



Determinación de precursores de acrilamida en patata por NIRS

S. Arazuri¹, A. López-Maestresalas¹, C. Pérez¹, F.J. Morales², M. Mesías², C. Jarén¹

¹ Dpto. Ingeniería. Ed. Los Olivos. Campus Arrosadía. Universidad Pública de Navarra. 31001 Pamplona. Navarra.

² Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición, ICTAN-CSIC. José Antonio Novais 10, 28040, Madrid.

Resumen: Según la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), la presencia de acrilamida en los alimentos incrementa el riesgo de desarrollar determinados tipos de cáncer. Las patatas fritas son una de las principales fuentes de exposición a este contaminante, formado debido a los altos niveles de precursores (azúcares reductores y asparagina) en la patata y a las elevadas temperaturas aplicadas durante la fritura. El objetivo del trabajo es utilizar la tecnología NIRS como método rápido de muestreo y control de los niveles de azúcares reductores en las patatas destinadas para fritura. Se han analizado 494 muestras liofilizadas de patatas obtenidas tanto de diferentes variedades de patatas frescas, como de patatas prefritas congeladas. Se ha empleado como método analítico de referencia el descrito por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) que emplea ácido dinitrosalicílico (DNS) pero utilizando un espectrofotómetro de placas (Synergy HT, BioTek Instruments, Inc., USA). Las medidas en el infrarrojo se han realizado con un espectrofotómetro NIR, Luminar 5030 de Brimrose. El análisis estadístico consiste en la realización de modelos de regresión por mínimos cuadrados parciales (PLSR). Se observó que los errores obtenidos en los modelos de predicción estaban alrededor de 15 mg/g y 22 mg/g, para azúcares reductores y totales (Glucosa, Fructosa y Sacarosa). La técnica se presenta como una herramienta útil para realizar el análisis rápido de muestras de patata liofilizada.

Palabras clave: acrilamida, infrarrojos, PLS-R, azúcares reductores.

1. Introducción

La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) indica que la presencia de acrilamida en los alimentos incrementa el riesgo de desarrollar determinados tipos de cáncer. Las patatas fritas son una de las principales fuentes de exposición a este contaminante, formado debido a los altos niveles de precursores (azúcares reductores y asparagina) en la patata fresca y a las elevadas temperaturas aplicadas durante la fritura.

El contenido en azúcares reductores (glucosa + fructosa) en el tubérculo es el factor crítico en la formación de acrilamida, ya que el contenido en asparagina libre es muy elevado y presenta poca variación. Es por ello que una de las estrategias para mitigar la formación de este contaminante es controlar los niveles de azúcares reductores en la patata fresca, que dependerá, entre otros factores, de la variedad, de factores agronómicos o de las condiciones de almacenamiento.

Los métodos de análisis químico son costosos tanto por los materiales utilizados como por el tiempo empleado en realizarlos. Los métodos de análisis de azúcares reductores en alimentos y en patata en particular son muy variados, desde técnicas de análisis directo mediante

cromatografía de líquidos acoplado a detectores amperométricos, de índice de refracción o light-scattering, pero también mediante cromatografía de gases de los azúcares derivatizados. También existen técnicas rápidas basadas en kits enzimáticos y colorimétricos. La mayoría de ellas tienen limitaciones para ser realizadas on-line o incluso at-line, y requieren de varias horas o días para obtener el resultado, o como ocurre con los métodos cromatográficos, se requiere de equipamiento costoso y personal técnico cualificado. Todo ello, limita el uso rutinario del control de azúcares reductores para el pequeño productor.

El objetivo de este trabajo ha sido utilizar la tecnología NIRS como método de control, para muestrear de forma rápida los niveles de azúcares reductores en patata liofilizada.

2. Materiales y métodos

2.1. Material vegetal

Las patatas utilizadas en el ensayo correspondieron a patatas frescas y patatas prefritas congeladas proporcionadas por voluntarios de más de 300 hogares, comedores escolares y establecimientos de restauración colectiva. Todas las patatas procedentes de los hogares (n = 320) fueron patatas frescas (de temporada o de conservación) de distintas variedades comerciales obtenidas en diferentes localizaciones de 30 provincias españolas. Las patatas proporcionadas por los comedores escolares (n = 51) fueron frescas (n = 22) y prefritas congeladas (n = 29), mientras que aquéllas procedentes de la restauración colectiva (n = 123) fueron en su totalidad prefritas congeladas. Todas las muestras se liofilizaron y se conservaron hasta su análisis en cámara frigorífica a 4°C. En total se analizaron 494 muestras.

