedreschi, F., Mariotti-Celis, M., & Pérez-Correa, J. R. (2019). The impact of temperature and ethanol concentration on the global recovery of specific polyphenols in an integrated HPLC/RP process on Carménère pomace extracts. *Molecules*, 24(17). <https://doi.org/10.3390/molecules24173145>

Huang, H.-W., Hsu, C.-P., Yang, B. B., & Wang, C.-Y. (2013). *Advances in the extraction of natural ingredients by high pressure extraction technology*. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.07.001>

Jiang, T., Mao, Y., Sui, L., Yang, N., Li, S., Zhu, Z., Wang, C., Yin, S., He, J., & He, Y. (2019). Degradation of anthocyanins and polymeric color formation during heat treatment of purple sweet potato extract at different pH. *Food Chemistry*, 274, 460–470. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2018.07.141>

Jin, C., Wu, X., & Zhang, Y. (2013). *Relationship between antioxidants and acrylamide formation: A review*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.12.047>

Jousse, F., Jongen, T., Agterof, W., Russell, S., & Braat, P. (2002). Simplified Kinetic Scheme of Flavor Formation by the Maillard Reaction. *Journal of Food Science*, 67(7), 2534–2542. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2621.2002.TB08772.X>

Kaufmann, B., & Christen, P. (2002). Recent extraction techniques for natural products: microwave-assisted extraction and pressurised solvent extraction. *Phytochemical Analysis*, 13(2), 105–113. <https://doi.org/10.1002/PCA.631>

Kocadagli, T., & Gökmen, V. (2016). *Multiresponse kinetic modelling of Maillard reaction and caramelisation in a heated glucose/wheat flour system*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.150>

Kolek, E., Šimko, P., & Simon, P. (2006). Inhibition of acrylamide formation in asparagine/d-glucose model system by NaCl addition. *European Food Research and Technology* 2006 224:2, 224(2), 283–284. <https://doi.org/10.1007/S00217-006-0319-8>

Kovačević, D. B., Barba, F. J., Granato, D., Galanakis, C. M., Herceg, Z., Dragović-Uzelac, V., & Putnik, P. (2018). *Pressurized hot water extraction (PHWE) for the green recovery of bioactive compounds and steviol glycosides from Stevia rebaudiana Bertoni leaves*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.192>

Kroh, L. W. (1994). Caramelisation in food and beverages. *Food Chemistry*, 51, 373–379.

Lee, C. H., Chen, Y. T., Hsieh, H. J., Chen, K. T., Chen, Y. A., Wu, J. T., Tsai, M. S., Lin, J. A., & Hsieh, C. W. (2020). Exploring epigallocatechin gallate impregnation to inhibit 5-hydroxymethylfurfural formation and the effect on antioxidant ability of black garlic. *LWT*, 117, 108628. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2019.108628>

Lee, C. H., Garcia, H. S., & Parkin, K. L. (2010). Bioactivities of Kernel Extracts of 18 Strains of Maize (*Zea mays*). *Journal of Food Science*, 75(8), C667–C672. <https://doi.org/10.1111/J.1750-3841.2010.01784.X>

Lee, T. H., Lee, C. H., Wong, S., Ong, P. Y., Hamdan, N., & Azmi, N. A. (2021). UPLC-orbitrap-MS/MS based characterization of phytochemical compounds from Malaysia purple corn (*Zea mays*). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 32, 101922. <https://doi.org/10.1016/J.BCAB.2021.101922>

Li, D., Chen, Y., Zhang, Y., Lu, B., Jin, C., Wu, X., & Zhang, Y. (2012). Study on Mitigation of Acrylamide Formation in Cookies by 5 Antioxidants. *Journal of Food Science*, 77(11), C1144–C1149. <https://doi.org/10.1111/J.1750-3841.2012.02949.X>

