Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

Niveles de acrilamida en hojuelas de papas fritas comercializadas en Lima Metropolitana en el año 2018 y valores de referencia

TESIS

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

AUTOR

Ivan Andrés CORDOVA MORALES

Juan Carlos FLORES SANTOS

ASESOR

Alfredo Alonzo CASTILLO CALLE

Lima, Perú

2022



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Cordova I, Flores J. Niveles de acrilamida en hojuelas de papas fritas comercializadas en Lima Metropolitana en el año 2018 y valores de referencia [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional Farmacia y Bioquímica; 2022.

Metadatos complementarios

Datos de autor 1	
Nombres y apellidos	Ivan Andrés Cordova Morales
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	70272630
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0003-4716-5120
Datos de autor 2	
Nombres y apellidos	Juan Carlo Flores Santos
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	43583256
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0001-5632-7203
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Alfredo Alonzo Castillo Calle
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	09137475
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0001-9423-1464
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	MESÍAS MOISÉS GARCÍA ORTÍZ
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	07200816
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	CARMEN GLADYS PEÑA SUASNABAR

Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	20904674
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	GLORIA MARINA MARIN VALLEJOS
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	09690135
Miembro del jurado 3	
Nombres y apellidos	WALTER RIVAS ALTEZ
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	09238422
Datos de investigación	
Línea de investigación	B.2.3.2. Toxicologia alimentaria
Grupo de investigación	No aplica
Agencia de financiamiento	Sin financiamiento
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Metropolitana Distrito: Cercado de Lima Dirección: Jr. Puno N°1002, Jardín Botánico Latitud: -12.056191 Longitud: -77.023744
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Mayo 2018 – Diciembre 2018
URL de disciplinas OCDE	Medicina Básica, Toxicología https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.07

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

Niveles de acrilamida en hojuelas de papas fritas comercializadas en Lima Metropolitana en el año 2018 y valores de referencia

Que presentan los Bachilleres en Farmacia y Bioquímica:

IVAN ANDRÉS CORDOVA MORALES Y
JUAN CARLOS FLORES SANTOS

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, ha obtenido la siguiente calificación final:

DIECIOCHO (18) CON MENCIÓN HONROSA.

---

de conformidad con el Art. 14.º del Reglamento General de Grados y Títulos de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para la obtención del Título Profesional de Químico Farmacéutico (a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica.

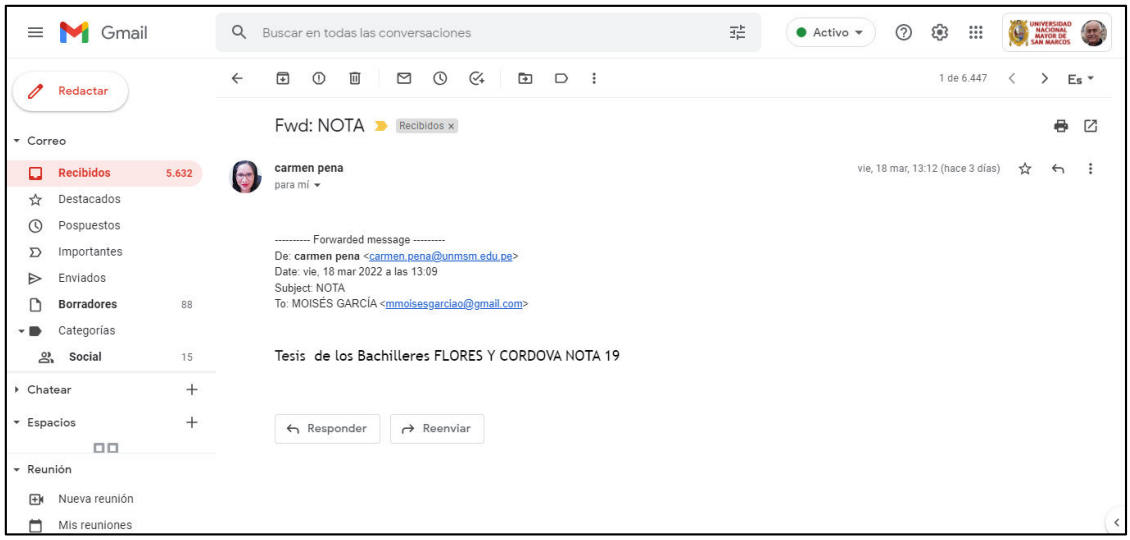
JURADO EXAMINADOR Y CALIFICADOR (R.D. N.° 000449-2021-D-FFB/UNMSM)

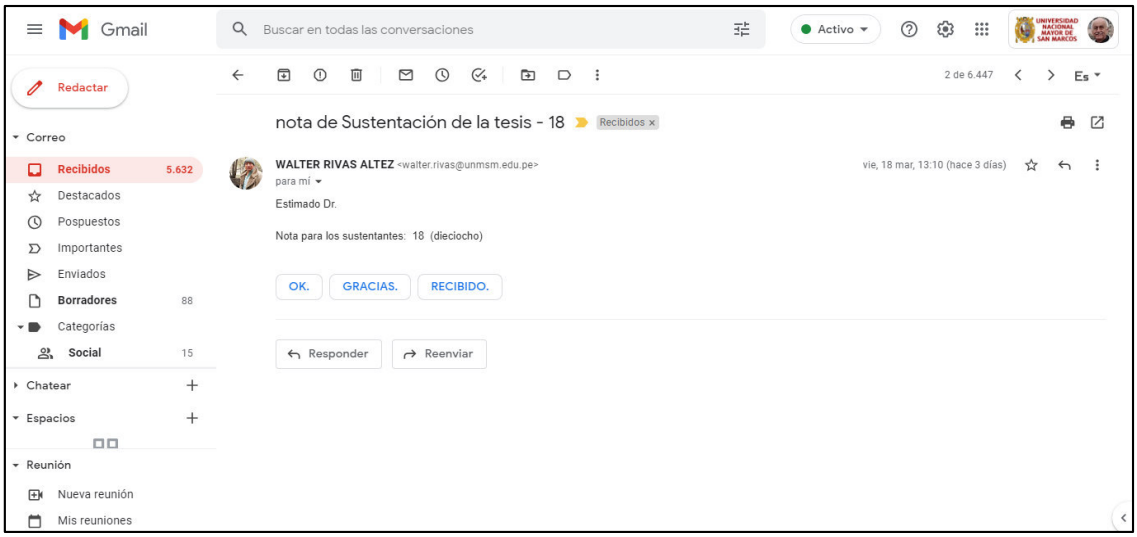
- Dr. Mesías Moisés García Ortiz
- Mg. Carmen Gladys Peña Suasnabar
- Mg. Gloria Marina Marin Vallejos
- Mg. Walter Rivas Altez

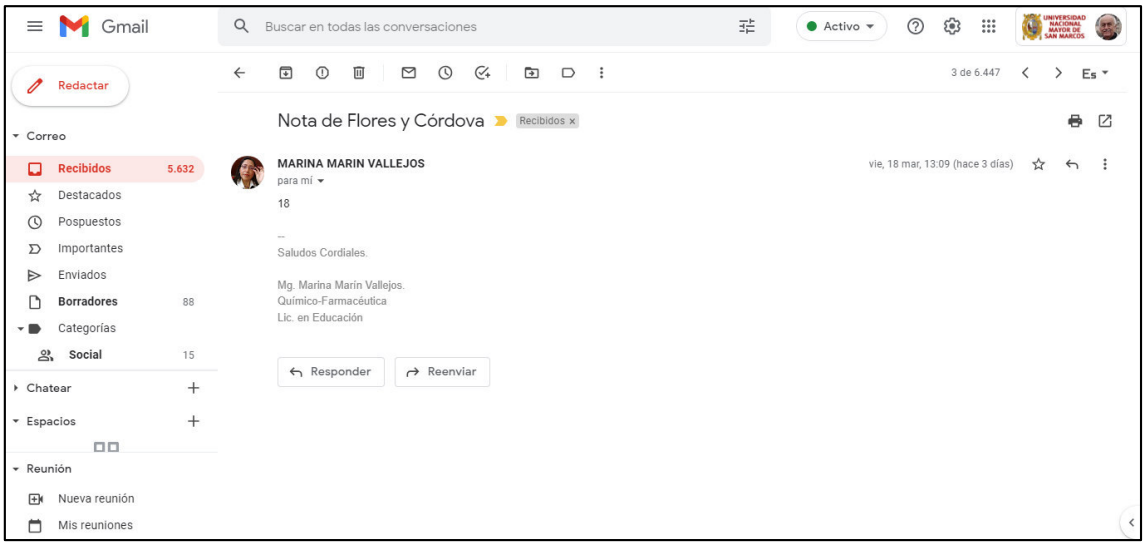
Lima, 18 de marzo de 2022.

Dr. Mesías Moisés García Ortiz
Presidente

Jr. Puno N° 1002, Jardín Botánico – Lima 1 – Perú
Teléfonos: (511) 619-7000 anexo 4826 Ap. Postal 4559 – Lima 1
E-mail: decanofyb@unmsm.edu.pe http://farmacia.unmsm.edu.pe







Jr. Puno N° 1002, Jardín Botánico – Lima 1 – Perú
Teléfonos: (511) 619-7000 anexo 4826 Ap. Postal 4559 – Lima 1
E-mail: decanofyb@unmsm.edu.pe http://farmacia.unmsm.edu.pe

DEDICATORIA

La presente tesis está dedicada a:

A mi familia especialmente a mi madre Vilma Luz Morales Flores, por el amor, la fortaleza, la confianza y la fe puesta en mí. Sin ti no hubiese conseguido superar todos los momentos difíciles. A Juan Carlos, por la entrega absoluta en este proyecto, sin él no hubiese sido posible tal hazaña.

Ivan Andrés Cordova Morales

A mis padres, Olga y Lucho, a mis eternos abuelos, Elodia y Oscar, a mis hermanos Erika y Paris, por darme motivos de seguir luchando siempre. A Iván por su inagotable esfuerzo y dedicación. A todos ellos, con todo mi cariño va este trabajo.

Juan Carlos Flores Santos

AGRADECIMIENTOS

A nuestros padres, hermanos y familiares, quienes nos apoyaron antes y durante el camino de vida, y por ser el soporte y motivo por el cual seguimos adelante.

A nuestra Alma Máter, la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, y a nuestra Facultad de Farmacia y Bioquímica, por formarnos como profesionales; y a nuestros docentes por habernos compartido sus invaluables enseñanzas.

A nuestro asesor, el excelentísimo profesor Q.F. Alfredo Alonzo Castillo Calle, por habernos instruido y orientado con sus conocimientos, experiencia y paciencia, para la realización de la presente tesis.

A la estimada Dra. Amparo Iris Zavaleta Pesantes por las instalaciones del Laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Al Ingeniero Anthony Fuentes Olivera, por habernos brindado su valioso apoyo en el desarrollo del proyecto.

Al Laboratorio de Tecnologías Limpias y/o Emergentes en la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional de Trujillo.

A todos quienes han vivido junto a nosotros el proceso de realización de esta tesis y nos han brindado soporte y apoyo incondicional.

A cada uno de los miembros del jurado examinador y calificador, Dr. Mesías Moisés García Ortiz, Mg. Carmen Gladys Peña Suasnabar, Mg. Gloria Marina Marín Vallejos y Mg. Walter Rivas Altez por sus aportes de mejora para el presente trabajo.

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS viii

ÍNDICE DE TABLAS x

ABREVIATURAS xi

RESUMEN xiv

SUMMARY xv

I. INTRODUCCION 16

I.1. Planteamiento del problema 16

I.2. Objetivo 18

I.2.1. Objetivos específicos. 18

I.3. Importancia y alcance de la investigación 19

I.4. Limitaciones de la investigación 19

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA 21

II.1. Antecedentes del estudio 21

II.2. Bases Teóricas 25

II.2.1. La acrilamida 25

II.2.1.1. Características 26

II.2.2. Efectos de la acrilamida sobre la salud 26

II.2.2.1. Efectos tóxicos 27

II.2.2.2. Absorción, distribución, metabolismo y excreción 27

II.2.2.3. Toxicodinámica 29

II.2.2.3.1. Neurotoxicidad 29

II.2.2.3.2. Efectos en la reproducción y desarrollo 30

II.2.2.3.3. Genotoxicidad 30

II.2.2.3.4. Carcinogenicidad 30

II.2.3. Exposición de la acrilamida 32

II.2.3.1. Exposición alimentaria 32

II.2.4. Formación de acrilamida en alimentos.....36
II.2.4.1. Factores que influencian en la formación de acrilamida 37
II.2.5. Papa (*Solanum tuberosum*) 38
II.2.5.1. Composición química y nutricional de la papa 39
II.2.6. Formación de acrilamida en papas 39
II.2.7. Acciones gubernamentales y de organismos internacionales.....41
II.2.8. Métodos de análisis de acrilamida en hojuelas de papas fritas 44
III. HIPOTESIS Y VARIABLES.....46
III.1. Hipótesis 46
III.2. Variables 46
III.3. Operacionalización de variables.....46
IV. MATERIALES Y MÉTODOS 46
IV.2. Tipo y diseño de investigación 48
IV.3. Población y unidad de estudio.....48
IV.4. Muestra 49
IV.5. Recolección y obtención 49
IV.6. Procedimientos, técnicas e instrumentos de recolección de información....50
IV.6.1. Determinación de acrilamida por cromatografía líquida de interacción hidrofílica.....50
IV.6.1.1. Análisis preliminar en cromatografía líquida 50
IV.6.1.2. Análisis preliminar de pruebas de recuperación para determinar el mejor método de limpieza de la muestra 50
IV.6.3. Extracción de acrilamida 52
IV.6.4. Fase de limpieza:.....53
IV.6.5. Concentración de acrilamida en muestras de hojuelas de papas fritas ...53
IV.6.6. Comparación de datos en base al cumplimiento de valores internacionales 54

IV.7. Procesamiento y análisis de datos 55
V. RESULTADOS 56
VI. DISCUSIÓN 70
VII. CONCLUSIONES 77
VIII. RECOMENDACIONES 78
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 79
X. ANEXOS 89
X.1. Anexo 1. Reporte de Investigación de Mercado para Snacks en Perú, realizado de Euromonitor en el 2018. 89
X.2. Anexo 2. Difusión sobre la acrilamida en papas en medios de comunicación de Perú. 92
X.3. Anexo 3. Registro sanitario de hojuela de papas fritas en Lima metropolitana en el año 2018. 93
X.4. Anexo 4: Procesamiento de muestras de hojuelas de papa fritas. 98
X.5. Anexo 5: Reporte Cromatográfico 99
a. Resumen de corridas cromatográficas 99
b. Resultado de Cromatograma 109
c. Pista de auditoria 111

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fórmula estructural da acrilamida 26

Figura 2. Vías metabólicas de la acrilamida 28

Figura 3. Vía metabólica de la formación de aductos con la hemoglobina. 29

Figura 4. Contribución (%) del tipo de alimentos en la exposición de la acrilamida en la población 34

Figura 5. Vías propuestas de la formación de acrilamida por reacción de Maillard y via de acroleina 36

Figura 6. Influencia de la temperatura en la formación de acrilamida a partir de la reacción de asparagina y glucosa luego de 20 min 38

Figura 7. Distribución porcentual de aminoácidos libres en la papa 40

Figura 8. Efecto de la diminución del pH y del aumento de la temperatura en la concentración de acrilamida (µg/kg) en papas termoprocesadas durante 25 min 41

Figura 9. Hojuelas de papas fritas en Lima Metropolitana 48

Figura 10. Cromatograma de acrilamida padrón en columna HILIC (A) y C18 (B). 58

Figura 11. Cromatogramas de análisis en HPLC de Acrilamida padrón. Cromatograma para acetonitrilo (A); cromatograma de acrilamida padrón (B); cromatograma de metacrilamida (C), cromatograma de la mezcla acrilamida y metacrilamida (D). 59

Figura 12. Análisis de especificidad de cuatro padrones: acrilamida, acroleína, metacrilamida y acrilonitrilo 60

Figura 13. Cromatogramas de acrilamida padrón en diferentes concentraciones. Uso de metacrilamida 0,2 µg/mL como padrón interno 61

Figura 14. Cromatograma de acrilamida extraída en muestra de hojuelas de papas fritas usando el método QUECHERS. Muestra fortificada con acrilamida y metacrilamida (A); Blanco de muestra o muestra sin fortificar (B); Muestra fortificada con metacrilamida, el pico de acrilamida es reconocido en el cromatograma (C).....62

Figura 15. Recta de regresión y = 0,0377 + 3,3156x ajustada a los puntos experimentales relativos a las áreas bajo la curva (mAU x min) conforme la concentración de acrilamida (µg/mL).....63

Figura 16. Gráfico de residuos relativos al ajuste de una recta de regresión a los datos de las áreas bajo la curva (mAU x min) en relación a cada concentración de acrilamida (µg/mL).....64

Figura 17. Contenido de acrilamida en hojuelas de papas fritas y valor indicativo en la Unión Europea.....67

Figura 18. Contenido de acrilamida en hojuelas de papas fritas y nivel de referencia establecido en la Unión Europea.....67

Figura 19. Aspecto visual de las muestras analizadas.....68

Figura 20. Contenido de acrilamida en hojuela de papas fritas en relación a los productores.....69

Figura 21. Contenido de acrilamida en hojuela de papas fritas para tres lotes de las marcas M6, M11, M13 69

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Solubilidad de acrilamida en diversos solventes.....26

Tabla 2. Concentración de acrilamida en las porciones de los principales alimentos utilizados en las estimativas de exposición en los EUA. 33

Tabla 3. Estimativa de exposición humana a acrilamida desde productos alimentarios en algunos países de la Unión Europea.....34

Tabla 4. Estabilidad del contenido de acrilamida en diferentes alimentos en función del tiempo. 41

Tabla 5. Valores indicativos de Acrilamida para diferentes productos alimentarios. 43

Tabla 6. Hojuelas de papas fritas disponibles comercialmente en supermercados y tiendas de conveniencias de Lima Metropolitana durante el año 2018, ...57

Tabla 7. Comparación métodos de extracción SPE, método QUECHERS, método QUECHERS alúmina neutra.....60

Tabla 8. Parámetros de la recta de calibración y prueba de hipótesis para el coeficiente de regresión b = 3,3155.....64

Tabla 9. Valores de porcentaje de recuperación de acrilamida en muestras de hojuelas de papas fritas fortificadas con acrilamida 65

Tabla 10. Valores de acrilamida cuantificados en hojuelas de papas fritas. 66

ABREVIATURAS

ACN: Acetonitrilo

ACM: Acrilamida

AGEs: glicación avanzada

ALARA: as low as reasonably achievable

ANOVA: análisis de variancia

CAC/RCP: Codex Alimentarius Commission/Recommended Code of Practice

CAS: Chemical Abstracts Service

CCFAC: Codex Committee on Food Additives and Contaminants

CFSAN: Center for Food Safety and Applied Nutrition

CCFA: Comisión del Codex Alimentarius

CONTAM: EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain

CV: coeficientes de variación

DIGESA: Dirección General de Salud Ambiental e Inocuidad Alimentaria

DNA: Deoxyribose Nucleic Acid

DS: Decreto Supremo

EC: Europe Comission

EUA: Estados Unidos de América

FAO/WHO: Food and Agriculture Organization/World Health Organization

FDA: Food and Drug Administration

GC: Cromatografía de fase gaseosa

GCM: Glicidamida

GSH: Glutation

GST: glutationa-S-transferasa

Hb: Hemoglobina

HILIC: Hydrophilic interaction liquid chromatography

HPLC-DAD: acoplado a un detector de diodos

IARC: International Agency for Research on Cancer

INACAL: Instituto Nacional de Calidad

JECFA: Joint Expert Committee on Food Additives

Kg: Kilogramo

LC: cromatografía de fase líquida

LOAEL: Lowest Observed Adverse Effect Level

NOAEL: No Observed Effect Level

NTP: Norma Técnica Peruana

MS: espectrometría de masas

MSPD: matriz en fase sólida

PPM: Partes por millón

pH: potencial de hidrogeno

PSA: primary and secondary amine

QUECHERS: Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe

RS: Registro Sanitario

RPM: revolución por minuto

SNC: Sistema nervioso central

SFC: Comité Científico Alimentario de la Comisión Europea

SNP: Sistema nervoso periférico

SPE: Extracción en fase sólida

SPEd: Extracción en fase sólida dispersiva

UE: Unión Europea

UV: ultravioleta

ng/mL: nanogramo por mililitro

min: minuto

mL: mililitro

µg: microgramo

°C: grados Celsius

RESUMEN

Contexto: La acrilamida es considerada un compuesto carcinogénico y uno de los principales contaminantes encontrados en alimentos. Existe una necesidad para determinar sus niveles en los productos de mayor distribución como hojuelas de papas fritas, y compararlo con valores de referencia, como el establecido por la Unión Europea (750 µg/kg), para sugerir estrategias de mitigación de acrilamida. **Objetivo:** Analizar los niveles de acrilamida en hojuela de papas fritas comercializadas en el año 2018 y comparar su situación frente a los valores de referencia establecidos internacionalmente. **Metodología:** Fueron evaluadas 16 marcas de hojuelas de papas fritas (M1 a M16) provenientes de 9 productores. Fueron analizadas por cromatografía HPLC con columna HILIC, usando el método QUECHERS para su extracción y limpieza con factor de recuperación de 77,9%. Los niveles de acrilamida fueron expresados en µg/kg y comparados con los valores establecidos de la Unión Europea. **Resultados:** 12 de las 16 marcas, presentaron niveles promedio de acrilamida entre 868 y 2591 µg/kg; 2 de los 9 productores (fabricante de marcas M3, M6, M11 y M12) presentaron los más bajos niveles de acrilamida, con una media entre 386 y 540 µg/kg. Las muestras M1 y M8, de mayor distribución y probablemente mayor consumo, presentaron niveles de acrilamida $\geq$1033 µg/kg. **Conclusión:** Este trabajo encontró un promedio de contenido de acrilamida de 1234,18 µg/kg y que el 75 % de las marcas de hojuela de papas fritas comercializadas en Lima Metropolitana superaron los valores de referencia de 750 µg/kg.