2.2. Análisis de azúcares reductores

Los azúcares reductores y totales se analizaron según el método del ácido dinitrosalicílico (DNS)[1] utilizando un espectrofotómetro de placas (Synergy HT, BioTek Instruments, Inc., USA). La determinación incluyó extracción con agua a 50°C e hidrólisis de la sacarosa con HCl 2N para los azúcares totales. En presencia de azúcares reductores, el 3-5-dinitrosalicílico es reducido a 3,5-diaminosalicílico, compuesto coloreado que presenta un máximo de absorción a 530 nm. La absorbancia de las muestras será proporcional a la concentración de azúcares reductores (glucosa + fructosa) presentes en el medio. Los resultados son expresados como glucosa equivalentes. El método ha sido validado con la determinación de azúcares por cromatografía de líquidos mediante intercambio iónico y detección amperométrica.

2.3. Análisis de espectroscopía en el Infrarrojo Cercano

Las muestras de patata liofilizada se analizaron con el espectrofotómetro Luminar 5030 de Brimrose (Baltimore, MD, USA), este equipo cuenta con tecnología AOTF-NIR (Acousto Optic Tunable Filter-Near Infrared), es portátil y permite tomar medidas con y sin contacto con la muestra. El rango espectral es de 1100 a 2300 nm, con una velocidad de escaneo de 16000 longitudes de onda/s. Se adquirieron 4 espectros por muestra liofilizada.

2.4 Análisis quimiométrico

Una vez adquirida toda la información espectral y química de cada muestra se elaboró la tabla de datos, de forma que cada muestra quedara caracterizada por su espectro y por la cantidad de azúcares reductores (AR) obtenida. La regresión por mínimos cuadrados parciales PLS-R, es la técnica aplicada para la realización de los modelos de predicción de los azúcares a partir de los datos espectrales. El siguiente paso, consiste en dividir los datos en dos grupos: uno para realizar la calibración del modelo de predicción de azúcares reductores que contenga

el 70% de las muestras, y el otro grupo, el de validación o predicción, que va a permitir evaluar el modelo obtenido y que contiene el 30% restante de las muestras.

Se realizaron distintos pretratamientos a los espectros para corregir el ruido espectral y la dispersión. Estos pretratamientos fueron: normalización (NORM), corrección de la dispersión multiplicativa (MSC), y primera y segunda derivadas según el método de Savitzky-Golay.

La capacidad de aplicación de los modelos desarrollados se evaluó según los siguientes parámetros: el coeficiente de determinación (R^2), el error de predicción del modelo de calibración (RMSEC), de la validación cruzada (RMSECV) y de la predicción o validación (RMSEP) [2].

El software utilizado para la realización de los análisis quimiométricos es The Unscrambler X (versión 10.3, CAMO software AS, Oslo, Norway).

3. Resultados y discusión

La variabilidad de las muestras debe ser tal, que permita que el modelo sea escalable. En la tabla 1 se presentan los valores de número de muestras, rango, media y desviación típica para los grupos de calibración y de validación, para las variables Azúcares Reductores (AR) y Azúcares Totales (AT), medidas en miligramos por gramo de patata liofilizada.

Tabla 1. Datos de caracterización de los grupos de calibración y predicción

	Grupo de calibración				Grupo de predicción			
	n	Rango	Media	SD	n	Rango	Media	SD
AR (mg/g)	303	0,81-202,97	29,43	39,99	151	0,78-153,66	26,29	34,07
AT(mg/g)	303	1,01-261,79	52,71	47,65	151	4,46-221,35	51,42	44,68

Podemos observar que ambos grupos presentan medias y desviaciones típicas muy similares, esto nos permitirá poder evaluar de forma correcta la capacidad de predicción de los modelos desarrollados para ambas variables de estudio.

Una vez que la distribución de los datos es la adecuada para el análisis, pasamos a evaluar los resultados obtenidos. En la tabla 2, se muestran para los distintos pretratamientos aplicados a los datos espectrales, los parámetros de evaluación de los modelos de predicción de azúcares (error y coeficiente de determinación). Además se incluye el número de variables latentes (LV) utilizadas en cada caso.