Lineback, D. R., Coughlin, J. R., & Stadler, R. H. (2011). *Acrylamide in Foods: A Review of the Science and Future Considerations*. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-022811-101114>

Liu, R., Zha, L., Sobue, T., Kitamura, T., Ishihara, J., Kotemori, A., Ikeda, S., Sawada, N., Iwasaki, M., & Tsugane, S. (2020). Dietary Acrylamide Intake and Risk of Lung Cancer: The Japan Public Health Center Based Prospective Study. *Nutrients* 2020, Vol. 12, Page 2417, 12(8), 2417. <https://doi.org/10.3390/NU12082417>

Liu, Y., Wang, P., Chen, F., Yuan, Y., Zhu, Y., Yan, H., & Hu, X. (2015). Role of plant polyphenols in acrylamide formation and elimination. *Food Chemistry*, 186, 46–53. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2015.03.122>

Locas, C. P., & Yaylayan, V. A. (2008). Isotope Labeling Studies on the Formation of 5-(Hydroxymethyl)-2-furaldehyde (HMF) from Sucrose by Pyrolysis-GC/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(15), 6717–6723. <https://doi.org/10.1021/JF8010245>

Ma, Y., Huang, H., Zhang, Y., Li, F., Gan, B., Yu, Q., Xie, J., & Chen, Y. (2022). Soluble dietary fiber from tea residues with inhibitory effects against acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural formation in biscuits: The role of bound polyphenols. *Food Research International*, 159. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2022.111595>

Marin Troncoso, J. (2022). *Obtención de un extracto optimizado de polifenoles de Vainas de Tara (Caesalpinia spinosa) por altas presiones hidrostáticas y su aplicación en un producto horneado con el fin de mitigar el contenido de neo-contaminantes*. <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/185540>

Mariotti, M., Cortés, P., Fromberg, A., Bysted, A., Pedreschi, F., & Granby, K. (2015). Heat toxicant contaminant mitigation in potato chips. *LWT*, *60*(2), 860–866. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.09.023>

Mariotti-Celis, M. S., Martínez-Cifuentes, M., Huamán-Castilla, N., Pedreschi, F., Iglesias-Rebolledo, N., & Pérez-Correa, J. R. (2018). Impact of an integrated process of hot pressurised liquid extraction–macroporous resin purification over the polyphenols, hydroxymethylfurfural and reducing sugars content of *Vitis vinifera* ‘Carménère’ pomace extracts. *International Journal of Food Science and Technology*, *53*(4), 1072–1078. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13684>

Mariotti-Celis, M. S., Martínez-Cifuentes, M., Huamán-Castilla, N., Vargas-González, M., Pedreschi, F., & Ricardo Pérez-Correa, J. (2018). *The Antioxidant and Safety Properties of Spent Coffee Ground Extracts Impacted by the Combined Hot Pressurized Liquid Extraction-Resin Purification Process*. <https://doi.org/10.3390/molecules23010021>

Martínez-Patiño, J. C., Gullón, B., Romero, I., Ruiz, E., Brnčić, M., Šic Žlabur, J., & Castro, E. (2018). *Optimization of ultrasound-assisted extraction of biomass from olive trees using response surface methodology*. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.05.031>

Matus, J. (2017). *OPTIMIZACION Y ESTUDIO DEL EFECTO DE POLIFENOLES EXTRAIDOS DE VAINAS ROJAS DE TARA (Caesalpinia spinosa) Y CONCENTRACION DE SAL EN EL CONTENIDO DE NEO-CONTAMINANTES, CALIDAD Y PERFIL SENSORIAL EN GALLETAS SALADAS*.