Palabras clave: Acrilamida, HPLC, método QUECHERS, hojuela de papa, marcas comerciales.

SUMMARY

Context: Acrylamide is considered a carcinogenic compound and one of the main contaminants found in food. There is a need to determine its levels in the most widely distributed products such as potato chips, and compare it with reference values, such as that established by the European Union (750 µg/kg), to suggest acrylamide mitigation strategies. **Objective:** To analyze the levels of acrylamide in potato chip marketed in 2018 and compare their situation against the internationally established reference values. **Methodology:** 16 brands of potato chips (M1 to M16) from 9 producers were evaluated. They were analyzed by HPLC chromatography with a HILIC column, using the QUECHERS method for their extraction and cleaning with a recovery factor of 77.9%. Acrylamide levels were expressed in µg/kg and compared with the established values of the European Union. **Results:** 12 of the 16 brands, contained average levels of acrylamide between 868 and 2591 µg/kg; 2 of the 9 producers (manufacturer of brands M3, M6, M11 and M12) contained the lowest levels of acrylamide, with an average between 386 and 540 µg/kg. M1 and M8, brands with a greater distribution and probably greater consumption, presented acrylamide levels >1033 µg/kg. **Conclusion:** This work found an average content of acrylamide of 1234.18 µg/kg and that 75% of the brands of potato chips marketed in Metropolitan Lima exceeded the reference value of 750 µg/kg.

Keywords: Acrylamide, HPLC, QUECHERS method, potato snacks, commercial brands.

I. INTRODUCCION

I.1. Planteamiento del problema

La acrilamida es un compuesto clasificado por la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer como "probablemente cancerígeno para los humanos"(1). En 2001, el Comité Científico sobre Toxicidad, Ecotoxicidad y Medio Ambiente (Comisión de la Unión Europea) reveló sus propiedades nocivas de neurotoxicidad, la genotoxicidad en las células somáticas y germinales, la carcinogenicidad y la toxicidad para la reproducción (2).

Un evento medioambiental ocurrido en la península de Bjare (Suecia), llamó la atención de la población y diversas autoridades, debido a que vacas y peces de esta zona comenzaron a sufrir de parálisis y muerte. Las investigaciones concentraron la atención en la acrilamida, un compuesto usado en una mezcla impermeabilizante usado para la construcción de un túnel subterráneo (debajo de un rio), en la cual la acrilamida libre se disolvió y contaminó las aguas superficiales y tierras de este territorio (3).

Muchos trabajadores de la construcción de ese túnel, que mostraron efectos relacionados con la neurotoxicidad de la acrilamida, fueron monitoreados usando biomarcadores sanguíneos de la exposición a acrilamida. Sin embargo, y para sorpresa de los investigadores, niveles preocupantes de acrilamida fueron encontrados en los trabajadores expuestos y los controles (no expuestos). Ello llevó a la hipótesis de que estos niveles de acrilamida deberían provenir de otra fuente: la alimentaria (3).

Así, en el 2002, investigadores de la Universidad de Estocolmo (Suecia), informaron de un gran grupo de productos alimenticios que contenían acrilamida, los cuales hasta este momento eran considerados inofensivos desde el punto de vista toxicológico(4,5). Esto generó gran preocupación en la seguridad alimentaria de diversos países, debido a que muchos de estos productos eran alimentos de consumo generalizado, como el caso de los cereales, papas fritas, panes, galletas

y el café (6–10), por ello son las principales fuentes de exposición a la acrilamida en la dieta según la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA)(11).

Desde entonces, datos relacionados a acrilamida en alimentos fueron colectados y evaluados por organismos internacionales como la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) (12,13), el Comité Científico Alimentario de la Comisión Europea (SFC) y la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) (14,15), Administración de Medicamentos y Alimentos (Food and Drug Administration, FDA) (16), entre otros. Y ante los preocupantes datos, a nivel internacional, se han desarrollado varias iniciativas y esfuerzos para mitigar la formación de acrilamida en productos alimenticios. Por ejemplo, en el 2009, la Comisión del Codex Alimentarius (CCFAC), una organización internacional de establecimiento de normas alimentarias, y los Estados Unidos (representado por la FDA) prepararon un Código de Prácticas para la Reducción de la Acrilamida en los Alimentos, CAC/RCP 67-2009(17). En el 2016, la FDA emitió la versión final de una guía de recomendación para la industria alimentaria con el fin de reducir los niveles de acrilamida en el procesamiento de determinados alimentos (18). Por otro lado, desde el 2017, en la Unión Europea fue aprobado una reglamentación sobre medidas de gestión de riesgos reforzadas, incluyendo códigos de práctica obligatorios para mitigar la formación de acrilamida por los productores (19,20); lo cual ha llevado a establecer valores de referencia 500 µg/kg (antes 600 µg/kg) en el caso papas fritas listas para consumir y 750 µg/kg (antes 1000 µg/kg) para hojuelas de papas fritas, en vigencia desde el 11 de abril de 2018 en sus países miembros (20).

En el Perú, aunque desde el año 2016 existe una Norma Técnica Peruana para las hojuelas de papa frita (NTP 011.801:2016) elaborada por el Instituto Nacional de Calidad (INACAL), el documento se muestra ajeno al problema entorno de la acrilamida, y no lo considera como un contaminante nocivo, ni establece valores de referencia o sugiere medidas de mitigación a los productores(21).

Por otro lado, las hojuelas de papas fritas es uno de los productos de mayor consumo a nivel mundial, especialmente por la población joven (22,23), De hecho, productos producidos con papas fritas (incluido las hojuelas) pueden contribuir en un 56% de la ingesta total de acrilamida en la dieta occidental de los adolescentes(24). Por tanto, considerando el potencial efecto dañino de la acrilamida, el grupo etario más joven resultaría la más vulnerable.

Por todo lo expuesto anteriormente, y ante la carencia de datos en nuestro país, nos planteamos la cuestión: ¿Cuál es el nivel de acrilamida en hojuelas de papas fritas comercializadas en Lima Metropolitana en el año 2018?

I.2. Objetivo

Analizar los niveles de acrilamida en hojuela de papas fritas comercializadas en el año 2018 y comparar su situación con respecto a los valores de referencia establecidos internacionalmente.

I.2.1. Objetivos específicos.

Identificar cuáles son las hojuelas de papas fritas de mayor distribución en Lima Metropolitana en el año 2018.

Establecer la estrategia de cuantificación de contenido de acrilamida en hojuelas de papas fritas.

Cuantificar el contenido de acrilamida en diferentes marcas y productores de hojuelas de papas fritas de mayor distribución en Lima Metropolitana en el año 2018.

Cuantificar el contenido de acrilamida en diferentes lotes de producción de hojuelas de papas fritas de mayor distribución en Lima Metropolitana en el año 2018.

Comparar los niveles de acrilamida de las muestras analizadas con los valores de referencia internacionales.

I.3. Importancia y alcance de la investigación

El presente trabajo no tiene como objeto la crítica o denuncia a los fabricantes o marcas tomadas en cuenta para este estudio, sino aportar información de la situación del contenido de acrilamida en un producto de alto consumo por la población peruana como son las hojuelas de papas fritas, y que las autoridades pertinentes propongan medidas que ayuden en su monitorización en este y otros productos.

Este trabajo podría ser el punto de partida para actualizar la Norma Técnica Peruana respectiva (NTP 011.801:2016) (21) y la acrilamida sea considerada como un contaminante, además, promover la creación de una guía de orientación para los productores que permitan reducir los niveles de acrilamida en hojuelas de papas fritas. Finalmente, incentivar que se realicen estudios descriptivos, a escala nacional, para este y otros productos de alta distribución como hojuelas de camote frito, yuca frita, plátano frito, habas, etc.

I.4. Limitaciones de la investigación

Dentro de un ensayo cualitativo HPLC se considera que la complejidad de la matriz donde se encuentre el analito es uno de los principales desafíos. Siendo las hojuelas de papas fritas una muestra compleja, que presenta en su composición proteínas, aminoácidos, lípidos, carbohidratos, entre otros compuestos (25,26), la extracción de la acrilamida fue uno de los principales desafíos. En el presente trabajo, se realizaron estudios en diferentes protocolos de extracción y limpieza de la acrilamida desde hojuelas de papas fritas, así como de protocolos de detección e identificación, con la intención de determinar el porcentaje de recuperación.

La variedad de papa también impacta en la cantidad de acrilamida debido a diferencias en su composición química (27,28), específicamente de aminoácidos y azucares reductores que son compuestos que favorecen la formación de acrilamida. Por otro lado, la presencia de aditivos, implicarían interferencias en la cuantificación, por ejemplo absorción en el espectro UV de los colorantes (29) o saborizantes alimenticios (como ajos, cebolla, etc.) incrementaría la complejidad

de la matriz de la muestra de hojuelas de papas (30). Con la intención de reducir los interferentes, la selección de las muestras fue restringidas a hojuelas de papas fritas que hayan sido elaborados con tres componentes: papa (no nativa), aceite y sal.

Adicionalmente, hay variabilidad en torno a la forma de fabricación de las hojuelas de papas fritas, debido a que factores propios del proceso como tiempo de cocción, pH, temperatura de cocción, contenido de agua, etc. (31,32), por ello, se decidió utilizar criterios para seleccionar muestras desde productores formales.

Finalmente, debido a gran cantidad de marcas/productores disponibles en Lima Metropolitana y la cantidad de puntos de ventas (canales de distribución) de los mismos, la selección de muestras se convirtió en un importante obstáculo para el inicio de este trabajo. Para solucionar este inconveniente se analizó la situación de los canales de distribución en el año 2018, basado en un reporte de investigación de mercado para Snacks en Perú (Anexo 1), realizado por la agencia Euromonitor. Conforme a ello, se optó por seleccionar marcas/productores encontrados en los supermercados, hipermercados y tiendas de conveniencia, que representan el 16,5% de los canales de distribución.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

II.1. Antecedentes del estudio

Antecedentes internacionales

Ante la ocurrencia de contaminación por acrilamida en un rio de la península de Bjare (Suecia), en el año 1997, investigadores centraron su atención en la acrilamida y surgió la hipótesis que los alimentos sería una importante fuente de contaminación para el ser humano (3). Esta hipótesis fue corroborada por investigadores de la Universidad de Estocolmo (Suecia) dirigido por Tornqvist, entre los años 2000 y 2002, que informaron de un gran grupo de productos alimenticios que contenían acrilamida, los cuales hasta este momento eran considerados inofensivos desde el punto de vista toxicológico (4,5).

En el 2002, Tareke et al. realizó en Suecia, uno de los primeros estudios realizados en alimentos comercialmente disponibles y encontró que las hojuelas de papas fritas fue considerado uno de los principales productos con mayor contenido, en un rango de 1300 a 3900 µg de acrilamida por kilogramo de producto, usando técnica de cromatografía de gases o cromatografía líquida, ambas acopladas a espectrometría de masas (5), lo cual posteriormente se demostró que era debido a que su composición química (presencia de carbohidratos y aminoácidos) favorece la formación de este compuesto durante su procesamiento (33,34).

Entre los trabajos más interesantes se encuentra el realizado en España por Mesias y Morales (35) quienes evaluaron el contenido de acrilamida en hojuelas de papas fritas (40 marcas y 18 productores) entre los años 2004 hasta 2014, encontrando valores entre 108 a 2180 µg/Kg, y que los valores fueron reduciéndose en un 57,6 % desde el 2004, lo cual confirmó que las medidas de mitigación aplicadas o desarrolladas por los productores fueron efectivas.

Similares investigaciones fueron realizadas en Europa. En Suiza, entre 2007 y 2009, Biedermann et al. (36) evaluaron el contenido de acrilamida en hojuelas de papas fritas, encontrando que el contenido de acrilamida fluctuó entre

304 y 575 µg/Kg, aunque se detalla que una marca de hojuela de papas fritas fue obligada a retirar algunos de sus productos del mercado debido a que alcanzaba 7000 µg/Kg en el 2007, ello permitió que el 2009 el contenido de acrilamida se redujera a 420 µg/Kg, pero con intervención de sus autoridades. Otra investigación de interés, fue la realizada por Powers et al. (37) en 20 países de Europa durante 10 años, y que sirvió para mostrar que hubo una reducción de 53 % del contenido de acrilamida en hojuelas de papas fritas, se mostró que en 2002 desde 42 muestras se obtuvo una media de 763 µg/Kg, para el 2007 la media fue reducida hasta 570 µg/Kg desde 3206 muestras, y para el 2011 se obtuvo una media de 358 µg/Kg desde 12213 muestras.

Como hito importante, en el año 2009, se recomendó a los productores prácticas adecuadas para la elaboración de hojuela de papas fritas, establecidas por el Codex Alimentarius, con la finalidad de reducir los niveles de acrilamida (38). Por su parte la comunidad de la Unión Europea (UE) desde el 2007 recomendó a sus países miembros el monitoriamiento de los niveles de acrilamida en productos alimenticios(39), posteriormente en el año 2010, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) publicó resultados de datos recopilados en 2007 y 2008 en 21 países miembros de la UE (40), en la cual se mostró que el contenido de acrilamida en hojuela de papas fritas se había incrementado significativamente (aprox. 9 %) en el 2008 (40).

En el año 2013, basado en las datos de monitoriamiento entre 2007 y 2012, la UE estableció valores indicativos para la acrilamida en hojuelas de papas fritas, un valor de 1000 µg/Kg (19), el cual sería un valor que alerte la necesidad de investigar los métodos de producción y transformación por parte de los productores, cuando se superen estos valores. En el 2015, a la luz de nuevas evidencias del efecto tóxico de la acrilamida en animales, la Comisión Técnica Científica de Contaminantes de la Cadena Alimentaria de la UE (CONTAM) emitió un informe que exponía su preocupación con respecto a los efectos cancerígenos debido a contaminación por alimentos(11). Esto motivó que en el 2017, la UE adoptara nuevos valores de contenido de acrilamida, para hojuela de papas fritas fue 750 µg/Kg(20); este valor de referencia serviría para indicar la eficacia de las medidas de mitigación aplicadas por los productores (20).

Por otro lado, en Estados Unidos (a través de la Agencia de Administración de Alimentos y Medicamentos, FDA) existe el interés de la problemática de acrilamida en alimento, desde el año 2004 se desarrolló un plan de acción para la acrilamida en alimentos, que se enfocó sus lineamientos en el desarrollo de métodos de análisis, investigar el impacto en la salud humana y exposición alimentaria, así como educación, manejo de información y comunicación en relación a la acrilamida, entre otros (41).

Información publicada por la FDA mostró datos del 2011 de niveles de acrilamida en hojuelas de papas fritas, encontrando que de 115 marcas evaluadas el 14,8 % superaban el valor de 750 µg/Kg y 6 % contenían más de 1000 µg/Kg, entretanto en el 2015, de 42 marcas evaluadas el 23,8 % superaba 750 µg/Kg y 14,2 % 1000 µg/Kg(42).

Toda información recopilada por la FDA, llevaron a publicar un Borrador de Orientación para la industria alimentaria con respecto a la acrilamida en los alimentos, que tuvo carácter de opinión y mostraba enfoques para la reducción de acrilamida (43). Este borrador fue finalizado y publicado en 2016, luego de comentarios públicos (44), y aunque no establece valores límites en alimentos, se recomienda a los productores procedimientos orientados a la reducción de acrilamida, incluyendo información sobre materias primas, procesamiento e ingredientes. El resultado de esta iniciativa se observó en los datos publicados en el 2019, donde la FDA informó que el contenido de acrilamida en las papas fritas se había reducido con años anteriores, ello sugiere que la industria está utilizando estrategias de mitigación, y plantea continuar los esfuerzos para reducir la acrilamida(42).

En el ámbito más cercano, a nivel regional, existen investigaciones en Brasil, por ejemplo la investigación del Taylor et al. en el 2007 (45) donde se encontró una media de 591 µg/Kg de acrilamida en hojuela de papas fritas y valores entre 144 a 1999 µg/Kg en doce muestras evaluadas. En el 2015, en Colombia, Pacetti et al. hallaron una media de 916 µg/Kg con valores entre 82 y 1852 µg/Kg para cinco muestras evaluadas (46). En México, en un estudio de determinación de contenido de acrilamida en alimentos, realizado por Sánchez-

Otero en 2017(47) se encontró que las hojuelas de papas fritas son los alimentos con mayor contenido de acrilamida (desde 15 alimentos termoprocesados), alcanzando una media de 5914 µg/Kg. En Chile, Barrios-Rodríguez et al. reportaron en 2021 que una muestra de hojuela de papa frita contenía por encima de 1800 µg/Kg(48). No obstante, solo en Brasil se emitió un informe por parte de la Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria (ANVISA) de recomendación para mitigar la concentración de acrilamida (49).

Antecedentes Nacionales

En el Perú, la problemática de la acrilamida en alimentos ha sido presentada a la opinión pública en diversos medios de comunicación (Anexo 2), y se han realizado algunas investigaciones del contenido de acrilamida en muestras termoprocesadas como camote (50), galletas (51) y algarrobina(52). En el caso de la hojuela de papas fritas, un interesante estudio de acrilamida en hojuelas fritas de tubérculos nativos peruanos que incluyó muestras de papa nativa,(53)(53)(53)(53)(53)(53)(53)(53)(53)(53)(53)(53)(53)(53)(53)(53)(53)(53) realizado por Yaranga (53) en 2019, en el cual se evaluó condiciones de procesamiento para reducción de acrilamida, para el caso de la hojuela de papa nativa (añil) se encontraron valores por encima de 1576 µg/Kg.

En nuestro país existe conocimiento por parte de algunas autoridades sanitarias para la exposición humana ante este compuesto, por ejemplo, en el agua potable, el Reglamento de la calidad del agua para consumo humano establecido por el Ministerio de Salud, detalla un límite máximo permisible de 0,5 µg/L de acrilamida en el agua potable (54); sin embargo, en el caso de productos alimenticios no fue encontrado ningún reporte.

Para la elaboración de hojuela de papas fritas, desde el 2016, la Norma Técnica Peruana (NTP) N° 011.801:2016 establecida por el Instituto Nacional de Calidad, define requisitos para hojuela de papas fritas (21), y en este documento la acrilamida no es considerada como un agente contaminante y no se detallan medidas apropiadas que permita la mitigación por parte de los productores, las cuales han sido revisadas y recomendadas por el Codex Alimentarius, FDA, OMS y UE (20,38,44), que podrían servir como modelo a seguir.

En base a lo expuesto, creemos la necesidad de mostrar la problemática con respecto al contenido de acrilamida en este producto que es ampliamente consumido por la población e incentivar a realizar investigaciones de otros productos de presumible alto contenido de acrilamida. Como se ha observado en la Unión Europea, una adecuada enfoque de reducción de los niveles de acrilamida en los productos incluyen dos aspectos importantes: (a) una autoridad sanitaria que brinde lineamientos a los productores con el fin de mitigar este contaminante, y (b) una base de datos que permitan monitorizar el contenido de acrilamida y tomar medidas a las autoridades pertinentes. En este último aspecto, este trabajo aporta información relacionada de los niveles de acrilamida en hojuelas de papas comercializadas en el año 2018 en Lima Metropolitana.

II.2. Bases Teóricas

II.2.1. La acrilamida

La acrilamida es un compuesto químico que tiene diversas aplicaciones, en su forma de polímero, principalmente en el tratamiento de aguas, procesamiento de papel o pasta de celulosa y procesamiento de minerales. Las poliacrilamidas también son usadas para la formulación de plásticos y tintas, polímeros para lentes de contacto, construcción de estructuras como túneles y drenajes, aditivos (floculantes, espesantes, fijadores), estabilización de suelos, embalajes de alimentos, industria textil y cosmética. Además, es empleado en laboratorios de biología molecular y de ingeniería genética en la preparación de geles en la técnica de electroforesis (55).

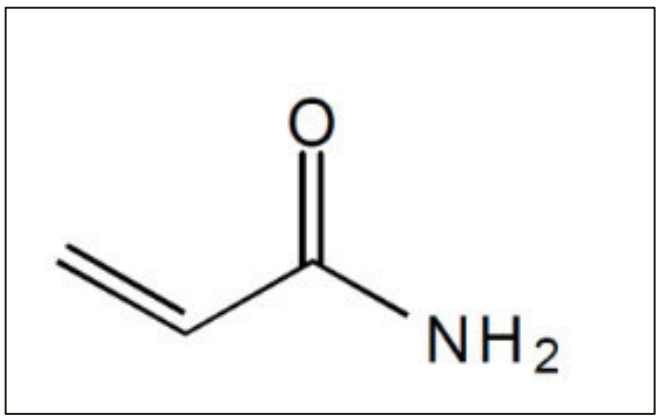


Figura 1. Fórmula estructural da acrilamida (56).

II.2.1.1. Características

La acrilamida o también conocida como 2-propenamida (C_3H_5NO), una molécula de baja masa molecular (71,09 g/mol) (Figura 1), con alta solubilidad en agua (2155 g/L), incolora, inodora y punto de fusión de 84,5 ºC (56). La solubilidad a 30 ° C es elevada en agua, metanol, etanol y acetona, mientras que en heptano y en benceno es menos soluble (Tabla 1)(57). La importancia de esta molécula en algunas reacciones se debe al hecho de poseer dos grupos funcionales, el grupo amida y su doble ligación etileno, que le confiere gran disponibilidad para un gran número de reacciones (56).