Tabla 2. Parámetros de evaluación de los modelos para los distintos pretratamientos y variables analizadas

Variable	Pretratamiento	LV	R^2CV	RMSECV	R^2V	RMSEP
AR(mg/g)	Sin pretratar	13	0,85	14,72	0,70	19,63
	Normalización	12	0,67	19,58	0,76	16,69
	MSC	12	0,84	15,09	0,70	19,86
	1ª derivada	9	0,84	15,15	0,69	19,95
	2ª derivada	8	0,78	17,82	0,63	21,83
AT(mg/g)	Sin pretratar	13	0,80	20,53	0,83	18,28
	Normalización	13	0,81	19,55	0,88	15,19
	MSC	12	0,83	18,85	0,84	18,03
	1ª derivada	9	0,80	20,61	0,85	17,10
	2ª derivada	8	0,79	21,15	0,81	19,64

Se puede observar (tabla 2) cómo el valor del coeficiente de determinación tanto en la validación cruzada como en la predicción alcanza en todos los casos un valor superior a 0,6 que es el límite de aplicación de los modelos. Cuando R^2 se sitúa entre 0,8 y 0,9, donde está la mayoría de los modelos, éstos se pueden utilizar para la mayoría de las aplicaciones [3]. Esto indica que los modelos desarrollados pueden utilizarse según este parámetro, para la predicción del contenido de azúcares reductores y totales. En relación a los errores de validación cruzada y predicción, si comparamos estos con el valor de la desviación típica de la variable, vemos que son inferiores, haciendo que podamos aceptar cualquiera de ellos, cumpliendo así con el objetivo marcado en este trabajo.

En el caso de AR, podemos indicar que la mejor opción podría ser la de no realizar ningún pretratamiento de los datos, asumiendo que el error en la predicción va a aumentar, ya que son muestras que no han participado en el desarrollo del modelo. El número de variables latentes (LV), se ha seleccionado minimizando el error pero sin sobreajustar el modelo.

La predicción de AT, sin embargo, parece que es mejor en el caso de normalizar los datos, ya que tenemos un buen comportamiento en la predicción, con coeficientes de determinación más altos y errores más bajos.

Aunque el rango de azúcares reductores es mayor que el presentado por López-Maestresalas [4], la relación entre los errores y el valor medio de la variable, es muy similar en ambos trabajos.

Finalmente, en las figuras 1 y 2, podemos observar las longitudes de onda que más influyen en la capacidad predictora de los modelos para AR y AT, respectivamente.

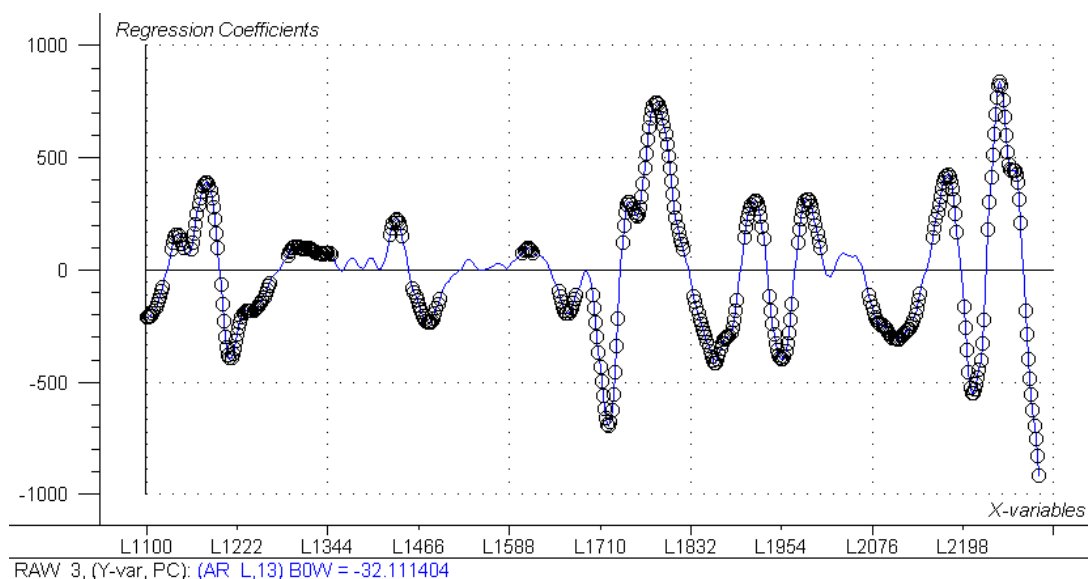


Figura 1. Longitudes de onda con mayor influencia en el modelo de predicción del contenido de azúcares reductores.