Michael Murkovic, Franco Pedreschi, & Zuzana Ciesarova. (2018). Process contaminants: A review. *Uniwersytet Śląski*, *7*(1), 1–6. <https://doi.org/10.2/JQUERY.MIN.JS>

Mildner-Szkudlarz, S., Róžańska, M., Piechowska, P., Waśkiewicz, A., & Zawirska-Wojtasiak, R. (2019). Effects of polyphenols on volatile profile and acrylamide formation in a model wheat bread system. *Food Chemistry*, *297*, 125008. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2019.125008>

Ministerio de Salud. (2018). *REGLAMENTO SANITARIO DE LOS ALIMENTOS (Actualizado a Julio 2018)*.

Miskiewicz, K., Nebesny, E., Rosicka-Kaczmarek, J., Dorota, Z., & Budryn, G. (2018). The effects of baking conditions on acrylamide content in shortcrust cookies with added freeze-dried aqueous rosemary extract. *Journal of Food Science and Technology*, *55*. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3349-x>

Mogol, B. A., & Gökmen, V. (2014). *Mitigation of acrylamide and hydroxymethylfurfural in biscuits using a combined partial conventional baking and vacuum post-baking process: Preliminary study at the lab scale.* <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2014.05.002>

Monroy, Y. M., Rodrigues, R. A. F., Sartoratto, A., & Cabral, F. A. (2016). Optimization of the extraction of phenolic compounds from purple corn cob (*Zea mays* L.) by sequential extraction using supercritical carbon dioxide, ethanol and water as solvents. *The Journal of Supercritical Fluids*, 116, 10–19. <https://doi.org/10.1016/J.SUPFLU.2016.04.011>

Morales, F. J. (2008). Thermal Treatment: Hydroxymethylfurfural (HMF) and Related Compounds. *Process-Induced Food Toxicants: Occurrence, Formation, Mitigation, and Health Risks*, 135–174. <https://doi.org/10.1002/9780470430101.CH2E/SUMMARY>

Morales, G., Jimenez, M., Garcia, O., Mendoza, R., & Beristain, C. I. (2014). *Effect of natural extracts on the formation of acrylamide in fried potatoes.* <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.03.034>

Muangrat, R., Pongsirikul, I., & Blanco, P. H. (2018). Ultrasound assisted extraction of anthocyanins and total phenolic compounds from dried cob of purple waxy corn using response surface methodology. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(2), e13447. <https://doi.org/10.1111/JFPP.13447>

Mustafa, A., Kamal-Eldin, A., Petersson, E. v., Andersson, R., & Åman, P. (2008). Effect of extraction pH on acrylamide content in fresh and stored rye crisp bread. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(4), 351–355. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2008.01.003>

Mustafa, A., & Turner, C. (2011). Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review. *Analytica Chimica Acta*, 703, 8–18. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.07.018>

Namir, M., Rabie, M. A., Rabie, N. A., & Ramadan, M. F. (2018). Optimizing the Addition of Functional Plant Extracts and Baking Conditions To Develop Acrylamide-Free Pita Bread. *Journal of Food Protection*, 81(10), 1696–1706. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-18-150>

Nguyen, H. T., van der Fels-Klerx, H. J., Peters, R. J. B., & van Boekel, M. A. J. S. (2016). Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural formation during baking of biscuits: Part I: Effects of sugar type. *Food Chemistry*, 192, 575–585. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2015.07.016>

Noor Aziah, A. A., & Komathi, C. A. (2009). Physicochemical and Functional Properties of Peeled and Unpeeled Pumpkin Flour. *Journal of Food Science*, 74(7), S328–S333. <https://doi.org/10.1111/J.1750-3841.2009.01298.X>

Oliveira, A. M. B., Viganó, J., Sanches, V. L., Rostagno, M. A., & Martínez, J. (2022). Extraction of potential bioactive compounds from industrial Tahiti lime (*Citrus latifolia* Tan.) by-product using pressurized liquids and ultrasound-assisted extraction. *Food Research International*, 157, 111381. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2022.111381>

Onacik-Gür, S., Szafrńska, A., Roszko, M., & Stępniewska, S. (2022). Interaction of dough preparation method, green tea extract and baking temperature on the quality of rye bread and acrylamide content. *LWT*, 154, 112759. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2021.112759>