Tabla 1. Solubilidad de acrilamida en diversos solventes.

Solvente	Solubilidad (g/100 mL) a 30 ºC
Agua	215,5
Metanol	155
Etanol	86,2
Acetona	63,1
Acetonitrilo	39,6
Cloroformo	2,66
Benceno	0,35
n-Heptano	0,0068

Nota. La tabla representa una lista de solubilidad de la acrilamida en algunos solventes. Tomado de Eriksson (57).

II.2.2. Efectos de la acrilamida sobre la salud

El primer incidente que mostró el peligro de la acrilamida en la salud ocurrió en Suecia en el año de 1997. Ese compuesto fue usado en una mezcla impermeabilizante para la construcción de un túnel debajo de un río, en el cual la acrilamida libre se disolvió en el agua del río y causó parálisis y muerte de animales que usaban aquella agua. Asimismo, obreros de la construcción del túnel mostraron síntomas de toxicidad por la exposición a la acrilamida, que fue confirmada por un análisis clínico (acrilamida ligada a hemoglobina). Sin embargo, individuos que no participaron de la construcción del túnel (controles) presentaron

resultados semejantes a los individuos contaminados (3), lo cual dio el punto de partida para describir otras fuentes de acrilamida.

En el 2002, se describieron que alimentos procesados a altas temperaturas contienen acrilamida (5). Desde esta primera investigación, el nivel de acrilamida fue evaluado en todos los países de la Unión Europea (UE) y reportado por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) (58).

II.2.2.1. Efectos tóxicos

El bajo peso molecular y la elevada solubilidad de la acrilamida le permite atravesar fácilmente las membranas biológicas y desarrollar efectos tóxicos. Así, es importante conocer el comportamiento de la acrilamida en un organismo vivo en sus diferentes niveles para entender los riesgos involucrados.

II.2.2.2. Absorción, distribución, metabolismo y excreción

La acrilamida puede ser absorbida por las vías respiratoria, digestiva, dérmica e intraperitoneal (59), aunque la absorción por vía digestiva es más completa (8). La distribución a los tejidos es rápida. En un estudio realizado en ratas, la acrilamida fue distribuida en el músculo (48%), piel (15%), sangre (12%), hígado (7%), cerebro y médula espinal (menos de 1%) (60). También, fue encontrada en la leche y la placenta humana (61).

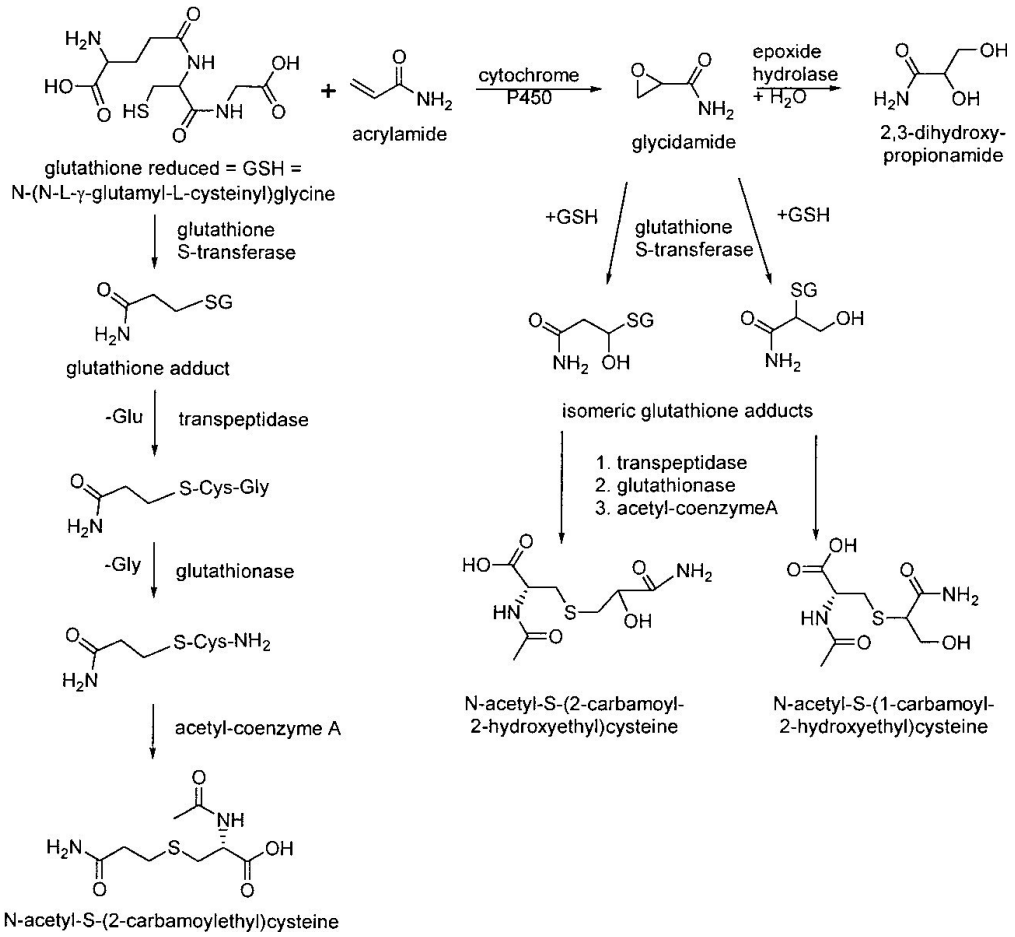


Figura 2. Vías metabólicas de la acrilamida (62).

La acrilamida es metabolizada principalmente en su conjugación con el glutation (GSH), catalizada por la enzima hepática glutation-S-transferasa (GST), además, puede ser metabolizada por enzimas del citocromo P450 (Figura 2). El metabolito de la exposición a acrilamida más importante es la glicidamida (GCM) al que se le atribuye potencial genotóxico, pues parece formar aductos más estables con el DNA, en comparación con la acrilamida (11,62). También, la acrilamida y la glicidamida pueden reaccionar con los residuos *N*-terminales de la valina de la hemoglobina (Figura 3), esta ligación (glicidamida-hemoglobina) forma aductos que son utilizados como biomarcadores para determinar la exposición de acrilamida (63).

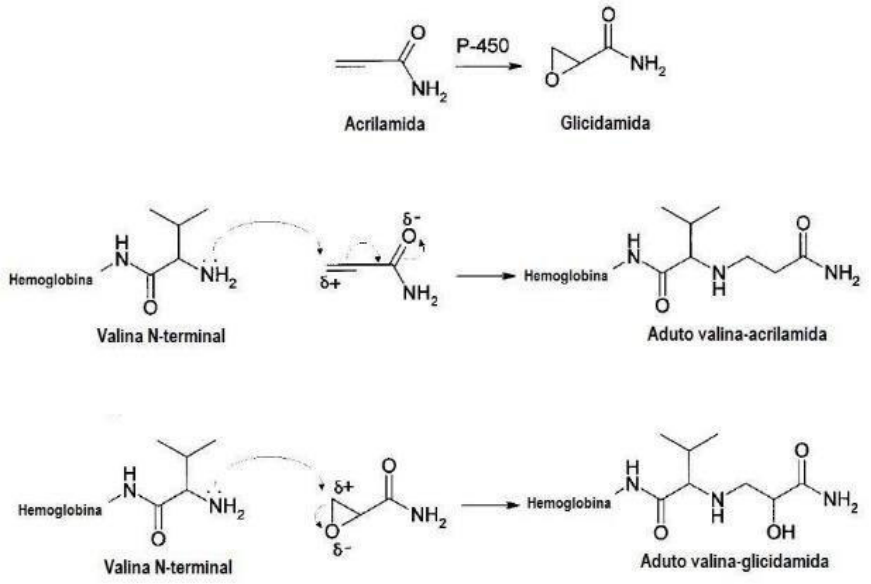


Figura 3. Vía metabólica de la formación de aductos con la hemoglobina (63).

Hay escasa data de la excreción de la acrilamida en humanos, aunque se conoce que la excreción del compuesto ocurre en 86 % bajo la forma de sus metabolitos, glicidamida y *N*-acetil-*S*-(3-amino-3-oxopropil)cisteína, predominantemente en la orina (64). También, mínimas cantidades son eliminadas en las heces (1%) y CO_2 (2%) exhalado (62).

II.2.2.3. Toxicodinámica

Los principales datos de los efectos tóxicos de la acrilamida, en la mayoría de los casos, fueron obtenidos de estudios realizados en animales o desde individuos expuestos ocupacionalmente.

II.2.2.3.1. Neurotoxicidad

Fueron reportados neuropatías periféricas, daños en las células de Purkinje y degradación de axónios distales en el sistema nervoso central (SNC) y sistema nervoso periférico (SNP). Puede ocurrir degradación de los nervios terminales que conlleva al deterioro de las funciones cognitivas y daños del córtex cerebral, tálamo e hipocampo (65). Puede ocurrir disfunción causada por la ligación a los grupos sulfhidrilos en las proteínas presinápticas, que reducen la liberación de neurotransmisores (66).

A partir de un estudio en ratas se determinó una dosis de no observación de efectos adversos (NOAEL) de 0,2 mg por kg de peso corporal por día (mg/kg_{pc}/día) y una dosis mínima de observación de efectos adversos (LOAEL) de 1,0 mg/kg_{pc}/día (13).

II.2.2.3.2. Efectos en la reproducción y desarrollo

No hay evidencias epidemiológicas de efectos tóxicos de la acrilamida en el aparato reproductor humano, sin embargo, los datos experimentales en animales son relevantes para ser considerado su potencial tóxico. En roedores, la acrilamida reduce el tamaño de sus crías y causa alteraciones de la morfología del espermatozoide. El mecanismo de acción tóxica de la acrilamida puede relacionarse por la unión de la acrilamida o glicidamida a proteínas de la espermátida, causando letalidad o alterando la morfología del espermatozoide (13,67). Las dosis establecidas de NOAEL general para efectos reproductivos y de desarrollo fue 2 mg/Kg_{pc}/día en ratas (13).

II.2.2.3.3. Genotoxicidad

La acrilamida presenta baja reactividad in vitro, sin embargo, luego de activación metabólica fue observado la formación de aductos de la glicidamida con el DNA (68). La acrilamida causa toxicidad de células germinales en estudios con ratones y ratas macho, por ejemplo, se determinó que la acrilamida induce una respuesta en la síntesis no programada de DNA de los testículos, que ocurre una ligación del DNA testicular con la acrilamida radiomarcada, paralelamente (69).

II.2.2.3.4. Carcinogenicidad

De acuerdo con la clasificación de la IARC, las sustancias se clasifican en grupos 1; 2A; 2B; 3 y 4, para agentes carcinogénicos en humanos; probable carcinogénico en humanos; posible carcinogénico en humanos; no clasificable en relación a la carcinogenicidad en humanos; y no probable carcinogénico, respectivamente (1).

Aunque, en diversos estudios realizados, no ha sido descartada ni demostrada asociación epidemiológica positiva entre el consumo de acrilamida y la tumorogénesis. Un estudio de exposición ocupacional abarcó a trabajadores de cuatro fábricas de acrilamida, tres en los EUA y una en Holanda, en la cual las tasas de mortalidad fueron comparadas con los índices de mortalidad esperados sus respectivos países, y fue concluida que hay poca evidencia de la relación entre la exposición ocupacional a la acrilamida y la mortalidad por cáncer (70). Para el caso del cáncer de páncreas entre trabajadores expuestos a acrilamida se relataron un aumento de la tasa de incidencia (70,71).

La mayoría de los estudios epidemiológico en humanos no ha encontrado evidencia significativa para una asociación positiva entre la exposición a la acrilamida a partir de la dieta y el riesgo de desarrollar algún tipo de cáncer, aunque en el caso de cáncer renal, endometrial y ovárico, algunos estudios informaron un aumento del riesgo (72).

De manera más específica en el caso del consumo de productos derivados de papas fritas se han reportado estudios epidemiológicos, por ejemplo, en Italia y Suiza, entre 1991 y 2000, fueron realizados estudios de casos y controles para establecer la asociación entre el consumo de papas fritas y riesgo de cáncer de la cavidad oral, faringe, esófago, laringe, intestino grueso (colon y de recto), mama y ovario, y fue encontrada poca evidencia entre el consumo de papas fritas y riesgo para algún tipo de cáncer (73). En otro estudio de casos y controles, se analizó la relación del consumo de alimentos fritos y cáncer de laringe, y se observaron aumentos significativos cuando hay gran consumo de carnes fritas, pescados, huevos y papas (74).

A pesar que la relación de a acrilamida como factor desencadenante de cáncer en humanos no ha sido expuesta contundentemente, se toma en cuenta que evidenciar el aumento de la incidencia específica de tumores por un factor tiene un alcance limitado para una ciencia predominantemente observacional como la epidemiologia. Entonces, la ausencia de resultados epidemiológicos positivos entre la exposición a acrilamida y el riesgo de cáncer positivos, no debe ser interpretada como prueba que acrilamida induzca y/o contribuya en el proceso

cancerígeno, sino que es necesarios realizar estudios a largo plazo (11). Por ello, y basado en la evidencia en animales y que su metabolismo genera glicidamida en mamíferos, la acrilamida está incluida en grupo 2A de la clasificación IARC, que representa a un compuesto probable carcinógeno en humanos.

II.2.3. Exposición de la acrilamida

La exposición humana a la acrilamida es dependiente de diversas fuentes. Por ejemplo, al tabaco se ha descrito como una importante fuente de acrilamida (75). También, el agua potable también es una fuente de importancia, por ello se han establecido límites permisibles, para el caso de Perú es 0,5 µg/L (54). Inclusive, los cosméticos debido a que utilizan poliacrilamidas en sus formulaciones contienen monómeros residuales producto de su incompleta polimerización, y se podrían encontrar concentraciones de acrilamida entre los 10-1000 µg/kg (76).

La vía digestiva es considerada la vía de absorción más rápida y completa (8). Además, se estima que la alimentación podría contribuir al 30% del total de casos de cáncer (77). Por ello, la correcta estimación del riesgo que representa la ingesta de acrilamida por consumo de alimentos representa una importante necesidad en diversos países del mundo, pues permite definir límites y condiciones de exposición a la ingesta de alimentos que contienen cierto contaminante, y de esta manera evaluar su nivel de seguridad para las personas,

II.2.3.1. Exposición alimentaria

Al tratarse de productos alimentarios, la estimativa de la exposición de acrilamida por la dieta se basa en un cálculo que involucra los contenidos de acrilamida en los alimentos y los padrones alimenticios en una determinada población.

Fue reportado que altas temperaturas durante el procesamiento y el bajo contenido de agua de los alimentos influye en la mayor formación de acrilamida (5), con excepción de algunos alimentos como las aceitunas negras (550 µg/Kg) y el zumo de ciruelas (270 µg/Kg) (6) (Tabla 2).

Tabla 2. Concentración de acrilamida en las porciones de los principales alimentos utilizados en las estimativas de exposición en los EUA.

Alimento	ACM (µg/Kg)	Porción (g)	ACM (µg) porción
Cereal de desayuno	131	55	7,3
Café instantáneo	8,5	240	3,2
“Postum” (bebida a base de trigo)	93	240	22,3
papa frita (restaurantes)	333,7	70	23,3
papa frita (redes de “Fast Food”)	697,8	70	48,8
Hojuela de papas fritas	545,9	30	16,4
Aceituna negra	550	15	8,2
Jugo de ciruela (botella)	174	140	24,4

Nota. Tomado de Dinovi (6).

La acrilamida se encuentra en un gran porcentaje de la productos alimentarios de la dieta; por ejemplo, en los Estados Unidos se estima que 38% de los alimentos que contribuye en la ingesta calórica contienen acrilamida (78). No obstante, la exposición a acrilamida desde la dieta va depender de algunos factores como tamaño de las porciones ingeridas, costumbres alimenticias (cultural, regional, etc.). Así, alimentos de baja concentración de acrilamida, como el pan, pueden igualmente ser una fuente importante de acrilamida debido a su consumo en gran escala (79), y si está en la forma de tostada, los niveles de acrilamida pueden aumentar hasta diez veces (80).

En países occidentales la mayor parte de la acrilamida consumida proviene del pan, galletas, papas fritas y café, debido a su cantidad y frecuencia (Tabla 2)(6,11). El café, en algunas poblaciones que contribuye como fuente de importancia en el total de la exposición de acrilamida, como en los países escandinavos que alcanza hasta 39 % (9,10,81), mientras que en otros el panorama es muy diferente, por ejemplo, en los Estados Unidos el café representa un 7% y los productos fritos de papa contribuyen en 35% (82), y esto considerando a la población general.

Por otro lado, las fuentes de exposición alimentaria de acrilamida varían en importancia al analizar el consumo por grupos etarios. Así, en Noruega, las

hojuelas de papas fritas es la segunda fuente que contribuye con aproximadamente 20% a la ingesta de acrilamida para la población general, mientras que en niños y adolescentes (entre 9 - 13 años) se relató entre 55 – 65% proviene del consumo de hojuelas de papas fritas, galletas mantequilladas y galletas dulces (10). De forma similar, en Holanda se describió al café como la fuente más importante en la población general (1 a 97 años, figura 4a), mientras que en los niños entre 1 a 6 años fue el consumo de "snacks", el alimento de mayor importancia (Figura 4b)(83).

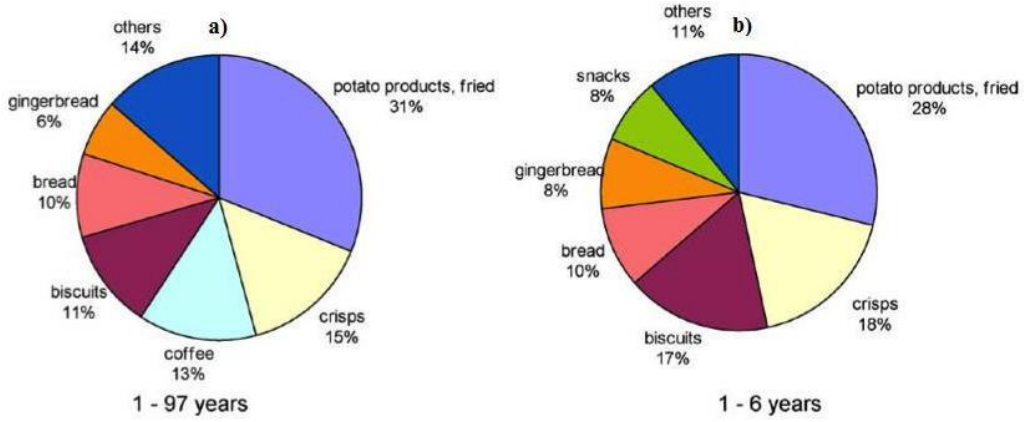


Figura 4. Contribución (%) del tipo de alimentos en la exposición de la acrilamida en la población: a) población total; b) niños menores de 6 años (83).

En 2002, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y la Organización Mundial de la Salud (FAO/WHO) concluyeron que la exposición a acrilamida presenta una ingesta media general entre 0,3 y 0,8 $\mu g/kg_{pc}$/día (12). En el año 2005, la ingesta media general fue reportada para 1,0 $\mu g/kg_{pc}$/día (13). Por su parte, la EFSA en el 2015 indica que la ingesta general de acrilamida esta entre 0,4 y 1,9 $\mu g/kg_{pc}$/día(84).

Tabla 3. Estimativa de exposición humana a acrilamida desde productos alimentarios en algunos países de la Unión Europea.

Media Límite mínimo-Límite máximo (µg/kg/día)	Grupo de población	País
0,9–1,0	Infantes	Bulgaria
1,3–1,6		Alemania
0,8–1,0		Dinamarca
0,7–0,8		Finlandia
0,8–1,1		Reino Unido
0,5–0,7		Italia
1,9	Niños	Bélgica
1,5		Bulgaria

1,3–1,4		Alemania
0,9		Dinamarca
1,4		España
1,2–1,3		Finlandia
1,4–1,5		Reino Unido
1,1–1,2		Italia
1,3		Holanda
0,6	Adolescentes	Bélgica
0,4		Alemania
0,5		Dinamarca
0,8		España
0,5		Finlandia
0,6		Francia
0,8–0,9		Reino Unido
0,7		Italia
0,9		Holanda
0,5	Adultos	Bélgica
0,4		Alemania
0,4-0,5		Dinamarca
0,4		España
0,5		Finlandia
0,4		Francia
0,5		Reino Unido
0,4-0,5		Italia
0,6		Holanda
0,5	Adultos mayores	Bélgica
0,4		Alemania
0,4-0,5		Dinamarca
0,4-0,5		Finlandia
0,4		Francia
0,4-0,5		Reino Unido
0,4		Italia
0,5		Holanda

Nota. Adaptado de EFSA/CONTAM (11).

La mayoría de estudios de estimaciones de exposición a acrilamida fueron realizados en Europa y Norte América (6,11), y son expresados en μg/kg_{pc}/día, como mostrado en la Tabla 3. Sin embargo, la población más joven es la más vulnerable basado en su peso corporal y sus hábitos alimentarios. Así, se estima que los niños ingieren dos o tres veces superior a los adultos (12), lo cual también es corroborado por los resultados obtenidos en diversos países de la Unión Europea (Tabla 3). En el 2015, la EFSA también nos indica que los niños tienen una ingesta mayor que adultos, siendo la ingesta en niños entre 0,5 y 1,9

µg/kg$_{pc}$/día, mientras que la ingesta de adultos o adolescentes en el rango de 0,4 y 0,9 µg/kg$_{pc}$/día(84).