En la Figura 1 prácticamente todo el espectro tiene la misma importancia en el desarrollo del modelo, sin embargo, en la Figura 2, para la predicción de los azúcares totales, parece que son los rangos del 1700 a 1900 nm y de 2100 a 2300 nm donde radica la capacidad de predicción del modelo. Estas zonas están relacionadas con las bandas de absorción de los enlaces C=H, presentes en los azúcares.

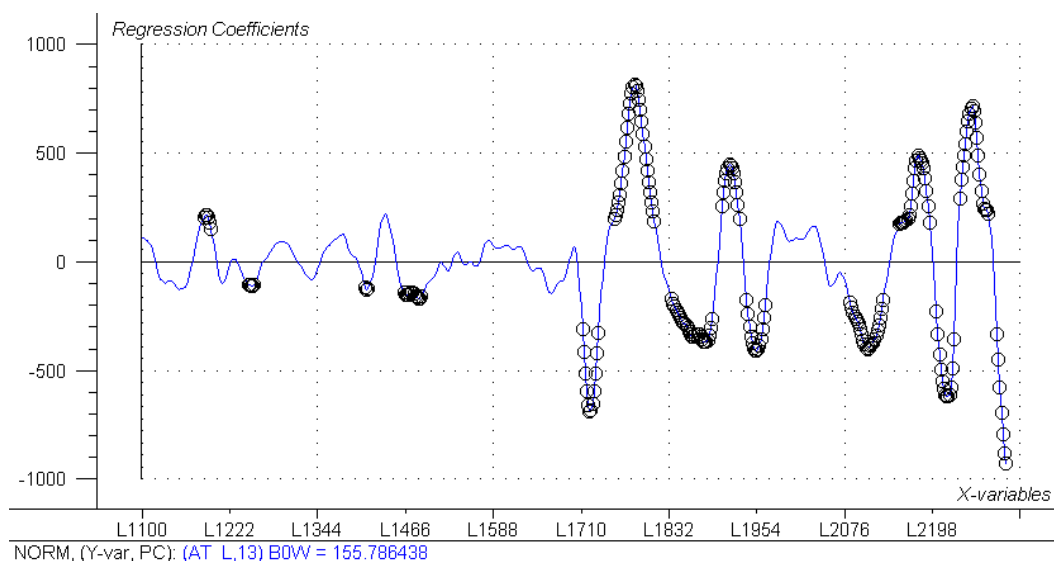


Figura 2. Longitudes de onda con mayor influencia en el modelo de predicción del contenido de azúcares totales.

4. Conclusiones

En este estudio se ha investigado la capacidad de la tecnología NIRS para predecir el contenido en azúcares reductores y azúcares totales en muestras de patata de distinta procedencia. Una vez analizados los datos obtenidos, podemos concluir que la tecnología NIRS puede ser una buena alternativa a las medidas de laboratorio para la estimación de azúcares en muestras de patata liofilizadas. Se han obtenido unos coeficientes de determinación entre 0,63-0,88 para el grupo de validación. Los mejores resultados se han alcanzado para la predicción de azúcares totales aplicando una normalización a los datos ($R^2:0,88$, RMSEP:15,19), mientras que la mejor estimación de los azúcares reductores se ha realizado sin pretratar los datos espectrales ($R^2:0,70$, RMSEP:19,63).

De acuerdo a los resultados obtenidos, el uso de la tecnología NIR combinada con el análisis PLS-R tiene potencial para detectar la concentración de azúcares en patata. Sin embargo, en futuros estudios será necesario seguir aumentando el número de muestras para poder reducir el error de predicción.

5. Agradecimientos

Este trabajo ha estado financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (España) bajo los proyectos SAFEFRYING (AGL2015-46234-R) y RTA2013-00006-C03-03.

Referencias

1. Miller, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*. 1959, 31, 426-428.
2. Naes T., Isaksson T., Fearn T., Davies T. A user friendly guide to multivariate calibration and classification. NIR Publications. 2002.
3. Williams P. Near-infrared technology—Getting the best out of light. PDK Grain, Nanaimo, Canada. 2003.
4. López-Maestresalas A., Pérez C., Tierno R., Arazuri S., Ruiz de Galarreta J.I., Jarén C. Prediction of main potato compounds by NIRS. *Chemical Engineering Transactions*. 2017, 50, 385-390.