Ou, B., Hampsch-Woodill, M., & Prior, R. L. (2001). Development and Validation of an Improved Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay Using Fluorescein as the Fluorescent Probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), 4619–4626. <https://doi.org/10.1021/JF010586O>

Palermo, M., Fiore, A., & Fogliano, V. (2012). Okara promoted acrylamide and carboxymethyl-lysine formation in bakery products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(40), 10141–10146. https://doi.org/10.1021/JF302750Q/ASSET/IMAGES/MEDIUM/JF-2012-02750Q_0002.GIF

Panja, P. (2017). *Current Opinion in Food Science*. 17, 173–182. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.11.012>

Pascual-Teresa, S., Santos-Buelga, C., & Rivas-Gonzalo, J. C. (2002). LC-MS analysis of anthocyanins from purple corn cob. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(9), 1003–1006. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1143>

Patrignani, M., Rinaldi, G. J., & Lupano, C. E. (2015). *In vivo effects of Maillard reaction products derived from biscuits*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.038>

Pedreschi, F., & Mariotti, M. S. (2023). *Production of contaminants during thermal processing in both industrial and home preparation of foods*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819470-6.00036-6>

Pedreschi, F., Matus, J., Bungler, A., Pedreschi, R., Huamán-Castilla, N. L., & Mariotti-Celis, M. S. (2022). Effect of the Integrated Addition of a Red Tara Pods (*Caesalpinia spinosa*)

Extract and NaCl over the Neo-Formed Contaminants Content and Sensory Properties of Crackers. *Molecules* 2022, Vol. 27, Page 1020, 27(3), 1020. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES27031020>

Pedreschi, F., Saavedra, I., Bungler, A., Zuñiga, R. N., Pedreschi, R., Chirinos, R., Campos, D., & Mariotti-Celis, S. (2018). *Tara pod (Caesalpinia spinosa) extract mitigates neo-contaminant formation in Chilean bread preserving their sensory attributes*. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.04.086>

Pedreschi, R., & Cisneros-Zevallos, L. (2007). Phenolic profiles of Andean purple corn (*Zea mays* L.). *Food Chemistry*, 100(3), 956–963. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.004>

Plaza, M., & Marina, M. L. (2019). *Pressurized hot water extraction of bioactives*. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.03.024>

PROMPERU. (2020). Galletas y bocadillos dulces en Chile. *PERFIL PRODUCTO MERCADO*. <https://bit.ly/3jK6O2C>

Rabanal-Atalaya, M., Medina-Hoyos, A., Rabanal-Atalaya, M., & Medina-Hoyos, A. (2021). Análisis de antocianinas en el maíz morado (*Zea mays* L.) del Perú y sus propiedades antioxidantes. *Terra Latinoamericana*, 39. <https://doi.org/10.28940/TERRA.V39I0.808>

Ramirez-Jimenez, A., García-Villanova, B., & Guerra-Hernández, E. (2000). Hydroxymethylfurfural and methylfurfural content of selected bakery products. *Food Research International*, 33, 833–838. www.elsevier.com/locate/foodres

Ramos, L., Kristenson, E. M., & Brinkman, U. A. T. (2002). Current use of pressurised liquid extraction and subcritical water extraction in environmental analysis. *Journal of Chromatography A*, 975(1), 3–29. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)01336-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)01336-5)

Rico, X., Gullón, B., Alonso, J. L., Parajó, J. C., & Yáñez, R. (2017). *Valorization of peanut shells: Manufacture of bioactive oligosaccharides*. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.11.009>

Rivero, D., Pérez-Magariño, S., González-Sanjosé, M. L., Valls-Belles, V., Codoñer, P., & Muñoz, P. (2005). Inhibition of Induced DNA Oxidative Damage by Beers: Correlation with the Content of Polyphenols and Melanoidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(9), 3637–3642. <https://doi.org/10.1021/JF048146V>