II.2.4. Formación de acrilamida en alimentos

Durante el procesamiento térmico de los alimentos ocurre una reacción química entre los carbohidratos reductores y los grupos amino libres de proteínas o aminoácidos, llamada reacción de Maillard, que provoca el desarrollo compuestos (melanoidinas) que le dan características favorables de color y olor al producto alimenticio (85). A pesar de las ventajas de la reacción de Maillard, también hay ciertas consecuencias no deseadas, tales como (a) pérdida de nutrientes, (b) formación de productos finales de glicación avanzada (AGEs) relacionadas con el envejecimiento, y (c) la generación de compuestos tóxicos como la acrilamida (85).

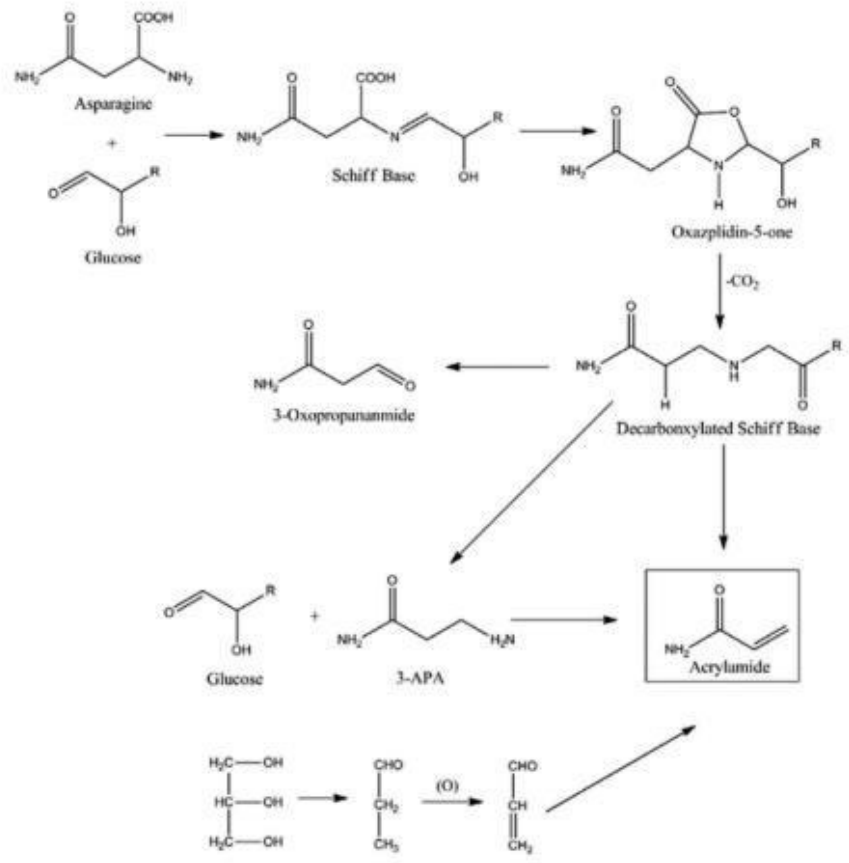


Figura 5. Vías propuestas de la formación de acrilamida por reacción de Maillard y via de acroleina (86).

Después de la via de reacción de Maillard, la segunda via de formación de más aceptada es la via de la acroleína (Figura 5), la cual ocurre cuando el aceite (contenido de triacilgliceroles) es calentado por encima de su punto de humo, donde el glicerol sufre una degradación que da como resultado la formación de acroleína. La acroleína se oxida a ácido acrílico, que proporciona la fuente de carbono, y en presencia de asparagina (grupo amino) (86).

II.2.4.1. Factores que influencian en la formación de acrilamida

Se han reportado diversos factores que pueden influir en la formación de acrilamida en los alimentos: concentración de los precursores de su formación, la temperatura, el tiempo de exposición a altas temperaturas, la cantidad de agua y el pH.

Un estudio demostró que la presencia de asparagina es un factor importante, más de 98% de asparagina radiomarcada con $_{15}N$ es usada para formar acrilamida en altas temperaturas, lo cual no es observada cuando es usado solamente glucosa. Además, fue mostrado que otros azúcares (D-fructosa, D-galactosa, sacarosa y lactosa) y el aminoácido metionina también podría formar acrilamida (87).

La temperatura es un factor relevante en la influencia de factores externos ligados al mecanismo de formación de acrilamida (5). En este estudio, fue observado que a partir 120 °C ocurre la reacción para formación de acrilamida (Figura 6).

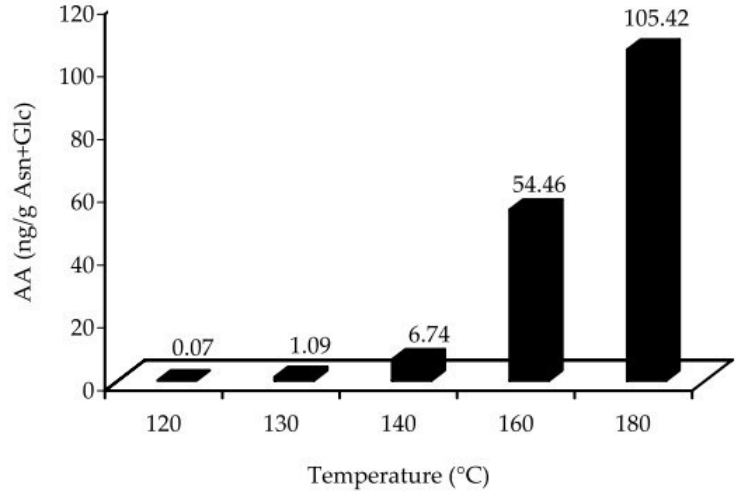


Figura 6. Influencia de la temperatura en la formación de acrilamida a partir de la reacción de asparagina y glucosa luego de 20 min (5).

Los niveles de acrilamida formada pueden ser reducida en un pH más bajo (31), lo cual es usado para mitigar su formación remojando 20 min en solución de ácido cítrico, aunque con riesgo de alteración en el sabor del producto(88). La presencia del agua es un factor de importancia pues permite crear condiciones de movilidad para los precursores, y el mínimo de formación de acrilamida se observó en el contenido de agua entre 25 y 40 % (32).

II.2.5. Papa (*Solanum tuberosum*)

La papa fue el alimento básico en la dieta de nuestros ancestros y su cultivo se remonta a los años 4400 a 3100 de nuestra era; su difusión al resto del planeta fue considerada un verdadero tesoro. En el Perú, la papa es consumida a gran escala y en diversas presentaciones, de entre ellas, las hojuelas de papas fritas van ganando arraigo en la población de Lima Metropolitana. Por estar clasificado como “probablemente carcinógeno para los seres humanos" (Grupo 2A) por el Centro Internacional de Investigaciones sobre Cáncer (IARC) (89), es necesario determinar cuáles son los factores que influencian su formación en las hojuelas de papas fritas. Así, hay factores intrínsecos que dependen de la composición química de diversas variedades de papas, presencia de aminoácidos (en particular, la asparagina) y de azucares reductores (glucosa, fructosa); y factores extrínsecos que dependen del suelo de cultivo, fertilización, almacenamiento y reacondicionamiento (25).

II.2.5.1. Composición química y nutricional de la papa

De acuerdo a la FAO, la composición de la papa consiste en 72-75 % de agua, 16-20 % de almidón, 2-2,5 % de proteína, 1-1,8 % de fibra y 0,15 % de ácidos grasos (25). El almidón representa entre el 60 a 80 % del contenido de materia seca, el cual es constituido por 21 % de amilosa, 75 % de amilopectina, 0,1 % de proteína y 0,08 % de fósforo (90).

II.2.6. Formación de acrilamida en papas

En el caso de la papa, la alta formación de acrilamida se explica por el alto contenido de aminoácidos libres, en especial la asparagina (libre) (91). La asparagina frecuentemente representa cerca de 40% del total de aminoácidos (Figura 7); comparado con este aminoácido, las concentraciones de glucosa y fructosa varían entre 101 y 103 mg/kg (92). En otra investigación, se detalla que la papa contiene las siguientes concentraciones: asparagina (2030 a 4250 mg/Kg) y glutamina (hasta 2060 mg/Kg). Los azúcares predominantes en la papa son la glucosa (97 a 2550 mg/Kg), la fructosa (30 a 1537 mg/Kg) así como la sacarosa (430 a 1597 mg/Kg) (93).

El contenido de azúcares, tiene un gran impacto en la formación de acrilamida, como descrito por Taeymans *et al*. y Dunovska *et al.* (26,92), quienes identificaron a la glucosa y fructosa, inclusive la sacarosa (azúcar no reductor), como principales precursores de su formación (94). Otro trabajo mostró la correlación entre azucares reductores y el potencial de formación de acrilamida en muestras de papas de la cosecha de 2003 en Suiza (95), los resultados mostraron que la fructosa y la glucosa presentaron un coeficiente de correlación de 0,9404 y 0,9245, respectivamente. También se mostró que el contenido de azucares reductores están influenciados por el clima, condiciones de cultivo, así como de almacenamiento siendo estos factores críticos para la formación de acrilamida por lo que controlando estos factores se podría disminuir el contenido de acrilamida en productos finales a base de papa (93).

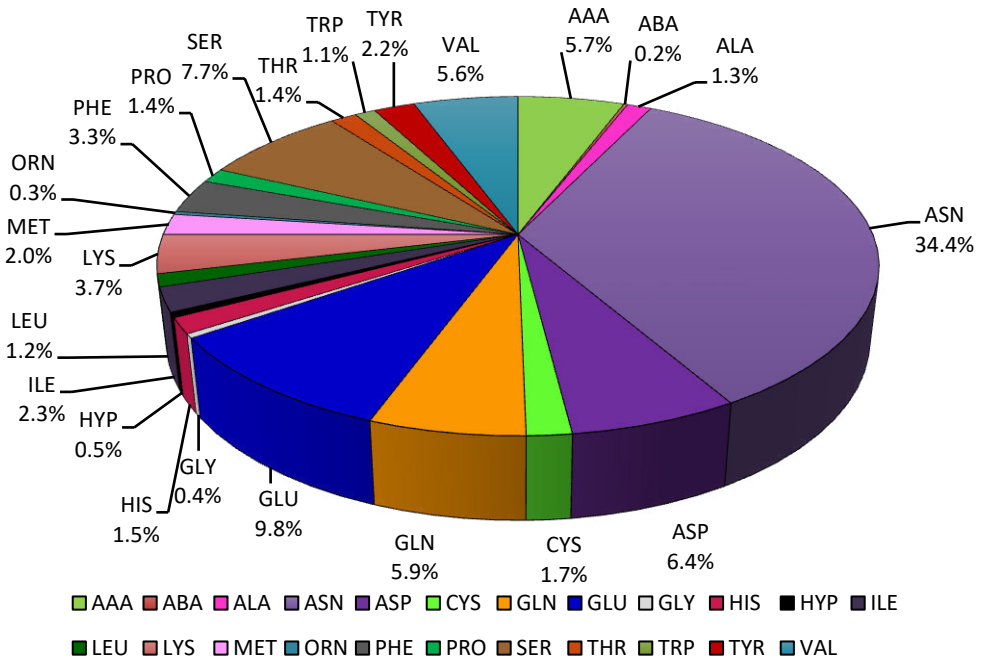


Figura 7. Distribución porcentual de aminoácidos libres en la papa (media de 124 muestras independientes); AAA-Ácido aminoadípico, ABA-Ácido aminobutírico, ALA-Alanina, ASN-Asparagina, ASP-Ácido aspártico, CYS-Cisteína, GLN-Glutamina, GLU-Ácido glutámico, GLY-Glicina, HIS-Histidina, HYP-Hidroxiprolina, ILE-Isoleucina, LEU-Leucina, LYS-Lisina, MET-Metionina, ORN-Ornitina, PHE-Fenilalanina, PRO-Prolina, SER-Serina, THR-Treonina, TRP-Triptófano, TYR-Tirosina, VAL-Valina (26).

La temperatura influye directamente sobre la cantidad de acrilamida producida en papa, se mostró que en 20 min de cocción a 200 °C se alcanza un máximo de concentración de acrilamida; también, el aumento del pH puede llevar a un aumento de la acrilamida formada, por ejemplo, cuando el pH sube de 2,9 a 5,7, a 180°C de cocción, la acrilamida aumenta cerca de 50% (Figura 8) (31).

El impacto del área de superficie expuesta y los niveles de oscurecimiento fueron evaluados en la generación de acrilamida en papas fritas. Las concentraciones de acrilamida fueron superiores a 1000 µg/Kg, cuando se utilizaron temperaturas arriba de 120 °C, y los mayores niveles de formación ocurrieron en muestras que fueron ralladas (hasta 18000 µg/Kg) (96).

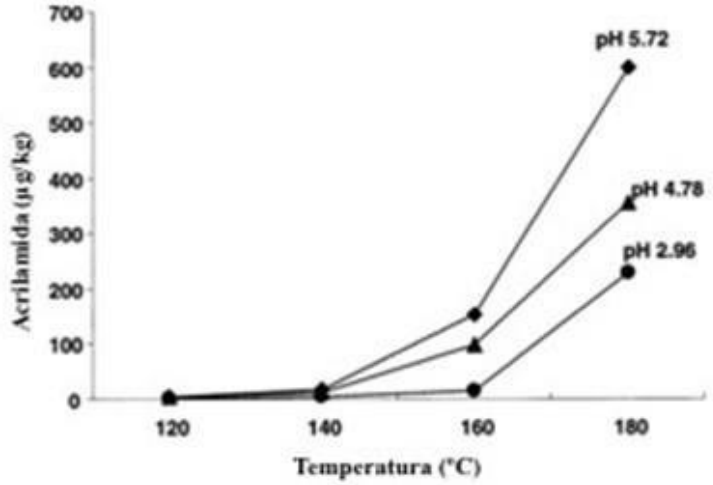


Figura 8. Efecto de la diminución del pH y del aumento de la temperatura en la concentración de acrilamida (µg/kg) en papas termoprocesadas durante 25 min (31).

Por otro lado, se ha relatado que el almacenamiento de los productos alimentarios luego del envasado puede variar el grado en acrilamida. En un estudio se mostró que la acrilamida puede variar para algunos alimentos durante el tiempo de estantería (7) (Tabla 4). No obstante, para el caso de las papas fritas se demostró que no hubo variación significativa de la acrilamida entre dos y seis meses de almacenamiento (28).

Tabla 4. Estabilidad del contenido de acrilamida en diferentes alimentos en función del tiempo.

Alimento	Tiempo (meses)	Nivel de acrilamida (µg /kg)	
		inicial	final
Achicoria tostada	5	4015	3395
Café soluble	12	771	256
Cebada tostada	9	265	225
Cereales de desayuno	12	238	238
Achicoria seca	5	214	174
Café tostado	7	203	147
Cacao	3	180	177

Nota. Tomado de Delatour (7).

II.2.7. Acciones gubernamentales y de organismos internacionales

Una vez que se conoció el riesgo alimenticio de la acrilamida en la salud humana, la primera iniciativa fue promovida por la FAO/OMS en el año 2002, una

reunión de especialistas denominado "Health Implications of Acrylamide in Food" (Implicaciones a la salud de la acrilamida en alimentos) (12), que sugirió investigar sobre métodos analíticos, mecanismos de formación en alimentos, implicancias toxicológicas, biodisponibilidad, la exposición en humanos. También se propuso seguir el principio de "as low as reasonably achievable" (principio ALARA), el cual establece que se tomen las medidas necesarias para reducir al mínimo la presencia de un contaminante (12).

En Estados Unidos, la FDA promovió iniciativas desde el año 2002, tales como el desarrollo de un plan de acción de acrilamida en alimentos, desarrollo de métodos analíticos, análisis de 2600 productos alimenticios y fomento de la investigación sobre las toxicología, exposición y medidas de mitigación (97). En el 2006, se publicaron los datos sobre el contenido de la acrilamida recogidos durante los años 2002-2004, en la encuesta denominada "survey data on acrylamide in food" (16).

A pesar de todos los esfuerzos realizados, la FDA no ha establecido valores de referencia para los niveles de acrilamida en alimentos. El estado de California es un caso especial, que a pesar de años de disputa judicial, es el único estado que posee una regulación por el cual obliga a que las empresas alerten a los clientes del potencial cancerígeno si sus productos contienen acrilamida (uno de los productos químicos listados en la Propuesta 65) (98).

En la UE, el Comité Científico de Alimentos evaluó la presencia de acrilamida en alimentos, dentro del contexto de las implicancias de seguridad alimentaria y sugirió que la acrilamida en los alimentos deben ser reducida a lo mínimo posible, y planteó promover la investigación que ayuden a crear estrategias de mitigación, principalmente, a la industria alimentaria (14). Para el 2007, la Comisión Europea planteó monitorear anualmente los niveles de acrilamida en productos alimenticios, lo cual permitió establecer en el año 2011 los primeros niveles de referencia o niveles indicativos. Posteriormente, en el 2013 los niveles de referencia fueron revisados por el Panel científico CONTAM de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) (97).

Tabla 5. Valores indicativos de Acrilamida para diferentes productos alimentarios. El símbolo asterisco (*) indica cereales no integrales ni de salvado. La categoría se determina en función del cereal presente en mayor cantidad.

Género alimenticio	Valor indicativo (µg/kg)
Papas fritas listas para consumir	500
Hojuela de papas fritas (o chips) fabricadas con papas frescas y con masa de papas, galletas saladas a base de papas u otros productos con masa de papas	750
Pan de molde	
a base de trigo	50
otro pan de molde	100
Cereales de desayuno (excepción porridge)	
productos de salvado y cereales integrales, grano inflado	300
productos a base de trigo y centeno (*)	300
productos a base de maíz, avena, espelta, cebada y arroz (*)	150
Galletas y barquillos	350
Galletas saladas, excepto las de papa	400
Pan crujiente	350
Pan de especias	800
Productos similares a los demás productos de esta categoría	300
Café tostado	400
Café instantáneo (soluble)	850
Galletas para lactantes y niños de corta edad	150
Alimentos elaborados a base de cereales para lactantes y niños de corta edad, excluidos las galletas	40

Nota. Tomado y adaptado de EFSA (20).

Con base en los datos conocidos, la Comisión Europea en colaboración con la industria ha delimitado nuevo valores de referencia para la acrilamida en diferentes tipos de alimentos (20). Estos valores no son considerados como valores de seguridad, y solo representan valores indicativos, con el fin de promover una mayor investigación y monitoriamiento de los alimentos con altos valores de acrilamida, y conseguir consecutivamente la reducción de su formación

(Tabla 5). Siguiendo el principio de ALARA del enfoque de mitigación, estos valores serán revisados cada tres años por la Comisión Europea, y en el futuro se podría plantear niveles permisibles o legales.

La FDA creó una base de datos disponible *online* referente para monitorear los niveles de acrilamida en productos alimentarios (16). La Unión Europea también posee una base de datos (15) con resultados disponibles de sus países miembros. En estas bases de datos se muestran que el café y las papas están entre los productos que contribuyen para una mayor exposición a la acrilamida.

Además, la FDA, la OMS y la UE, también han desarrollado guías prácticas dirigidas a las industrias que promueven la reducción de la acrilamida en los alimentos. Así, tenemos el código de prácticas propuesta por la OMS, referencia CAC/RCP 67-2009 (17), la "Guidance for Industry Acrylamide in Foods" de la FDA (44) y "Reglamento 2017/2158" de la UE (20).

Considerando este panorama, es evidente que el problema de contaminación de los alimentos por acrilamida están siendo atendidas en diferentes países, como previsto por la OMS(12) y, es importante que todos los países estén dentro de este contexto.

II.2.8. Métodos de análisis de acrilamida en hojuelas de papas fritas

Dado que la acrilamida presenta baja masa molecular, elevada reactividad y falta de grupo cromóforo, esta presenta un desafío para ser extraída desde matrices alimentarias con bajo contenido de acrilamida y por tanto vuelve difícil su detección y cuantificación (11). Este desafío es mayor si la matriz contiene una mezcla compleja de interferentes, como el caso de las papas fritas, que contienen carbohidratos, proteínas y lípidos.

Es necesario realizar un tratamiento a la muestra, en la cual ocurre la extracción del analito y posterior etapa de limpieza (*clean-up*). La mayoría de los procesos de extracción usa agua para disolver las muestras debido su alta solubilidad en este solvente (57,99). No obstante, el solvente de extracción puede ser también una mezcla de agua con un solvente orgánico (11). Además, para

mejorar la extracción el solvente puede ser calentado y/o emplearse un baño de ultrasonido (99,100).

El paso de limpieza consiste en remover otros compuestos que forman parte de la matriz compleja de los alimentos. Dependiendo del contenido lipídico, las muestras exigen un desengrasado en el procedimiento de limpieza, como el hexano (99). En la limpieza de las matrices puede ser hecha por los métodos de limpieza clásicos, como extracción en fase sólida (SPE), sin embargo se procuran métodos que exigen menos reactivos químicos y permitir una separación más rápida, como el método de la dispersión de la matriz en fase sólida (MSPD)(99). Otro método, cada vez más popular, es el método relatado por Anastassiades, basado en la extracción con acetonitrilo (101), el cual es conocido como método QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*) o extracción rápida, sencilla, barata, efectiva, robusta y segura. Esta metodología de extracción puede complementarse con una limpieza en fase sólida dispersiva (SPEd), adicionando una fase solida de aminas primaria/secundaria, PSA (*primary and secondary amine*) a la mezcla de extracción, donde se ligan interferentes (99,101,102).