Saavedra, I. (2016). *DESARROLLO DE UN EXTRACTO DE TARA (CAESALPINIA SPINOSA) Y ESTUDIO DE SU EFECTO SOBRE EL CONTENIDO DE NEO-CONTAMINANTES, CALIDAD Y PERFIL SENSORIAL DE PAN TIPO HALLULLA.*

Schouten, M. A., Frygas, C., Tappi, S., Romani, S., & Fogliano, V. (2023). Influence of lupin and chickpea flours on acrylamide formation and quality characteristics of biscuits. *Food Chemistry*, 402. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2022.134221>

Shakeri, F., Shakeri, S., Ghasemi, S., Troise, A. D., & Fiore, A. (2019). *Effects of Formulation and Baking Process on Acrylamide Formation in Kolompeh, a Traditional Cookie in Iran.* <https://doi.org/10.1155/2019/1425098>

Stadler, R. H., Robert, F., Riediker, S., Varga, N., Davidek, T., Devaud, S., Goldmann, T., Hau, J., & Blank, I. (2004). In-Depth Mechanistic Study on the Formation of Acrylamide and Other Vinylogous Compounds by the Maillard Reaction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(17), 5550–5558. <https://doi.org/10.1021/JF0495486>

Stadler, R. H., Verzeznassi, L., Varga, N., Grigorov, M., Studer, A., Riediker, S., & Schilter, B. (2003). Formation of Vinylogous Compounds in Model Maillard Reaction Systems. *Chemical Research in Toxicology*, 16(10), 1242–1250. <https://doi.org/10.1021/TX034088G>

STRACK, D., & WRAY, V. (1989). *Anthocyanins*. 1, 325–356. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-461011-8.50015-9>

Tamkute, L., Liepuoni, uta, Pukalskien, M., & Rimantas Venskutonis, P. (2020). The Journal of Supercritical Fluids Recovery of valuable lipophilic and polyphenolic fractions from cranberry pomace by consecutive supercritical CO₂ and pressurized liquid extraction. *J. of Supercritical Fluids*, 159, 104755. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2020.104755>

Tardiff, R. G., Gargas, M. L., Kirman, C. R., Carson, M. L., & Sweeney, L. M. (2010). Estimation of safe dietary intake levels of acrylamide for humans. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 658–667. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.11.048>

Tareke, E., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson, S., & Törnqvist, M. (2002). Analysis of Acrylamide, a Carcinogen Formed in Heated Foodstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(17), 4998–5006. <https://doi.org/10.1021/JF020302F>

Tesby, M. R. L., Neveen, F. A., Neveen, A., & Nashwa, M. Y. (2018). Effect of Thyme, Cumin and Anise on the Formation of Acrylamide in Some Bakery Products. *J. Agric. Sci*, 63(3), 183–192.

The Food Tech. (n.d.). *El consumo de galletitas está entre los más altos del mundo*. Retrieved January 10, 2023, from <https://thefoodtech.com/historico/el-consumo-de-galletitas-esta-entre-los-mas-altos-del-mundo/>

Troise, A. D., Colantuono, A., & Fiore, A. (2020). *Spray-dried olive mill wastewater reduces Maillard reaction in cookies model system*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126793>

van der Fels-Klerx, H. J., Capuano, E., Nguyen, H. T., Ataç Mogol, B., Kocadağlı, T., Taş, N. G., Hamzaloğlu, A., van Boekel, M. A. J. S., & Gökmen, V. (2014). *Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural formation during baking of biscuits: NaCl and temperature-time profile effects and kinetics*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.01.039>

Vergara-Salinas, J. R., Cuevas-Valenzuela, J., & Perez-Correa, J. R. (2016). *Advances in Technologies for Producing Food-relevant Polyphenols*.