Una vez extraído el analito, la acrilamida es analizada por diversos métodos, los principales son cromatografía de fase gaseosa (GC) y cromatografía de fase líquida (LC), en la mayoría de los casos acoplados a espectrometría de masas (MS), que en este último caso resulta en costos muy elevados (11). Así, una alternativa de bajo costo es el uso HPLC acoplado a un detector de diodos (HPLC-DAD)(103,104). Además, la estrategia en la retención de la molécula polar de acrilamida debe ser avaluada en columnas convencionales en cromatografía liquida de fase reversa, como el caso de columnas C18 descritas por algunos estudios (103,104), o mediante el desarrollo de cromatografía de interacción hidrofílica (HILIC), en donde la fase estacionaria polar retiene componentes altamente polares, los cuales se eluyen con una mezcla de solvente orgánico y agua (105,106).

III. HIPOTESIS Y VARIABLES

III.1. Hipótesis

Los niveles de acrilamida en hojuelas de papas fritas comercialmente disponibles en Lima metropolitana en el año 2018 superan a los valores de referencia establecidos por organismos internacionales.

III.2. Variables

El presente trabajo de investigación tiene un enfoque cuantitativo y nivel descriptivo. En tal sentido, la variable de este estudio es el nivel de acrilamida en hojuela de papa frita.

III.3. Operacionalización de variables

Variable	Definición conceptual	Dimensión	Indicador	Instrumento
El nivel de acrilamida en hojuela de papa frita.	Es la concentración de acrilamida presente en una cantidad de hojuela de papa frita	µg de acrilamida por kg de producto.	Tiempo de retención del pico cromatográfico del estándar puro y la muestra. Área del pico cromatográfico. Valores de referencia.	Cromatografía de interacción hidrofílica.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

IV.1. Equipos, materiales y reactivos

Se usaron equipos y materiales debidamente calibrados y calificados, respectivamente. Además de reactivos de alta pureza especificados para su uso en Cromatografía Líquida de Ultra Rendimiento (UPLC).

IV.1.1. Equipos

- Balanza analítica: Balanza Radwag AS220/C/2 (EE.UU.), balanza Boeco BAS 31 Plus. (Alemania).
- Baño ultrasonido: Ultrasons HD (JP Selecta, España).
- Equipo de cromatografia: UHPLC Ultimate 3000 (Thermo Fisher Scientific, EE.UU.).
- Centrifuga: Centrífuga EBA 20 (Hettich Instruments, Alemania) y centrífuga universal PLC-012E (Gemmy Industrial Corporation, Taiwán).

IV.1.2. Materiales y reactivos

- Beaker 50 mL
- Espátulas
- Papel metálico
- Tubos falcón de 10 mL, 50 mL
- Micropipetas 200 µL, 1000 µL, 5000 µL
- Piseta
- Probetas graduadas de 10 Ml
- Viales
- Kit Bond Elut QuEChERS salt packet (contiene 4 g de MgSO4 anhidro y 0,5 g de NaCl)
- Kit Bond Elut QuEChERS Dispersive SPE, tubo de 2 mL (contiene 150 mg MgSO4 & 50 mg PSA)
- Columna cromatografica: Aquity UPLC BEH HILIC (150 mm x 2,1 mm, 1,7 µm; Waters Corporation. USA)

- Ácido acético, grado HPLC (Sigma Aldrich, USA)
- Acetonitrilo, grado HPLC (Sigma Aldrich, USA)
- Heptano, grado HPLC (Sigma Aldrich, USA)

IV.2. Tipo y diseño de investigación

Según las características del estudio se trata de un tipo de investigación descriptiva, diseño observacional, analítico, transversal y se utilizará el método cuantitativo para determinar la concentración de acrilamida en muestras de hojuelas de papas fritas.

IV.3. Población y unidad de estudio

Nuestra población son hojuelas de papas fritas no nativas no saborizadas con registro sanitario (RS) vigente durante el año 2018 y disponibles en Lima Metropolitana. Para conocer esta población fue revisada la base de datos de la Dirección General de Salud Ambiental e Inocuidad Alimentaria (DIGESA). De un total de 141 RS (Figura 9), 126 RS corresponden a hojuelas de papas fritas no nativa. De este último grupo, 76 hojuelas de papas con RS no son saborizadas, y es considerada nuestra población.

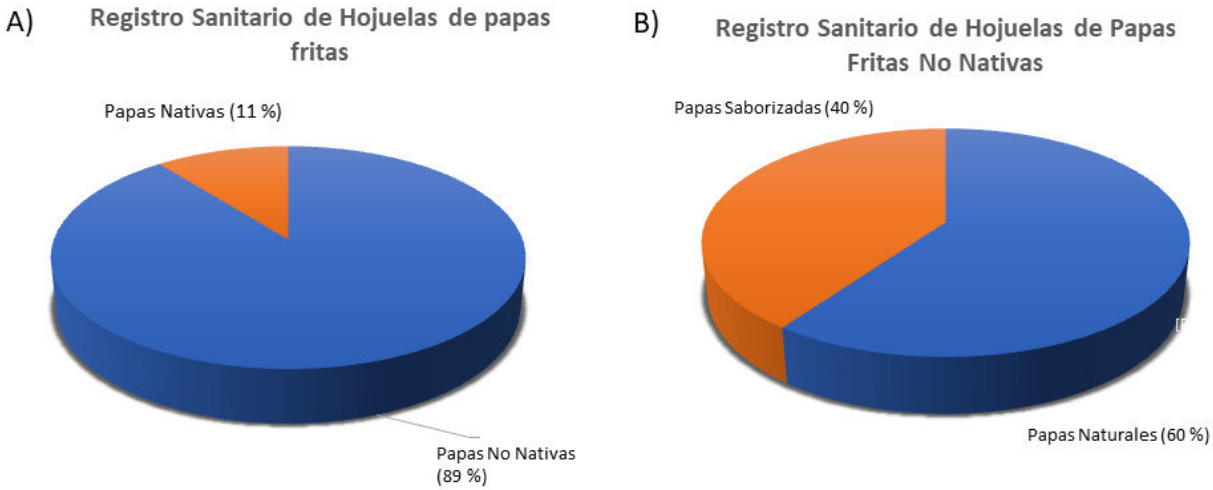


Figura 9. Hojuelas de papas fritas en Lima Metropolitana; (A)Total de Registros Sanitarios (RS) (141 RS) en relación al uso de papas nativas o no nativas; (B) Registros sanitarios para hojuelas de papas fritas no nativas (126 RS). Fuente: base de datos de DIGESA

IV.4. Muestra

Estuvo conformada de 15 muestras de hojuelas de papas fritas con registro sanitario y una muestra sin registro sanitario, es decir 16 marcas distintas y provenientes de 9 productores diferentes, además fueron incluidos dos lotes adicionales en 3 de las 16 marcas. Todas las muestras estaban ubicadas en los sectores este, oeste, norte y sur de la región de Lima Metropolitana.

IV.5. Recolección y obtención

Se tomaron las muestras de hojuelas de papas fritas utilizando un plan de muestreo no probabilístico intencional o de conveniencia y tomando en cuenta los siguientes criterios de selección: hojuelas de papas fritas no nativas con aceite y sal, lugares con buenas prácticas de almacenamiento, hojuelas de papas fritas con registro sanitario, y las de mayor distribución.

Tomando en cuenta datos obtenidos desde un reporte anual de investigación de mercado de bocaditos salados en Perú en el año 2018 sobre los canales de distribución y crecimiento de este tipo de productos (Anexo 1) se evaluaron los puntos de recolección de muestras, que abarca supermercados e hipermercados (Tottus, Vivanda, Plaza Vea, Metro, Makro, Maxiahorros, Wong, Mayorsa, Candy) y tiendas de conveniencia (Tambo, Mass, Listo, Precio Uno, Viva) en los sectores Lima Norte (Los Olivos, Independencia, Comas), Lima Este (San Juan de Lurigancho, Ate), Lima Centro (Cercado de Lima, Miraflores, Jesús María, Surco), Lima Sur (Chorrillos, San Juan de Miraflores).

Las 16 muestras de hojuelas de papas recolectadas fueron codificadas desde M1 hasta M16, y agrupadas de acuerdo a su respectivo productor, en total 9 productores, codificados desde P1 hasta P9. Se tomaron 3 muestras del mismo lote por cada marca. Adicionalmente, para la evaluación de la variabilidad entre lotes se tomó 2 lotes diferentes de las marcas M6, M11 y M13.

IV.6. Procedimientos, técnicas e instrumentos de recolección de información

IV.6.1. Determinación de acrilamida por cromatografía líquida de interacción hidrofílica (evidencia Anexo 4 y 5).

IV.6.1.1. Análisis preliminar en cromatografía líquida

Con el fin de determinar el mejor desempeño de la corrida cromatográfica se evaluaron dos condiciones distintas para la separación cromatográfica de acrilamida y metacrilamida. Primero se usó la columna C18 Agilent (150 mm x 2,1 mm, 3,0 µm; Agilent Technologies, CA, USA), con las siguientes condiciones cromatográficas: fase móvil (97,5:2,5:0,1) acetonitrilo:metanol:ácido fórmico (107), temperatura columna fue 30 °C, un flujo de 0,2 mL/min y un tamaño de muestra de 10 µL. En otras se usó las siguientes condiciones: fase estacionaria columna Aquity UPLC BEH HILIC (150 mm x 2,1 mm, 1,7 µm; Waters Corporation. USA), fase móvil fue una solución de acetonitrilo: agua (97:3) en presencia de ácido acético glacial 5 mM, una temperatura de 40 °C, un flujo de 0,2 mL/min y un tamaño de muestra de 5 µl, mientras que la detección ultravioleta fue a 200 nm.

IV.6.1.2. Análisis preliminar de pruebas de recuperación para determinar el mejor método de limpieza de la muestra

Con el fin de determinar el mejor método de limpieza de la muestra, se realizaron pruebas de recuperación en diferentes sorbentes en fase sólida o dispersiva:

a. Uso de columnas de extracción en fase sólida (SPE) con sorbente Oasis HLB: fue usado el cartucho Oasis HLB 1cc (Waters, MA, USA), el cual fue acondicionado con 1 ml de metanol y, luego, equilibrado con 1 ml de agua a una velocidad de dos gotas por segundo utilizando una jeringa (sin uso de vacío). Inmediatamente, se pasó 1 ml del extracto a través del cartucho a una velocidad de una gota por segundo usando una jeringa. Las primeras diez gotas fueron descartadas para evitar cualquier dilución de la muestra, es decir, se espera que

ocurra el desplazamiento del agua contenida en la fracción vacía del sorbente por la muestra.

b. Se usó el kit Disque QuEChERS clean-up, código 186004832 (25 mg amina primaria y secundarias, 125 mg de MgSO4, 25 mg C18) (Waters, MA, USA). Fue transferido 1 mL de la fase acetonitrilo a un tubo de 2 mL kit Disque QuEChERS clean-up, la muestra fue homogenizada por 2 min en vórtice a 3000 rpm. Finalmente, el tubo fue centrifugado a 10000 rpm por 10 min, y fue tomado el sobrenadante para el análisis por cromatografía HPLC.

c. Se usó el kit Disque QuEChERS clean-up, código 186008080 (750 mg MgSO4, 250 mg PSA, 150 mg C18, and 150 mg Al-N) (Waters, MA, USA). Fue transferido 6 mL de la fase acetonitrilo a un tubo de 15 mL kit Disque QuEChERS clean-up, la muestra fue homogenizada por 2 min en vórtice a 3000 rpm. Finalmente, el tubo fue centrifugado a 10000 rpm por 10 min, y fue tomado el sobrenadante para el análisis por cromatografía HPLC.

IV.6.2. Análisis de acrilamida por cromatografía líquida de interacción hidrofílica

A. Cuantificación de acrilamida.

La acrilamida fue analizada mediante cromatografía de interacción hidrofílica (HILIC) con detección ultravioleta a 200 nm siguiendo los parámetros recomendados Pule y Torto (106); los ensayos fueron realizados en el Laboratorio de Tecnologías Limpias y/o Emergentes de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional de Trujillo. Una vez realizada la extracción de acrilamida de las muestras de hojuelas de papas fritas por el método QuEChERS, 1 mL fue transferido a viales de vidrio para el análisis por columna HILIC. Una solución de acetonitrilo: agua (97:3) en presencia de ácido acético glacial 5 mM fue utilizado como fase móvil, las muestras fueron sometidas a HILIC, usando una columna Aquity UPLC BEH HILIC (150 mm x 2,1 mm, 1,7 µm; Waters Corporation. USA) con una temperatura de 40 °C, un flujo de 0,2 mL/min y un tamaño de muestra de 5 µl, mientras que la detección ultravioleta será a 200 nm.

B. **Solución estándar de acrilamida**

Se preparó una solución estándar de acrilamida (20 µg/ml) a partir de un padrón de 1000 µg/mL, en el cual se tomó 200 µL de la solución padrón y se disolvió en 10 mL de acetonitrilo (factor de dilución, FD: 50), de la misma manera se preparó una solución de padrón interno de metacrilamida de concentración final de 1 µg/mL a partir de una solución madre de 1000 µg/mL en el cual se tomó 10 µL de esta solución y se disolvió en 10 mL de acetonitrilo (FD:1000), ambos se almacenaron a 4ºC hasta su uso.

C. **Método del padrón interno**

Se prepararon una serie de concentraciones decrecientes del padrón acrilamida (µg/mL) las cuales fueron: 1,0; 0,8; 0,6; 0,4; 0,2; 0,1; 0,05 a partir de una solución madre. Se añadieron a cada solución una misma cantidad de padrón interno de metacrilamida (0,2 µg/mL), y posteriormente fueron analizadas siguiendo el protocolo de cuantificación, de esta forma se obtuvieron los distintos cromatogramas de los padrones (un cromatograma para cada disolución patrón), afín de evaluar la variación de los tiempos de retención del analito en cuestión, en este caso la acrilamida.

D. **Disoluciones del ensayo**

Se prepararon concentraciones de estándar de trabajo de acrilamida: 0.075, 0.1, 0.15, 0.2, 0.3, 0.4, 0.6 µg/mL en acetonitrilo a partir de una solución stock, para la elaboración de la curva de calibración. Estos se colocaron inmediatamente en la bandeja de viales del UHPLC, acondicionada a 15ºC, para su análisis inmediato. Se trazó las señales de pico como área o altura (eje y) contra la concentración de las soluciones estándar de calibración de acrilamida [µg / mL] (eje x), y se preparó la curva de calibración usando regresión lineal.

IV.6.3. Extracción de acrilamida

El método usado se basa en la extracción líquida de compuestos polares en presencia de alta concentración de sales y acetonitrilo, relatado por Anastassiades et. al. (101) y Mastovska (101,108). Un gramo de muestra de

hojuela de papa frita fue homogenizado con 9 mL de agua ultrapura, y 1 mL de una solución de padrón interno de metacrilamida (200 ηg/mL), utilizando un equipo ultrasonido por 15 min. Luego fue adicionado 5 mL de n-hexano y homogenizado usando un agitador tipo vórtex a 3000 rpm por 2 min, con el fin de eliminar el contenido oleoso. Seguidamente, fue adicionado 10 mL de acetonitrilo, y agitado en vórtice por 2 min a 3000 rpm.

Finalmente, fue adicionado del kit de extracción salino para acrilamida SampliQ QueCheRS, código 5982-5850, (4 g de MgSO4 y 0,5 g de NaCl) (Agilent, CA, USA) y homogenizado por 2 min en vórtice a 3000 rpm y sonicado por 5 min. La mezcla fue centrifugada a 4000 rpm por 10 min, que formó 3 fases: superior (hexano), medio (acetonitrilo), inferior (acuosa). Fue descartado la fase superior. La acrilamida fue particionada en la fase media. En etapas iniciales, las muestras fueron fijadas (*spiking*) utilizando un padrón de acrilamida, para lo cual fue adicionada de solución de 1 mL de 1000 µg/mL al inicio del proceso de extracción.

IV.6.4. Fase de limpieza:

A partir de la fase orgánica de la etapa de extracción, es decir, la acrilamida contenida en el acetonitrilo, se empleó un sistema de limpieza en fase sólida dispersiva, en el cual se usó el kit Disque QuEChERS clean-up, código 186004832 (25 mg amina primaria y secundarias, 125 mg de MgSO4, 25 mg C18) (Waters, MA, USA). Fue transferido 1 mL de la fase acetonitrilo a un tubo de 2 mL kit Disque QuEChERS clean-up, la muestra fue homogenizada por 2 min en vórtice a 3000 rpm. Finalmente, el tubo fue centrifugado a 10000 rpm por 10 min, y fue tomado el sobrenadante para el análisis por cromatografía HPLC.

IV.6.5. Concentración de acrilamida en muestras de hojuelas de papas fritas

Se calculó la concentración de acrilamida expresada en µg/mL en las muestras de hojuelas de papas fritas usando la ecuación de la recta previamente validada:

$$C\ ACRI = \frac{S\ ACRI - 0.0378}{3.3155}$$

Donde C ACRI (µg/mL) es la concentración de acrilamida, en µg/mL en la parte alícuota de la solución de prueba inyectada y correspondiente al área del pico de acrilamida; S ACRI es la señal del pico de acrilamida obtenido del cromatograma de la solución de prueba del área bajo la curva expresada en mAU x min; 3.3155 es el valor de la pendiente de la función lineal; y 0.0378 es el valor donde la función de calibración intercepta el eje y. Se calculó la fracción de masa, W ACRI, de acrilamida en µg/g usando la siguiente ecuación (109).

$$W\ ACRI = \frac{C\ ACRI\ x\ V1\ x\ V3}{W\ x\ V2}$$

Donde W ACRI es la fracción de masa de acrilamida, en µg/g, en la parte alícuota de muestra de prueba o gramo de producto de hojuelas de papas fritas; C ACRI es la concentración de acrilamida, en µg/mL, en la alícuota de la solución de prueba inyectada y correspondiente al área del pico de acrilamida; V1 es el volumen en mL, del disolvente utilizado para la extracción de la muestra de prueba; V2 es el volumen en mL, de la alícuota de solución de muestra de prueba aplicada sobre el kit Disque QuEChERS de la fase de limpieza o purificación; V 3 es el volumen final, en mL, de la solución de prueba; y W es el peso, en g, de la muestra de prueba extraída. Al utilizar los volúmenes descritos en este procedimiento, el cálculo se simplifica a (109):

$$W\ ACRI = C\ ACRI\ x\ 5$$

IV.6.6. Comparación de datos en base al cumplimiento de valores internacionales.

Los resultados se expresaron en µg de acrilamida por kg de hojuelas de papas fritas. Posteriormente se contrastó los valores obtenidos con la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria de la Unión Europea; para acrilamida el máximo fue de 1000 µg/kg como valor indicativo para su versión inicial, el cual fue reducido en el año 2018 a un valor de 750 µg/Kg siendo este la referencia vigente (20).

IV.6.7. Pruebas de recuperación

Para determinar la eficacia del método, este fue evaluado por medio de las pruebas de recuperación. Se procedió elaborando un blanco al azar de muestra de hojuela de papas fritas las cuales fueron fortificadas con acrilamida padrón en diferentes concentraciones: 0,075; 0,1; 0.15; 0,2; 0,3; 0,4 y 0,6 µg/mL. Los resultados fueron expresados en porcentajes de recuperación con su respectivo coeficiente de variación.

IV.7. Procesamiento y análisis de datos

Fue utilizado estadística descriptiva para el análisis de datos. Las curvas de calibración para acrilamida se analizarán por coeficiente de determinación (R2), siendo aceptadas mayor a 0,99. La comprobación de dos medias de diferentes tratamientos se realizará por el examen de t Student, con un nivel de significancia de 0,05. Comparaciones entre las muestras serán realizadas por análisis de variancia (ANOVA).

V. RESULTADOS

Para la selección de marcas con registro sanitario se usó la base de datos DIGESA, considerando que sean hojuelas de papa no nativa no saborizadas que tienen como ingredientes papa no nativa, aceite y sal, en su elaboración (Figura 9 y Anexo 3). Además, se consideró los principales canales de distribución para bocadillos, según un reporte de la Agencia Euromonitor (Anexo 1), las cuales abarcan supermercados, hipermercados y tiendas de conveniencia. En la Tabla 6 se presenta la distribución de las 16 muestras de hojuelas de papas seleccionadas en este estudio, y su comercialización en supermercados, hipermercado y tiendas de conveniencia en Lima Metropolitana, codificadas desde M1 hasta M16, y agrupadas de acuerdo a su respectivo productor, desde P1 hasta P9.

Tabla 6. Hojuelas de papas fritas disponibles comercialmente en supermercados y tiendas de conveniencias de Lima Metropolitana durante el año 2018. Papas naturales (aceite vegetal, papa no nativa y sal). Fecha de recolección de datos: Marzo-Abril de 2018. PV: Plaza Vea; VV: Vivanda; MH: Maxiahorro; PU: Precio Uno,

Marca	Productor	Registro Sanitario	Supermercados/Hipermercados									Tiendas de conveniencia					
			Wong	Tottus	PV	VV	MH	Makro	Mayorsa	Candy	Metro	PU	Mass	Tambo	Listo	Repshop	Viva
M1	P1	SI	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
M2	P2	SI		x													
M3	P3	SI										x					
M4	P1	SI						x	x								
M5	P4	SI						x									
M6	P5	SI					x										
M7	P6	SI								x							
M8	P7	SI	x	x	x	x			x		x			x	x	x	x
M9	P8	NO								x							
M10	P9	SI		x										x	x		
M11	P3	SI		x	x									x	x		x
M12	P5	SI					x	x	x								
M13	P9	SI		x										x			
M14	P9	SI									x						
M15	P9	SI			x								x				
M16	P9	SI	x	x										x	x		

Fuente propia.