Vergara-Salinas, J. R., Vergara, M., Altamirano, C., Gonzalez, Á., & Pérez-Correa, J. R. (2015). Characterization of pressurized hot water extracts of grape pomace: Chemical and biological antioxidant activity. *Food Chemistry*, 171, 62–69. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2014.08.094>

Wang, X., & Xu, L. (2014). Influence Factors on the Formation of Acrylamide in the Amino Acid/Sugar Chemical Model System. *Journal of Food and Nutrition Research*, 2(7), 344–348. <https://doi.org/10.12691/jfnr-2-7-3>

Xu, Y., Cui, B., Ran, R., Liu, Y., Chen, H., Kai, G., & Shi, J. (2014). *Risk assessment, formation, and mitigation of dietary acrylamide: Current status and future prospects*. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.03.037>

Yañez, G. P., Güemes Vera, N., Piloni Martini, J., & Quintero Lira, A. (2017). Revisión: Acrilamida en los alimentos, daños a la salud y estrategias para su inhibición. *Boletín de Ciencias Agropecuarias Del ICAP*, 3. <https://repository.uaeh.edu.mx/revistas/index.php/icap/article/download/2064/4237?inline=1>

Yang, H., Li, L., Yin, Y., Li, B., Zhang, X., Jiao, W., & Liang, Y. (2019). Effect of ground ginger on dough and biscuit characteristics and acrylamide content. *Food Science and Biotechnology* 2019 28:5, 28(5), 1359–1366. <https://doi.org/10.1007/S10068-019-00592-X>

Yang, M., Ding, L., Wang, P., Wu, Y., Areeprasert, C., Wang, M., Chen, X., Wang, F., & Yu, G. (2023). Formation of melanoidins and development of characterization techniques during

thermal pretreatment of organic solid waste: A critical review. *Fuel*, 334, 126790. <https://doi.org/10.1016/J.FUEL.2022.126790>

Yasuhara, A., Tanaka, Y., Hengel, M., & Shibamoto, T. (2003). Gas Chromatographic Investigation of Acrylamide Formation in Browning Model Systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(14), 3999–4003. <https://doi.org/10.1021/JF0300947>

Yaylayan, V. A., & Stadler, R. H. (2005). *Acrylamide Formation in Food: A Mechanistic Perspective*. <https://academic.oup.com/jaoac/article/88/1/262/5657561>

Zaitsev, A. N., Simonian, T. A., & Pozdniakov, A. L. (1975). [Hygienic standards for hydroxymethylfurfural in food products]. *Voprosy Pitaniia*, 1, 52–55. <https://europepmc.org/article/med/54991>

Zhang Bsc, Y., & Zhang, Y. (2007). Study on reduction of acrylamide in fried bread sticks by addition of antioxidant of bamboo leaves and extract of green tea. *Asia Pac J Clin Nutr*, 16(1), 131–136.

Zhang, Y., & An, X. (2017). *Inhibitory mechanism of quercetin against the formation of 5-(hydroxymethyl)-2-furaldehyde in buckwheat flour bread by ultra-performance liquid chromatography coupled with high-resolution tandem mass spectrometry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.03.007>

Zhang, Y., & Jin, C. (2016). Relationship between Antioxidants and Acrylamide Formation. *Acrylamide in Food: Analysis, Content and Potential Health Effects*, 325–353. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802832-2.00017-6>

Zhang, Y., & Zhang, Y. (2008). Effect of natural antioxidants on kinetic behavior of acrylamide formation and elimination in low-moisture asparagine–glucose model system. *Journal of Food Engineering*, 85(1), 105–115. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2007.07.013>

Zhu, F., Cai, Y. Z., Ke, J., & Corke, H. (2011). Dietary plant materials reduce acrylamide formation in cookie and starch-based model systems. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(13), 2477–2483. <https://doi.org/10.1002/JSFA.4491>