Con el fin de establecer el mejor desempeño en la corrida cromatográfica para la acrilamida padrón, se realizaron ensayos de cromatografía con dos diferentes columnas y fases móviles (Figura 10); de este ensayo preliminar, se seleccionó una columna de interacción hidrofílica (HILIC) en la cual que el pico aparece en un tiempo de retención de 2,8 min (Figura 10A), mientras que en la columna C18, el pico de la acrilamida es eluido muy tempranamente y se observa al inicio del cromatograma (Figura 10B). Además, se observó que la acrilamida tuvo menor variabilidad con respecto al tiempo de retención y altura de pico en la columna Aquity UPLC BEH HILIC.

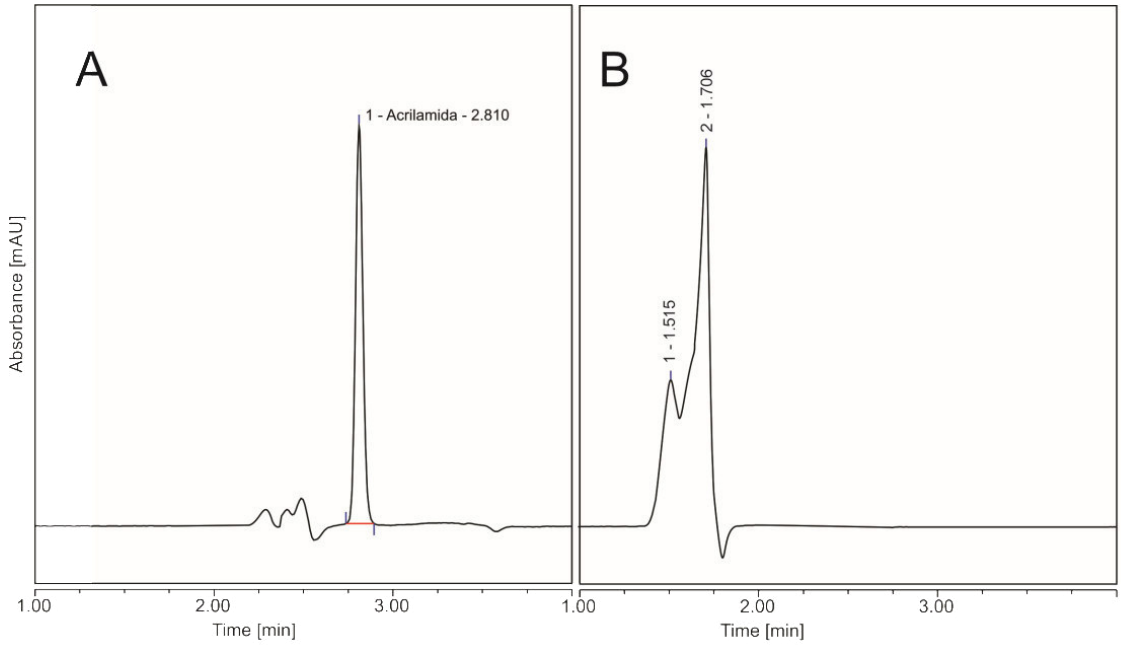


Figura 10. Cromatograma de acrilamida padrón en columna HILIC (A) y C18 (B).

En el caso de la cromatografía usando la columna Aquity UPLC BEH HILIC, fue observado (Figura 11), que los picos detectados corresponden al acetonitrilo (diluyente de la muestra, Figura 11A), acrilamida (Figura 11B) y metacrilamida (Figura 11 C); mostrando que el pico de la acrilamida tuvo una mejor resolución y aparece al final de los tres picos mencionados, con un tiempo retención con 2,8 min (Figura 11 D).

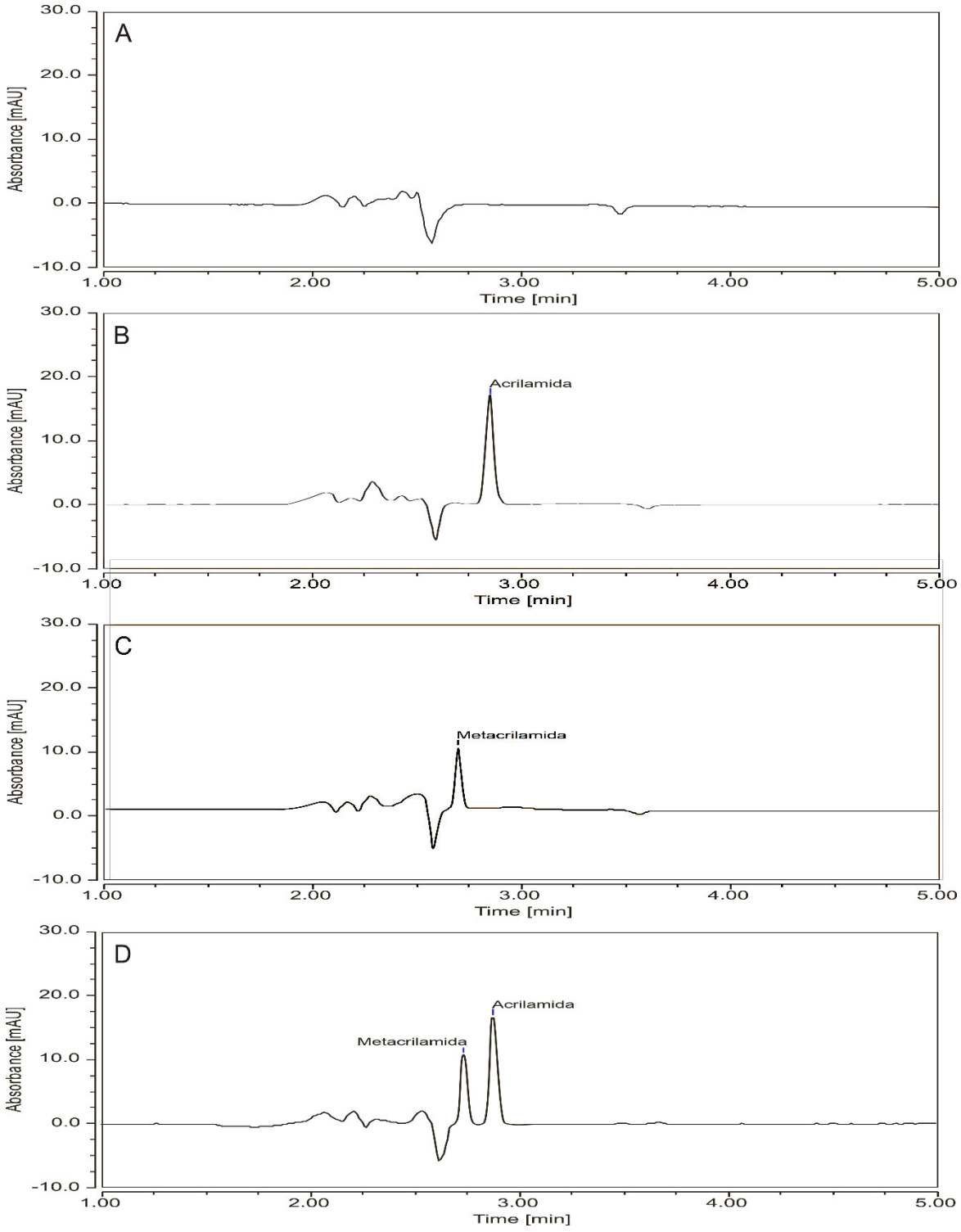


Figura 11. Cromatogramas de análisis en HPLC de Acrilamida padrón. Cromatograma para acetonitrilo (A); cromatograma de acrilamida padrón (B); cromatograma de metacrilamida (C), cromatograma de la mezcla acrilamida y metacrilamida (D).

También, fue evaluado el tiempo de retención del pico de la acrilamida en presencia de otros compuestos que podrían estar presentes en la muestra, como

acroleína y acrilonitrilo (Figura 12), se observó que estos compuestos aparecen a partir de 3,8 min en el cromatograma.

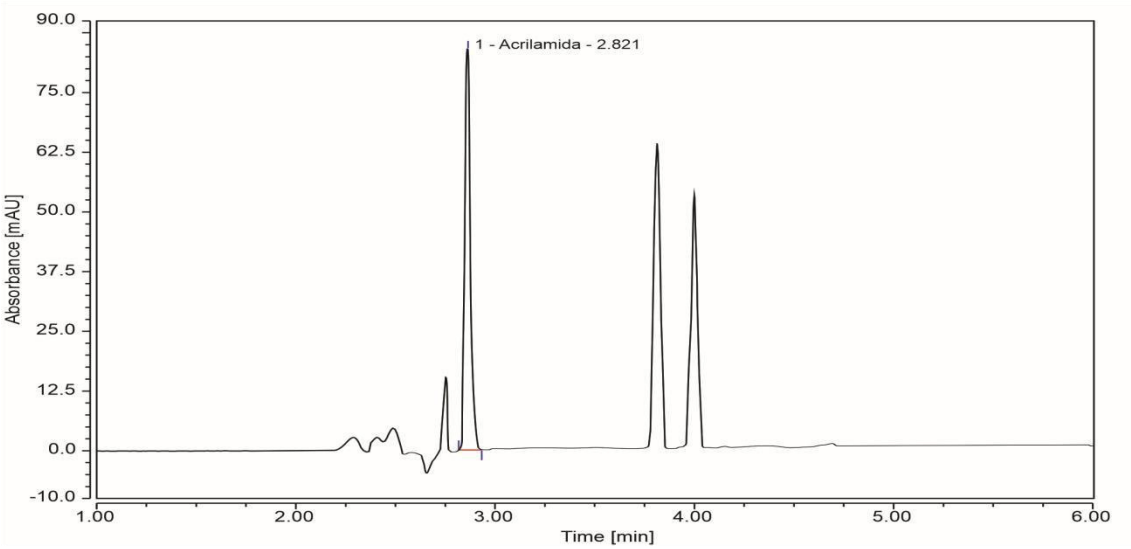


Figura 12. Análisis de especificidad de cuatro padrones: acrilamida, acroleína, metacrilamida y acrilonitrilo.

En la Tabla 7 se presentan datos de la recuperación de acrilamida desde la hojuela de papas fritas fortificadas con acrilamida padrón, usando extracción en fase sólida (SPE) (sorbente Oasis HLB) o extracción en fase sólida dispersiva (SPEd) para este último caso llamado QUECHERS en presencia o ausencia de alúmina. Se observó que SPE ofrece la menor eficiencia de recuperación, mientras que QUECHERS en ausencia de alúmina fue el más eficiente.

Tabla 7. Comparación métodos de extracción SPE, método QUECHERS, método QUECHERS alúmina neutra

Método de extracción	Área padrón	Área recuperada	% de recuperación
SPE	2,044 ± 0,07	0,951 ± 0,07	45,5 ± 3,44
QUECHERS+ Alúmina	2,038 ± 0,03	1,206 ± 0,07	58,4 ± 3,68
QUECHERS	2,011 ± 0,01	1,615 ± 0,02	79,9 ± 1,21

La figura 13, muestra los cromatogramas de los picos de acrilamida en diferentes concentraciones, de manera decreciente desde 1,0 hasta 0,05 µg/mL (Figura 13A – 13G) y la presencia de metacrilamida (0,2 µg/mL), el cual fue constante para usarse como padrón interno y permitió evaluar la variabilidad de la acrilamida, con respecto a la variación de las áreas y los tiempos de retención.

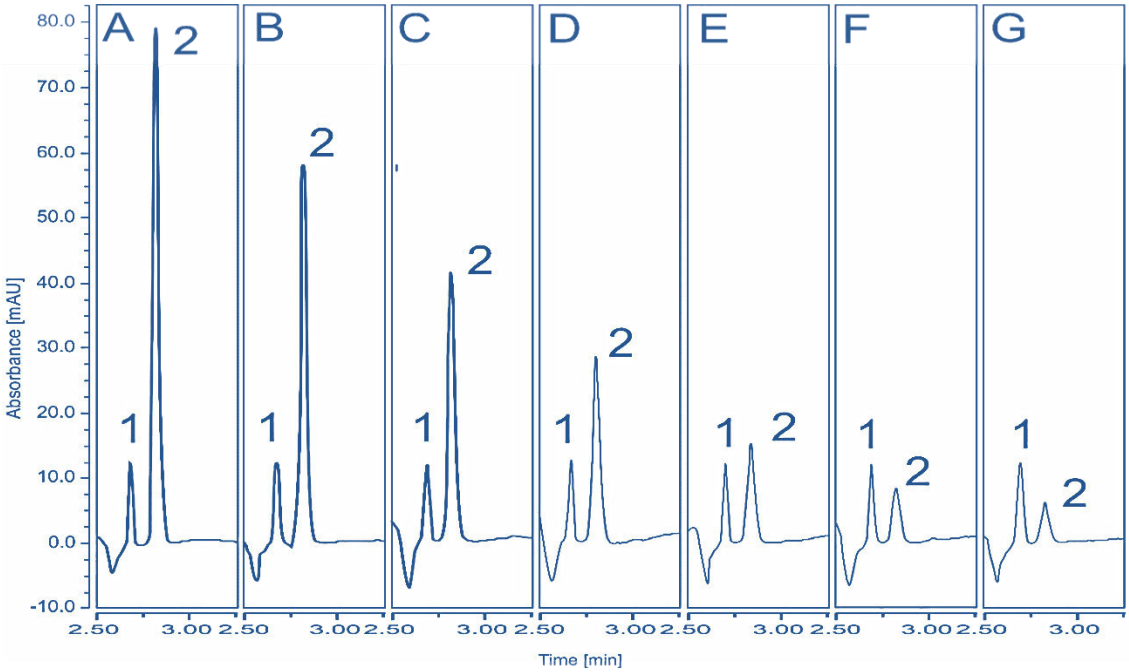


Figura 13. Cromatogramas de acrilamida padrón en diferentes concentraciones. Uso de metacrilamida 0,2 µg/mL como padrón interno. Concentraciones de acrilamida padrón (µg/mL):1,0 (A); 0,8 (B); 0,6 (C); 0,4 (D); 0,2 (E); 0,1 (F); 0,05 (G).

La figura 13, muestra los cromatogramas de los picos de acrilamida en diferentes concentraciones, desde 0,05 hasta 1,0 µg/mL y la presencia de metacrilamida (0,2 µg/mL), el cual fue constante para usarse como padrón interno y permitió comprobar preliminarmente la variabilidad de las corridas cromatográficas, con respecto a la variación de las áreas y los tiempos de retención.

La interacción de la matriz de la muestra fue evaluada en la Figura 14, para ello la muestra de hojuela de papas fritas fue fortificada con acrilamida y metacrilamida, es decir, se adicionó acrilamida padrón a una concentración conocida previo a la etapa de extracción, asimismo, fue adicionado metacrilamida como padrón interno. Se muestra el cromatograma del blanco sin adición de acrilamida ni metacrilamida (Fig. 13B) y el cromatograma de una muestra con adición de metacrilamida. Se observaron picos correspondientes a la metacrilamida y acrilamida en un tiempo de retención de 2,68 min y 2,77 min, respectivamente.

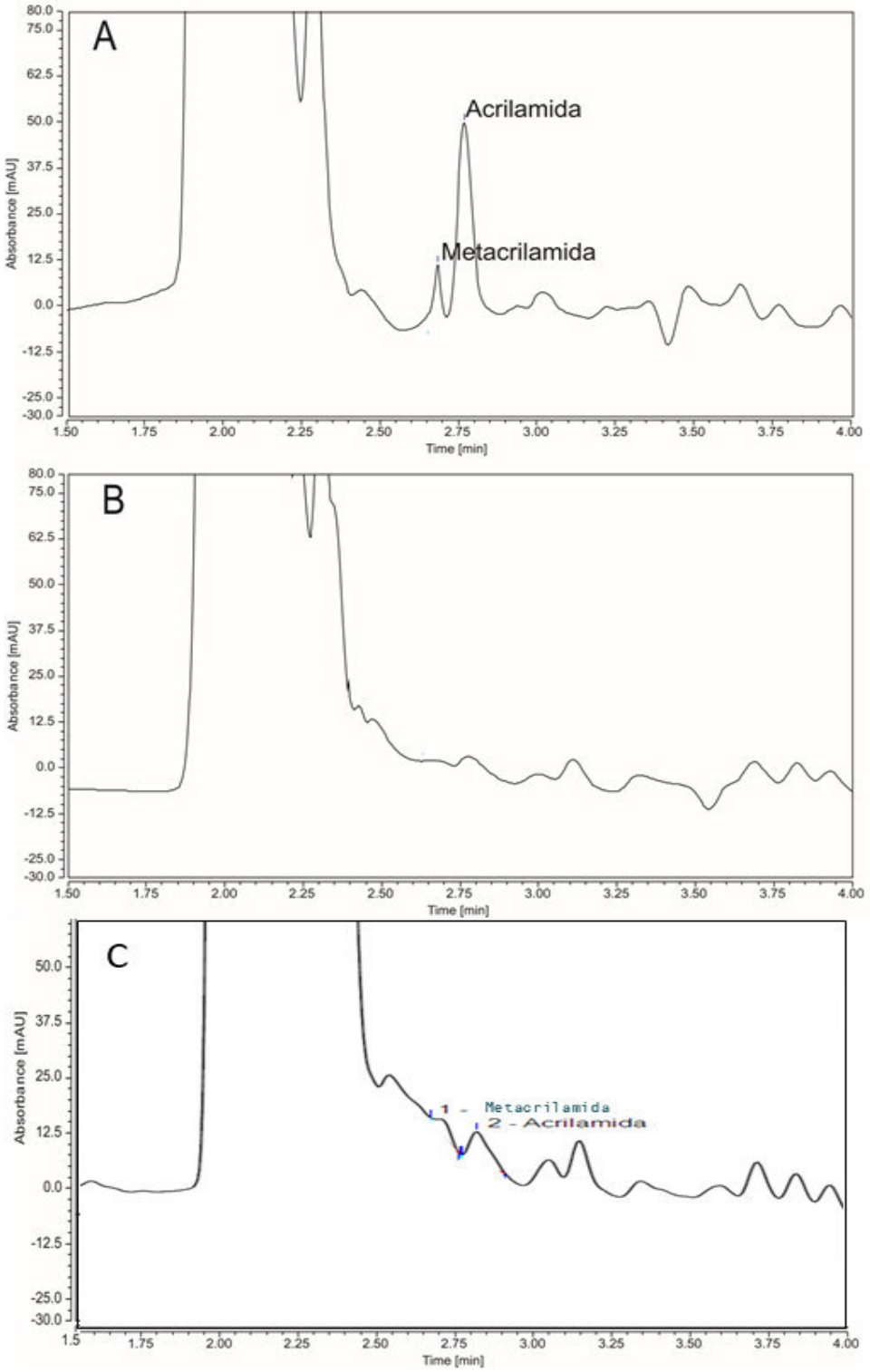


Figura 14. Cromatograma de acrilamida extraída en muestra de hojuelas de papas fritas usando el método QUECHERS. Muestra fortificada con acrilamida y metacrilamida (A); Blanco de muestra o muestra sin fortificar (B); Muestra fortificada con metacrilamida, el pico de acrilamida es reconocido en el cromatograma (C).

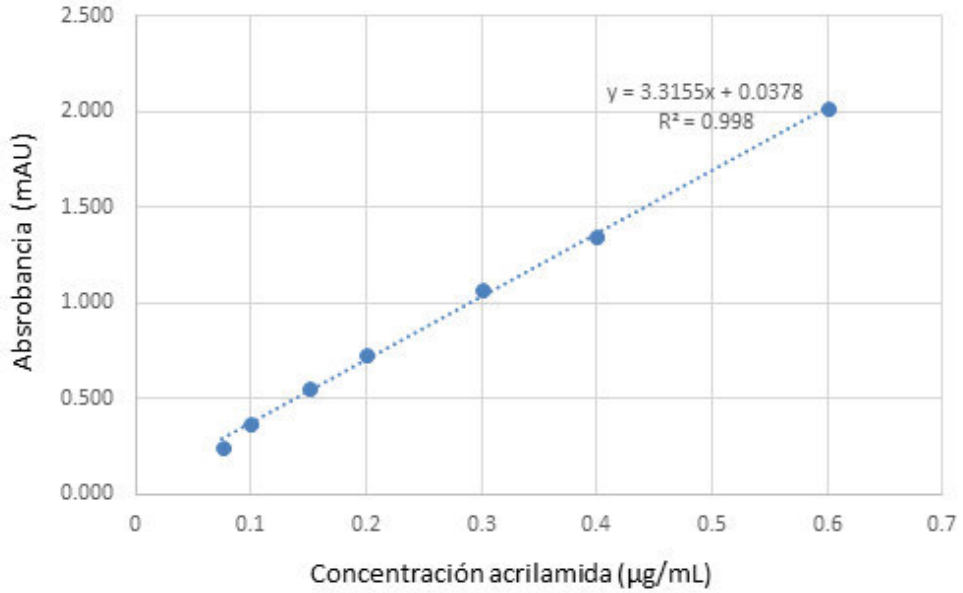


Figura 15. Recta de regresión y = 0,0377 + 3,3156x ajustada a los puntos experimentales relativos a las áreas bajo la curva (mAU x min) conforme la concentración de acrilamida (µg/mL).

Se realizó una recta de calibración de la acrilamida padrón, mostrada en la Figura 15, generada desde 7 puntos de concentración de acrilamida padrón, se obtuvo la siguiente ecuación de la recta y= 3,3155 x+ 0,0378. El coeficiente de Pearson (r) igual a 0,9989 (Tabla 8).

La significancia de la regresión de la curva analítica respecto a las concentraciones de acrilamida (µg/mL) en función de la absorbancia fue determinada empleando los siguientes parámetros: coeficiente de correlación (r), coeficiente de determinación (r^2), valor calculado de "t" (t_{cal}), determinación del valor crítico de la prueba t student (usando la tabla t de student con nivel de significancia de α=0,01 y 6 grados de libertad – $t_{0,01;6}$), valor-p e hipótesis nula (H_0) a ser rechazada o aceptada, las cuales se presenta en las Tabla 8.

Los gráficos de residuos se utilizan para examinar la adecuación del ajuste del modelo en una regresión, los cuales se presentan en la Figura 16, es decir nuestro modelo (y= 3,3155 x+ 0,0378) fue evaluado considerando la variabilidad de las muestras (representadas como puntos) y además si estas tienen una distribución normal y no tendenciosa, las cuales se observa en la distribución de los puntos (Figura 16).

Tabla 8. Parámetros de la recta de calibración y prueba de hipótesis para el coeficiente de regresión b = 3,3155.

Parámetro	Valor
Coeficiente de correlación (r)	0,999
Coeficiente de determinación (r2)	0,998
Coeficiente de regresión poblacional	3,3156
Intercepto	0,0377
Hipótesis estadísticas	$H_0 : B = 0$ $H_1 : B \neq 0$
Nivel de significancia	$\alpha = 0{,}01$
Valor crítico de la prueba *t student*	Grados de libertad (*gl*) = *n* – *2*, como (*n* – *2*) = 8 – 2 = 6, $t_{\alpha;gl} = t_{0,01;6} = 3{,}707$
Valor calculado de la prueba *t student* o valor t (t_{cal}), de acuerdo a la ecuación $\boldsymbol{t_{calc} = \frac{b-B}{EP_b}}$	$t_{calc} = \frac{b-B}{EP_b} = \frac{b}{EP_b} = \frac{3{,}3155}{0{,}1295}$ $t_{calc} = 25{,}592$

*EP_b: error estándar del coeficiente.

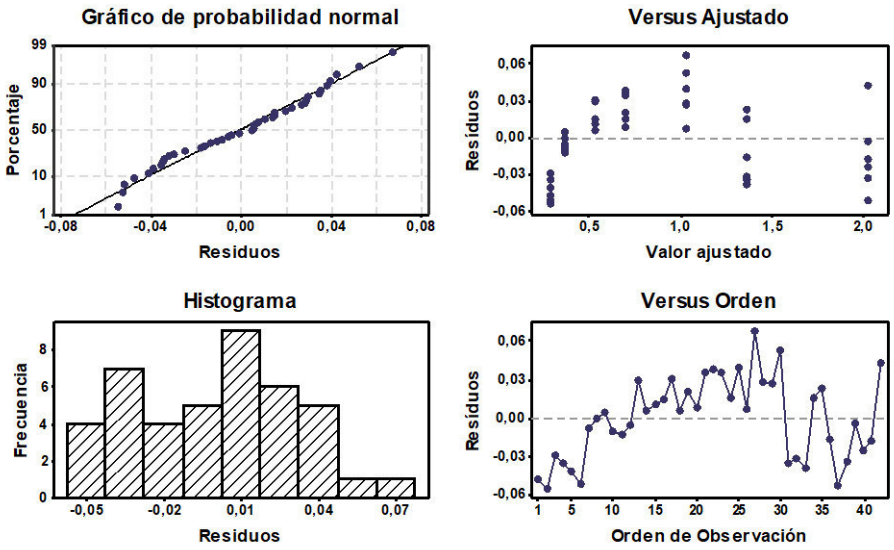


Figura 16. Gráfico de residuos relativos al ajuste de una recta de regresión a los datos de las áreas bajo la curva (mAU x min) en relación a cada concentración de acrilamida (µg/mL).

Una vez establecida la recta de calibración, se evaluó la variabilidad de la recuperación de acrilamida desde la hojuela de papa frita (usando una muestra aleatoria), para ello las muestras fueron fortificadas con acrilamida padrón en diferentes concentraciones (desde 0,075 hasta 0,6 µg/mL), y considerando las áreas de los cromatogramas fue calculado su concentración, las cuales se compararon con la concentración inicialmente adicionada. Los resultados fueron expresados como porcentajes de recuperación en la Tabla 9.

Tabla 9. Valores de porcentaje de recuperación de acrilamida en muestras de hojuelas de papas fritas fortificadas con acrilamida. CV: coeficiente de variación; n= número de repeticiones

Concentración de acrilamida (µg/mL)	% recuperación (n=6)	CV % (n=6)
0,6	77,9	2,44
0,4	79,8	4,73
0,3	81,7	1,89
0,2	85,2	4,77
0,15	93,7	3,73
0,1	87,1	4,63
0,075	89,7	6,04

Con base a los resultados del área bajo la curva de los cromatogramas en función del padrón y la recta de calibración, se cuantificó el contenido de acrilamida (µg de acrilamida por kg de producto) de las muestras seleccionadas y se consideró el factor de recuperación. Estas muestras incluyeron, 15 marcas de hojuelas de papas fritas, cuyos únicos ingredientes son papas no nativas, aceite y sal, productos con registro sanitario. Asimismo, fue analizada una marca sin registro sanitario (M9). Todas las marcas evaluadas (16 en total) fueron comercializadas en supermercados y tiendas de conveniencia de Lima Metropolitana durante el año 2018. Los valores encontrados se muestran en la Tabla 10, donde se reportó un promedio del análisis de 3 muestras independientes del mismo lote para cada marca. También se muestra los valores mínimos y máximos de acrilamida encontrados entre los análisis de las muestras, considerando el factor de recuperación de 77,9 %.

Tabla 10. Valores de acrilamida cuantificados en hojuelas de papas fritas.

Productor	Marca	Sin factor recuperación			Con factor recuperación 77,9 %		
		Promedio (µg/Kg)	DP	Mínimo – máximo (µg/Kg)	Promedio (µg/Kg)	DP	Mínimo – máximo (µg/Kg)
P1	M1	1306	386	805-1717	1677	495	1033 - 2205
P2	M2	1072	86	935-1141	1376	111	1200 - 1464
P3	M3	421	212	203-721	540	272	260 - 926
P1	M4	676	198	423-892	868	254	542 - 1145
P4	M5	926	387	566-1415	1189	496	727 - 1816
P5	M6	374	190	162-605	480	244	208 - 777
P6	M7	1052	270	807-1404	1351	347	1036 - 1803
P7	M8	980	97	852-1097	1257	124	1145 - 1408
P8	M9	964	154	798-1174	1237	198	1025 - 1507
P9	M10	975	218	650-1199	1251	280	834 - 1539
P3	M11	303	69	245-408	389	88	315 - 524
P5	M12	301	35	255-349	386	45	327 - 448
P9	M13	2018	452	1581-2617	2591	580	2030 - 3359
P9	M14	1179	133	1020-1318	1514	170	1309 - 1692
P9	M15	1052	280	696-1295	1350	359	894 - 1662
P9	M16	1785	628	964-2271	2291	806	1238 - 2915

En las Figuras 17 y 18, se muestra una comparación del contenido de acrilamida en relación a los valores establecidos (líneas punteadas) por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria de la Unión Europea (19,20) de 1000 µg/kg como valor indicativo para su versión inicial, el cual fue reducido en el año 2018 a un valor de 750 µg/Kg, considerado como valor de referencia (vigente desde el 11 de abril de 2018).

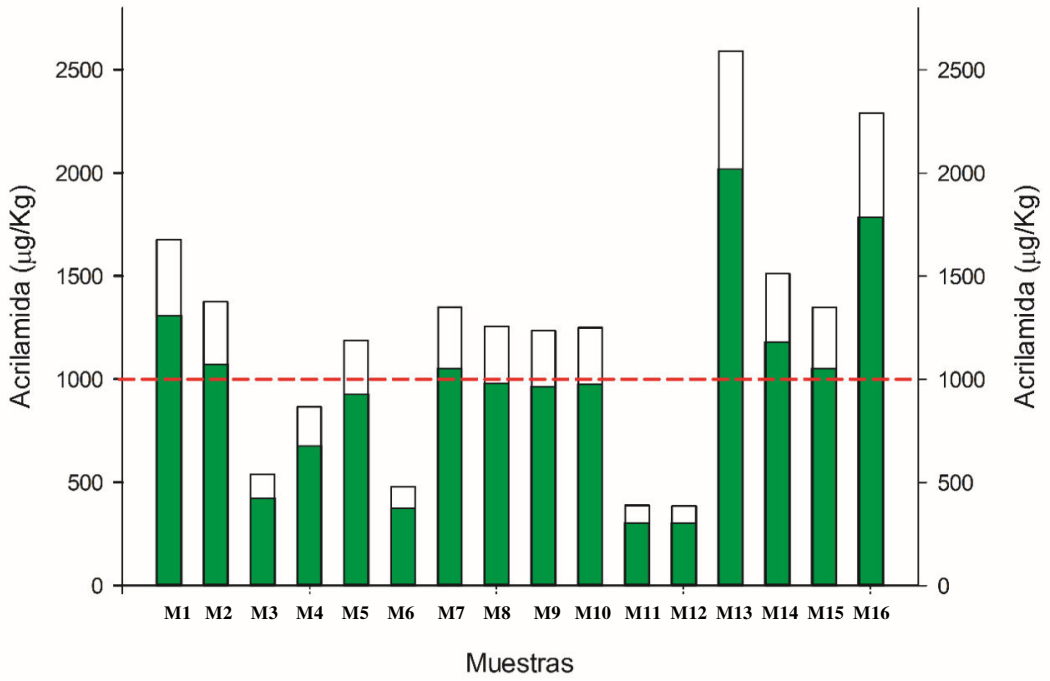


Figura 17. Contenido de acrilamida en hojuelas de papas fritas y valor indicativo en la Unión Europea.

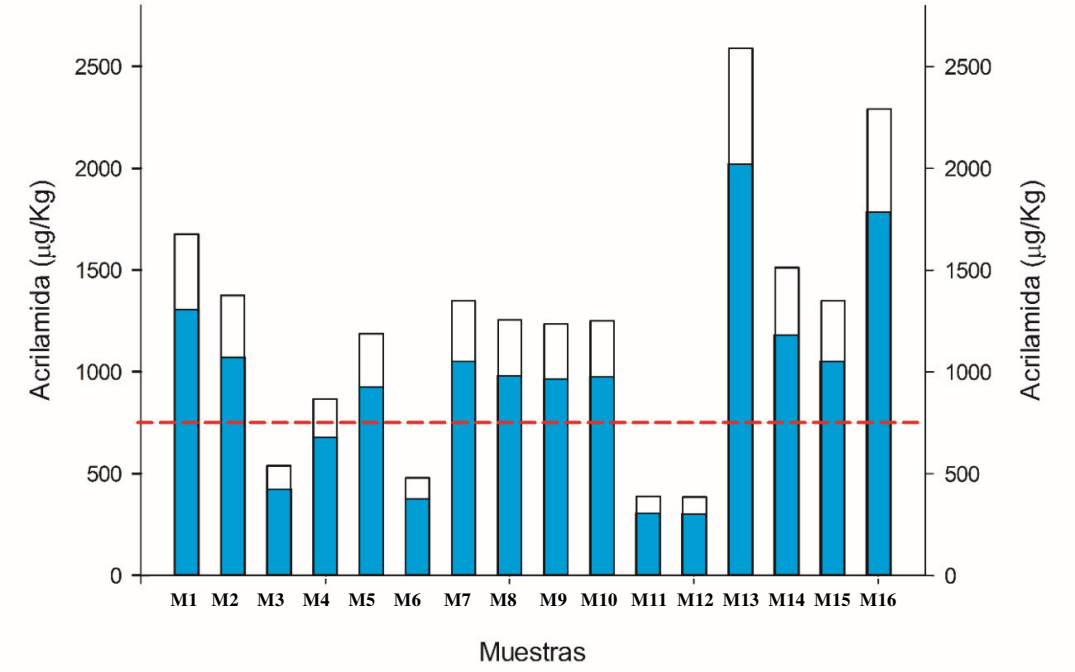


Figura 18. Contenido de acrilamida en hojuelas de papas fritas y nivel de referencia establecido en la Unión Europea.

En la Figura 19 se observan el aspecto de las muestras analizadas, en los cuales se distingue diferentes tonalidades. Así, se observó que las marcas M6 y M11 poseen los tonos más claros, en comparación al resto.

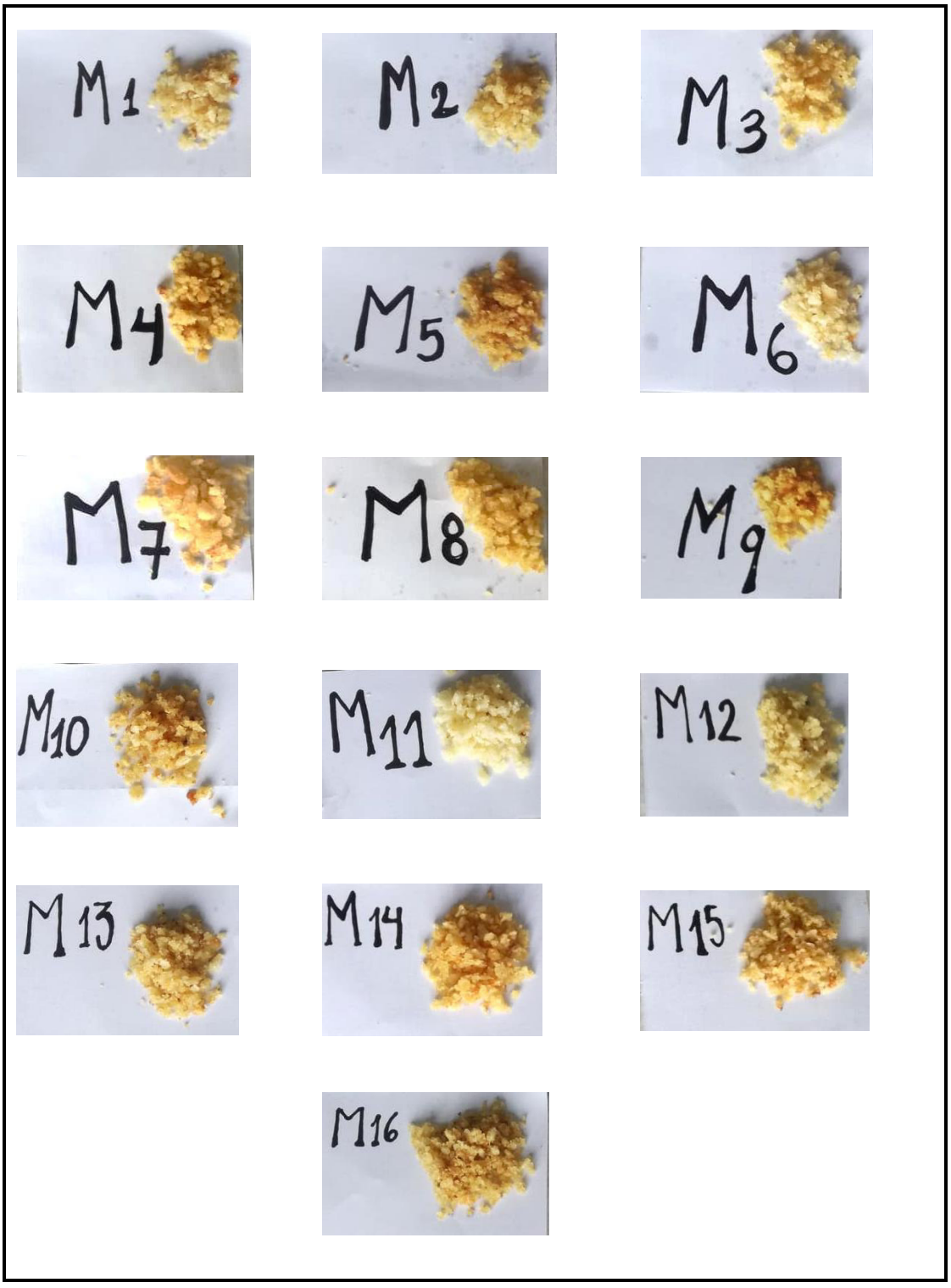


Figura 19. Aspecto visual de las muestras analizadas.

En la Figura 20 se presentan los resultados de los niveles de acrilamida de las muestras analizadas, agrupadas de acuerdo a sus productores (9 productores). Se establece valores indicativos de 1000 µg/Kg (línea sólida) o valores referenciales de 750 µg/Kg (línea punteada). Los valores de acrilamida se

presentan sin considerar el factor de recuperación (barras oscuras) o tomando en cuenta el factor de recuperación (barras claras).

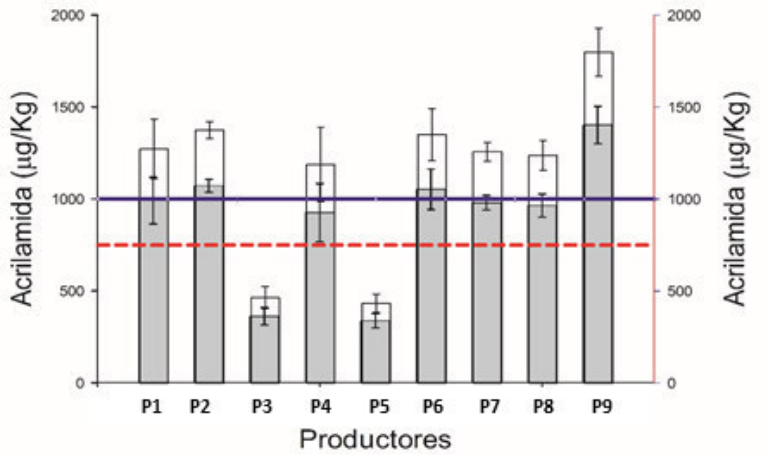


Figura 20. Contenido de acrilamida en hojuela de papas fritas en relación a los productores. Línea punteada, valor referencia de niveles de acrilamida establecido por la Unión Europea. Línea sólida, valor indicativo de niveles de acrilamida establecido por la Unión Europea.

En la Figura 21 se representan un gráfico de barras que corresponden a la media del contenido de acrilamida de lotes diferentes de las marcas M6, M11 y M13, con tres corridas cromatográficas independientes, los cuales son representados de manera individual (una barra por cada lote).

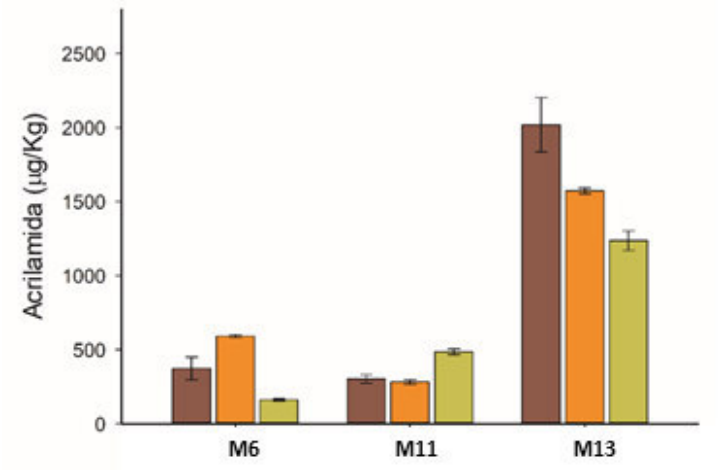


Figura 21. Contenido de acrilamida en hojuela de papas fritas para tres lotes de las marcas M6, M11, M13. La barra representa la media y el desvió padrón de tres análisis independientes.

VI. DISCUSIÓN

Para el presente trabajo se realizó la búsqueda de la base de datos de registros sanitarios de DIGESA, con el fin de delimitar nuestra población de estudio (hojuelas de papas fritas no nativas y no saborizadas), lo cual dio un total de 76 RS (Figura 9). De esta población, se seleccionaron 15 marcas con RS y una sin RS distribuidas en los supermercados, hipermercados y tiendas de conveniencia de Lima Metropolitana, las cuales según el reporte titulado "Investigación de Mercado para snacks en Perú" realizado por la Agencia Euromonitor (Anexo 3) representan el 16,5% de los canales de distribución en el año 2018. La Tabla 6, muestra la distribución de cada muestra en sus respectivos puntos de venta, de ella se destaca que las muestras M1 y M8, son las marcas de mayor distribución; asimismo, se observó que el productor P9 con sus diferentes marcas está presente en la mayoría de puntos de distribución evaluados, ello sugiere que las marcas M1, M8 y marcas del productor P9 serían las de mayor consumo.

Probablemente, como descrito en la literatura, la acrilamida al tratarse de una molécula altamente polar posee baja retención en cromatografía de fase reversa (103), que significa que la acrilamida migra más rápidamente a través de la columnas C18 y su pico respectivo se observa al inicio del cromatograma (Figura 10) junto con otros picos, que podría incluir la metacrilamida o los picos de la fase móvil. Sin embargo, utilizando la columna HILIC los picos del cromatograma tuvieron mejor resolución (Figura 11).

Fue observado que el tiempo de retención del pico de la acrilamida no es interferido por un potencial compuesto presente en la muestra, como la acroleína, que es un precursor de la acrilamida y que se origina por el calentamiento de los aceites (91) (Figura 12). De la misma manera, se observa que no es interferido por acrilonitrilo, un molécula carcinogénica en mamíferos y que es estructuralmente similar a la acrilamida (110).