Žilić, S., Serpen, A., Akillioğlu, G., Gökmen, V., & Vančetović, J. (2012). Phenolic Compounds, Carotenoids, Anthocyanins, and Antioxidant Capacity of Colored Maize (*Zea mays* L.) Kernels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(5), 1224–1231. <https://doi.org/10.1021/JF204367Z>

Zyzak, D. v., Sanders, R. A., Stojanovic, M., Tallmadge, D. H., Eberhart, B. L., Ewald, D. K., Gruber, D. C., Morsch, T. R., Strothers, M. A., Rizzi, G. P., & Villagran, M. D. (2003). Acrylamide Formation Mechanism in Heated Foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(16), 4782–4787. <https://doi.org/10.1021/JF034180I>

ANEXOS

Anexo A: Ficha técnica de coronta de maíz morado pulverizada expedida por la empresa proveedora Kumara Food

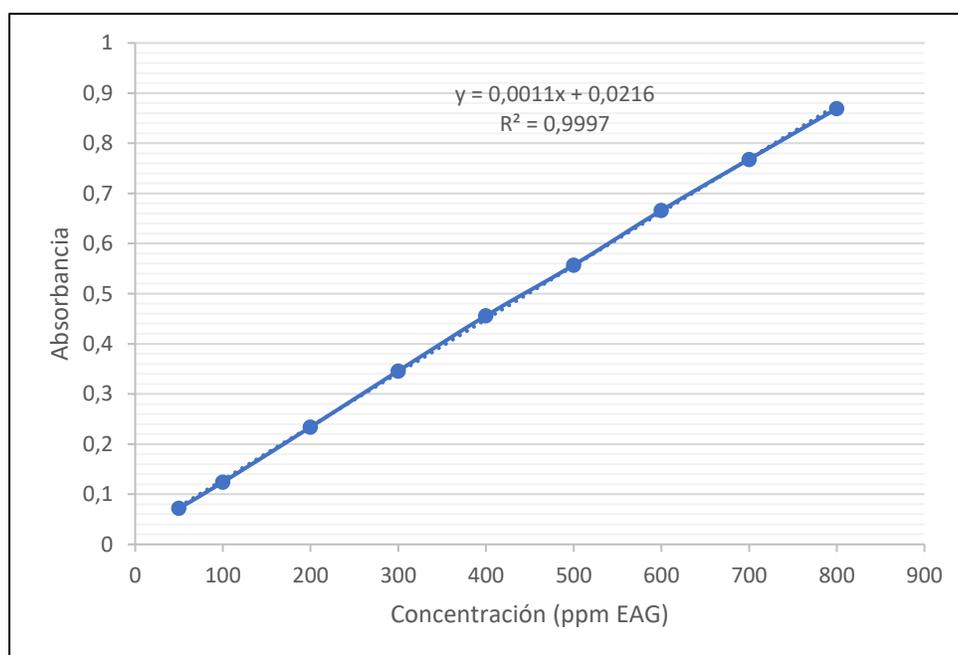
FICHA TECNICA		AREA: CALIDAD
		PRODUCCION: 2018
		VERSION: 01
PRODUCTO	HARINA DE MAIZ MORADO	
COMPOSICIÓN	100% Maíz (<i>Zea mays L.</i>)	
DESCRIPCION DE PROCESOS	Obtenido de la mazorca y coronta del maíz morado (<i>Zea mays L.</i>) por procesos de tratamiento térmico, molienda, tamizado y envasado cumpliendo la Buenas Prácticas de Manufactura.	
CARACTERISTICAS ORGANOLEPTICOS	Aspecto: Polvo homogéneo libre de material extraño. Color: Púrpura oscuro Olor: Característico Sabor: Característico	
REQUISITOS FISICO-QUIMICOS	Humedad* : 12.0% Máximo Granulometría* : Mesh N° 30 Según Especificación Interna Kumara Food EIRL. (* Valor sujeto a modificación.	
TRATAMIENTO DE CONSERVACION	Tratamiento térmico - Calor seco	
USO PREVISTO	Producto para ser utilizado como insumo y/o materia prima en procesos de elaboración de productos alimenticios de consumo humano. Requiere de tratamiento previo.	
EMPAQUE Y PRESENTACIÓN	Primer empaque: Bolsa de polietileno de alta densidad de grado alimentario de primer uso x 10 Kg. Segundo empaque: Caja de cartón conteniendo 1 bolsas x 10 Kg. El empaque y peso puede ser también de acuerdo a las especificaciones del Cliente.	
VIDA ÚTIL	2 años, a partir de la fecha de empaque en condiciones normales de almacenamiento recomendados por el fabricante.	
DATOS DE ETIQUETA	Marca KUMARA FOOD indica: Nombre del producto, cantidad, lote, peso bruto, peso neto, tara, fecha de producción, fecha de vencimiento, registro sanitario, condiciones de almacenamiento, información del fabricante.	
CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO	Temperatura ambiental: menor a 30 °C. Humedad Relativa: menor a 85%. Proteger del calor, luz, humedad y olores penetrantes.	
DISTRIBUCION Y TRANSPORTE	Debe ser transportado en un vehículo higienizado y seco, no debe estar en contacto con el piso o tierra y con otros productos que emanen fragancias.	
REGISTRO SANITARIO	E4504315N-NAKMFO	

Cal. Los Asteroides N° 103 - Urb. La Campiña - Chorrillos - Lima - Lima
Central 717-3966 www.kumarafood.com

Anexo B: Curva de calibrado para determinación de polifenoles totales

Tabla 12: Promedios de la concentración de ácido gálico para curva de calibración

Punto	Concentración (ppm EAG)	ABS
P1	50	0,072
P2	100	0,124
P3	200	0,234
P4	300	0,346
P5	400	0,456
P6	500	0,557
P7	600	0,666
P8	700	0,768
P9	800	0,869

**Figura 14:** Curva de calibración para polifenoles totales

Anexo C: Resultados de análisis de varianza para % de Rendimiento de extracción por HPLE de los extractos de coronta de maíz morado

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Condición de Extracción	4	601,024	150,256	280,33	0,000
Error	10	5,360	0,536		
Total	14	606,384			

Anexo D: Resultados de análisis de varianza para polifenoles totales (PFT) de los extractos de coronta de maíz morado

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Condición de Extracción	4	11324,4	2831,11	660,00	0,000
Error	10	42,9	4,29		
Total	14	11367,3			

Anexo E: Resultados de análisis de varianza para antocianinas totales de los extractos de coronta de maíz morado

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Condición de Extracción	4	242,764	60,6911	652,42	0,000
Error	10	0,930	0,0930		
Total	14	243,694			

Anexo F: Resultados de análisis de varianza para capacidad antioxidante de los extractos de coronta de maíz morado

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Condición de Extracción	4	141828	35457	3,76	0,041
Error	10	94387	9439		
Total	14	236216			

Anexo G: Resultados de análisis de varianza para contenido de 5-HMF de los extractos de coronta de maíz morado

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Condiciones de Extracción	2	833,47	416,736	105,71	0,000
Error	6	23,65	3,942		
Total	8	857,13			

Anexo H: Resultados de análisis de varianza para contenido de 5-HMF en las formulaciones de galletas con extracto de coronta de maíz morado

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
FORMULACION GALLETA	3	1065,53	355,178	107,01	0,000
Error	8	26,55	3,319		
Total	11	1092,09			

Anexo I: Resultados de análisis de varianza para contenido de acrilamida en las formulaciones de galletas con extracto de coronta de maíz morado

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
FORMULACION GALLETA	3	26126,7	8708,92	232,11	0,000
Error	8	300,2	37,52		
Total	11	26426,9			