En el procesamiento de la muestra, fue realizado una primera etapa usando método de extracción de acrilamida relatado por Anastassiades y Mastovska (101,108) usando un kit de extracción comercial, en el cual la

extracción se ve favorecida por la temperatura generada al ocurrir la hidratación de la sal anhidra $MgSO_4$, que ayudó a una mejor disolución de la acrilamida contenida en la hojuela de papa frita en el medio acuoso. Luego, por la sobresaturación con $MgSO_4$ y NaCl, la acrilamida fue desplazada hacia el acetonitrilo, mientras que en el hexano quedaron retenidos los compuestos de naturaleza lipídica.

Para la fase de limpieza fueron evaluados dos procedimientos, con el fin de obtener la máxima recuperación de acrilamida (desde la hojuela de papa frita) con la menor presencia de interferentes. Se observó (Tabla 6) que en la extracción en fase sólida (SPE) (sorbente Oasis HLB) fue obtenido la más baja recuperación de la acrilamida (45,5%) desde la matriz analizada, probablemente debido a una interacción de la acrilamida en el sorbente que tiene capacidad de retención a compuestos polares (111). Sin embargo, en otro trabajo se reportó que el sorbente Oasis HLB mostró una recuperación mayor a 90% (103), y la razón para ello podría estar en el tratamiento durante la extracción de acrilamida, pues para ese estudio fue usado agua como diluyente de la muestra, mientras que nuestro ensayo se usó acetonitrilo, por ser compatible con la fase móvil.

La fase de limpieza de la muestra usando fase solida dispersiva por el kit comercial Disque QUECHERS ($MgSO_4$, amina primaria y secundaria, C18 u octadesilo), en presencia o ausencia de alúmina neutra (Tabla 6), mostró mejor resultado en la eficiencia de recuperación de la acrilamida, alcanzando hasta 79,9 % de recuperación, en ausencia de alúmina neutra. Esto demuestra que la etapa de limpieza con el kit Disque Quechers es más compatible con la etapa de extracción de la muestra, como ya fue relatado por otros trabajos (106–108). Por ello, para estudios posteriores se decidió continuar con el kit Disque QUECHERS.

La figura 13, se corrobora que el pico de acrilamida tiene buena resolución de la metacrilamida (concentración fija) a pesar que la acrilamida se encuentra en diferentes concentraciones, desde 0,05 hasta 1,0 µg/mL y la presencia de metacrilamida (0,2 µg/mL), el cual fue constante para usarse como padrón interno y permitió comprobar preliminarmente la variabilidad de las corridas

cromatográficas pues no se observó alteración significativa de los tiempos de retención.

El uso de método QUECHERS para la extracción de acrilamida desde la matriz (hojuelas de papas fritas) fue evaluado (Figura 14). Comparado al cromatograma del blanco (fig. 14B), la muestra fortificada con acrilamida, presenta múltiples picos que corresponden a compuestos no identificados de la compleja matriz. El orden de los picos fue similar a lo observado en el método de referencia (106), sin embargo, los tiempos de retención reportados fueron 5,2 min en la metacrilamida y 5,95 min en la acrilamida. Esta diferencia en los tiempos de retención está relacionada directamente con la longitud, diámetro interno y tamaño de partículas en la columna utilizada para nuestro trabajo.

El uso de metacrilamida como padrón interno tenía la intención de evaluar la eficiencia de recuperación de la acrilamida, siguiendo el método descrito por Pule y Torto (106). Si bien en la Figura 14A se presenta buena resolución de padrón secundario y acrilamida, en algunas muestras (Figura 14C), los picos de la matriz de la muestra se sobreponen con el pico metacrilamida, mientras que el pico de la acrilamida no vio afectado. Al tratarse de una matriz compleja, los interferentes no son constantes de una muestra a otra, y en algunos casos los picos de la matriz pueden interferir parcialmente con el pico de la metacrilamida, como observado en la figura 14C, lo cual impide su uso como padrón interno para la determinación cuantitativa de acrilamida durante la corrida. Pese a ello, el pico de la metacrilamida mantiene su tiempo de retención y antecede a la acrilamida, entonces, solamente podría usarse cualitativamente para una mejor identificación de la acrilamida en las muestras analizadas.

Comprobada la eficiencia de la limpieza y extracción por el método QUECHERS, se realizó una recta de calibración de la acrilamida (Figura 15). En el modelo matemático o recta de regresión ($y = Bx + A$), para nuestro caso $y= 3,3155 x+ 0,0378$, cuando no existe dependencia de “y” en relación a “x”, el coeficiente de regresión poblacional (B), es igual a cero. Así, probar la hipótesis de que B no es cero, se determina el número crítico de erros estándar permitido

para una separación no significativa entre b e B (b – B), en unidades de erros estándar (t_{cal}).

De acuerdo a los resultados el $|t_{calc}| = 25,592 > t\ 0,01;6 = 3,707$ (Tabla 8), se rechaza la hipótesis nula (H_0) de que el coeficiente de regresión es igual a cero (B=0) y se acepta la hipótesis alternativa (H_1) de que el coeficiente de regresión es significativamente diferente de cero (B≠0), a un nivel de significancia de 99% (valor-p = 0,000), es decir, el modelo de regresión lineal estimado representa satisfactoriamente la relación existente entre la variable dependiente y (absorbancia) y la variable independiente x (concentración de acrilamida en µg/mL).

El gráfico de residuos *versus* valores ajustados debe mostrar un patrón aleatorio de residuos en los dos lados de 0. Un punto alejado de la mayoría puede ser considerado un *outlier*. El grafico de histograma de residuos muestra las características generales de los residuos, incluyendo valores típicos, dispersión y forma, siendo que una lateral larga en uno de los lados puede indicar distribución tendenciosa. El gráfico de residuos *versus* orden de datos permite localizar errores no aleatorios, especialmente de efectos relacionados con el tiempo, y ayuda a verificar la presuposición de que los residuos no están correlacionados entre sí (112).

En el presente trabajo, la validez de este análisis fue verificada por la observación de los residuos, que se presentan en la Figura 16. Los residuos presentaron distribución normal de acuerdo al gráfico de normalidad; en el gráfico de residuos en función de los valores ajustados se observó que la distribución fue equilibrada, siendo uniforme por encima y por debajo de la línea correspondiente al residuo cero, no se correlacionan entre sí y presentan igual variabilidad, confiriéndose la homocedasticidad al modelo de regresión lineal, es decir, en términos sencillos el análisis de regresión nos demostró que el modelo ajustado de la recta es significativo y representa satisfactoriamente la relación existente entre la absorbancia y la concentración de acrilamida.

La recuperación de acrilamida (Tabla 7) tiene valores entre 77,9 y 93, 7 %, estos valores son similares a lo descrito por Pule y Torto (106), usando la misma

metodología, el cual presenta un porcentaje de recuperación entre 84 y 93,8 %, aunque para este último caso la acrilamida fue extraída a partir de aceite, la cual contiene menor cantidad de interferentes. Los coeficientes de variación (CV) son indicadores de la reproductibilidad del método de extracción. Las muestras presentaron un % CV menor a 5 %, a excepción de la menor concentración de acrilamida (muestra fortificada con 0,075 µg/mL) que presentó un %CV igual 6,04 %. Para el caso de acrilamida contenida en aceite, del método de referencia, se describió un CV menor a 4 % (106). En otro trabajo, la extracción de acrilamida desde hojuelas de papas fritas mostró una recuperación de acrilamida de 5% de coeficiente de variación (107).

La tabla 10 muestran los resultados de la cuantificación de acrilamida en las muestras analizadas. Se debe considerar que la cantidad de acrilamida encontrada en la muestra es una fracción de la cantidad real, debido al porcentaje de recuperación del método de extracción; por ello, en la Tabla 10 mostramos también valores corregidos del contenido de acrilamida en hojuelas de papas fritas, en el cual, fue asumido una recuperación de 77,9 % de la acrilamida, conforme a nuestros resultados previamente mostrados (Tabla 9). Así, se observó que las muestras presentaron variación (en términos de desvió padrón) en la concentración de acrilamida, a pesar de pertenecer al mismo lote de producción. Esta variación fue más elevada en la marca M16, cuya concentración de acrilamida se encontró entre 964 a 2271 µg/Kg, lo que podría sugerir el proceso de fabricación de esta marca influye en la heterogeneidad de la acrilamida, es decir, diferentes dimensiones de las hojuelas de papa en un mismo lote podrían favorecer a una mayor formación de acrilamida. Por ejemplo, en el trabajo propuesto por Taubert y colaboradores (96) se observó que la concentración de acrilamida en papas fritas varia dramáticamente dependiendo de la forma y el grosor de estas, siendo encontrados niveles de 1400 µg/Kg en rodajas de 30 mm de diámetro con un grosor de 15 mm, 12 000 µg/Kg en rodajas de 30 mm de diámetro con un grosor de 3 mm y 16000 µg/Kg para el producto rayado, todas estas muestras fueron fritas a 160 °C.

Además, se observó que hay una diferencia de acrilamida entre las marcas analizadas, que abarcan desde 163 µg/Kg para la marca M6 y 2617 µg/Kg para

la marca M13, sin embargo se ha reportado que las hojuelas de papas fritas son el grupo de alimentos que presentan una amplia variabilidad en los numerosos estudios realizados, por ejemplo, la FDA en su último reporte en el año 2015 (42), encontraron valores mínimos de acrilamida de 140 µg/Kg para la marca *Ruffles Potato Chips Original* y de 8440 µg/Kg para la marca *Sweet Potato Chips with Sea Salt Crinkle Cut*; esta variabilidad también fue observada en sus cinco reportes previos, realizados desde el año 2002 (42).

En las figuras 17 y 18 se representan los valores encontrados (barras sombreadas) y valores ajustados con el factor de corrección del 77,9 % de recuperación (barras no sombreadas), de ello, se observa que de las 16 marcas analizadas, once de ellas (68 % de las muestras analizadas) tienen valores por encima de 1000 µg/kg (Figura 17), y, cuatro de estas (M5, M8, M9 y M10) se encuentran en el límite del valor de referencia, aunque, considerando una recuperación de acrilamida del 77,9 %, esta marcas también superarían los 1000 µg/Kg.

Por otro lado, tomando en cuenta el valor de referencia de 750 µg/Kg (Figura 18), se observa que doce de las marcas analizadas superan este valor, y una de ellas (marca M4) se encuentra en el límite. Claramente se observa que cuatro marcas (M3, M6, M11 y M12) presentan niveles de acrilamida por debajo de los límites de referencia de la EFSA, incluso considerando el factor de recuperación.

Considerando la distribución de las muestras evaluadas, se observa que la muestra M1 y M4 son las marcas más ampliamente distribuidas (Tabla 6), y sus niveles de acrilamida en ambos casos tienen como mínimos 804 µg/Kg (Tabla 10). Asimismo, se observa que la marca M1 es una de las muestras que contienen más concentración de acrilamida encontrada, solo por debajo de las marcas M13 y M16.

En la Figura 19, se observa las tonalidades encontradas, que nos podría dar un indicio sobre el nivel de acrilamida en las hojuelas de papas fritas (113). La luminosidad es una de las características relacionada con el nivel de acrilamida, como relatado en diversos trabajos (113–115), es decir, tonos claros tienden a

contener menos acrilamida y tonos oscuros tienden a contener más acrilamida. Así, se observó que las marcas M6 y M11 poseen los tonos más claros, y ello se corresponde con los resultados obtenidos por HPLC, donde se obtuvieron una media de 374 y 303 µg/Kg, respectivamente, siendo dos de las cuatro marcas con menor contenido de acrilamida.

Los valores de acrilamida encontrados, agrupados en relación a sus respectivos productores (detallado en Tabla 10) fueron observados en la Figura 20. Así, se muestra que dos productores (P3 y P5) presentaron los más bajos contenidos de acrilamida por debajo de los niveles de referencia (líneas punteadas) y, nos mostró un dato interesante, las cuatro marcas con menores valores de acrilamida pertenecen a estos productores (P3 y P5), siendo la marca M3 y M11 fabricados por el productor P3, mientras que las marcas M6 y M12 por P5, ello nos permite sugerir que el proceso de fabricación de estos productores tiene un impacto sobre la baja formación de acrilamida.

A fin de evaluar la variabilidad entre los lotes, fueron analizados dos lotes adicionales en 3 de las 16 marcas (M6, M11 y M13) expuestos en la Figura 21. Los lotes adicionales de las marcas M6 y M11, mostraron valores similares de acrilamida y debajo de los valores de referencia (1000 o 750 µg/Kg), además, presentaron una menor variabilidad, en términos de su respectivo error estándar. En el caso de la marca M13, el contenido de acrilamida en los lotes evaluados mostró una mayor variabilidad, y en sus tres lotes analizados se superaron los niveles de referencia. Esta variabilidad en los resultados lote a lote se puede observar también en el trabajo propuesto por Mesias y Morales (2015), en el cual evaluaron la variabilidad entre dos lotes de 40 marcas de hojuelas de papas fritas, los resultados mostraron un coeficiente de variación (% CV) entre un rango de 1,5% a 83,8%, enfatizando que el 40% de las muestras presentaron variación mayor que el 20% y ocho muestras una variación lote a lote entre 50-80%. Los autores asumen que esta variabilidad en los niveles de acrilamida entre lotes es debido a las diferencias en la selección del tubérculo de la papa, así como las condiciones de procesamiento y fabricación durante el proceso industrial.

VII. CONCLUSIONES

Fueron determinadas niveles de acrilamida en 16 marcas de hojuelas de papas fritas provenientes de nueve productores y comercializadas en tiendas de conveniencia y supermercados e hipermercados de Lima metropolitano.

Fue determinado un porcentaje de recuperación de acrilamida en hojuelas de papas fritas entre 77,9 y 93,7%, usando el método de extracción Quechers.

Se encontró que cuatro de dieciséis marcas de hojuelas de papas fritas (M3, M6, M11 y M12) tienen niveles de acrilamida menor a 750 µg/Kg, además, dos de los nueve productores (P3 y P5) de hojuelas de papas fritas tienen niveles de acrilamida menor a 750 µg/Kg.

Se encontró que hay alta variabilidad de los niveles de acrilamida entre los lotes de una misma marca.

Se encontró que el 68,75 % y 75 %de las muestras analizadas superan los valores indicativos y valores de referencia establecidos por la Unión Europea, respectivamente.

Se encontró que el nivel de acrilamida promedio de las muestras totales de hojuelas de papas fritas fue de 1234,18 ± 627 µg/Kg el cual supera el valor de referencia establecido por la Unión Europea (750 µg/Kg).

VIII. RECOMENDACIONES

De acuerdo a los datos obtenidos en este trabajo, se recomienda tomar medidas para reducir y estandarizar las condiciones de fabricación de estos productos con la finalidad de obtener menores niveles de acrilamida.

Tales medidas, deberían estar incluidas en la norma técnica peruana NTP 011.801:2016 PAPA Y SUS DERIVADOS. Hojuelas de papa frita. Requisitos, que en su versión actual no menciona a la acrilamida como un agente contaminante. Organismos como la FDA (Centro de Seguridad Alimentaria y Nutrición Aplicada) o la Unión Europea (Oficina de Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria) tienen documentos que orientan a los productores a mitigar la formación de acrilamida en hojuela de papas fritas, los cuales están detallados en un documento llamado Guía para la Industria Acrilamida en Alimentos o el Reglamento 2017/2158, respectivamente, y que abarcan medidas desde el almacenamiento de la materia prima a temperaturas menores de 6 °C, estandarización de la concentración de azucares reductores en la papa, procedimiento de lavado/pelado, temperaturas de termoprocesamiento y selección óptica por el color, entre otros, todas ellas enfocadas en la reducción de acrilamida. Sin embargo, la norma técnica peruana no presenta ninguna recomendación orientada a la mitigación de formación de acrilamida; por el contrario, la norma peruana recomienda una temperatura de fritura entre 150-180 °C, mientras que organismos internacionales indican que la temperatura no debe ser mayor a 175 °C.

Este trabajo podría ser el punto de partida para actualizar la norma técnica peruana respectiva y la acrilamida sea considerada un contaminante, además, promover la creación de una guía de orientación para los productores que permitan reducir los niveles de acrilamida en hojuelas de papas fritas. Finalmente, incentivar que se realicen estudios a escala nacional para este y otros productos de alta distribución como hojuelas de camote frito, yuca frita, plátano frito, habas, etc.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. International Agency for Research on Cancer. Acrylamide. En: IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Lyon, France: IARC Press; 1994. p. 389–433.
2. European Commission. Opinion on the results of the Risk Assessment of: Acrylamide [Internet]. 2001 [citado el 12 de octubre de 2021]. Disponible en: https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/environmental_risks/opinions/sctee/sct_out88_en.htm
3. Reynolds T. Acrylamide and Cancer: Tunnel Leak in Sweden Prompted Studies. J Natl Cancer Inst. 2002;94(12):876–878.
4. Tareke E, Rydberg P, Karlsson P, Eriksson S, Törnqvist M. Acrylamide: A cooking carcinogen? Chem Res Toxicol. 2000;13(6):517–22.
5. Tareke E, Rydberg P, Karlsson P, Eriksson S, Tornqvist M. Analysis of Acrylamide , a Carcinogen Formed in Heated Foodstuffs. J Agric Food Chem. 2002;50:4998–5006.
6. DiNovi M, Howard D. Acrylamide in Food: The Updated Exposure Assessment for Acrylamide. En: Acrylamide in Food: Update – Scientific Issues, Uncertainties, and Research Strategies [Internet]. Chicago; 2004 [citado el 5 de abril de 2019]. Disponible en: http://jifsan.umd.edu/events/view/65
7. Delatour T, Perisset A, Goldmann T, Riediker S, Stadler R. Improved Sample Preparation to Determine Acrylamide in Difficult Matrixes Such as Chocolate Powder , Cocoa , and Coffee by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectroscopy. J Agric Food Chem. 2004;52:4625–31.
8. Muhlendahl KE von, Otto M. Acrylamide: more than just another food toxicant? Eur J Pediatr. 2003;162:447–8.
9. Svensson K, Abramsson L, Becker W, Glynn A, Hellenass K, Lind Y, et al. Dietary intake of acrylamide in Sweden. Food Chem Toxicol. 2003;41:1581–6.
10. Dybing E, Sanner T. Risk assessment of acrylamide in foods. Toxicol Sci. 2003;75(1):7–15.
11. European Food Safety Authority/Panel on Contaminants in the Food Chain. Scientific opinion on acrylamide in food. EFSA J. 2015;13(6):4104.
12. Food and Agriculture Organization/ World Health Organization. Health Implications of Acrylamide in Food [Internet]. Vol. 90, World Health Organization. Geneva; 2002 [citado el 1 de diciembre de 2021]. p. 38. Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42563/9241562188.pdf
13. Food and Agriculture Organization/World Health Organization. Summary and conclusions of evaluation performed by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) Sixty-fourth meeting, 8–17 February 2005 (Rome) [Internet]. Food and Agriculture Organization. 2005 [citado el 19 de diciembre de 2021]. p. 7–17. Disponible en:

www.fao.org/es/esn/jecfa/index_en.stm

14. Scientific Committee on Food. Opinion of the Scientific Committee on Food on new findings regarding the presence of acrylamide in food [Internet]. European Commission. 2002 [citado el 1 de junio de 2019]. Disponible en: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/cs_contaminants_catalogue_acrylamide_out131_en.pdf
15. European Food Safety Authority. Acrylamide database [Internet]. European Union/ European Food Safety Authority. 2006 [citado el 1 de junio de 2019]. Disponible en: https://ec.europa.eu/food/safety/chemical_safety/contaminants/catalogue/acrylamide_db_en
16. Food and Drug Administration. Survey Data on Acrylamide in Food: Individual Food products [Internet]. Food and Drug Administration. 2006 [citado el 1 de junio de 2019]. Disponible en: https://www.fda.gov/food/chemicals/survey-data-acrylamide-food
17. CCCF/Codex Alimentarius Commission/FAO. Code of practice for the reducction of acrylamide in foods (CAC/RCP 67-2009) [Internet]. Primera. 2009. 1–11 p. Disponible en: http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/codes-of-practice/es/
18. Robin LP, Abt E. Acrylamide : US FDA Guidance to Industry. En: Melton LD, Shahidi F, Varelis P, editores. Encyclopedia of Food Chemistry. Amsterdam: Elsevier; 2019. p. 487–91.
19. European Food Safety Authority. Recomendación de la comisión de 8 de noviembre de 2013 relativa a la investigación de los niveles de acrilamida en los alimentos. Diario Oficial de la Unión Europea [Internet]. el 12 de noviembre de 2013 [citado el 11 de diciembre de 2021];15–7. Disponible en: https://eur-lex.europa.eu/eli/reco/2013/647/oj
20. European Food Safety Authority. Reglamento 2017/2158 de la Comisión por el que se establecen medidas de mitigación y níveles de referencia para reducir la presencia de acrilamida en los alimentos. Diario Oficial de la Unión Europea [Internet]. el 21 de noviembre de 2017 [citado el 19 de diciembre de 2021];24–44. Disponible en: http://data.europa.eu/eli/reg/2017/2158/oj
21. Instituto Nacional de Calidad. NTP 011.801:2016 - Papa y sus derivados. Hojuelas de papa frita . Requisitos. Lima, Perú: Inacal; 2016 p. 10.
22. Ouhtit A, Al-sharbati M, Gupta I, Al-farsi Y. Potato chips and childhood: What does science say, a hidden silent killer? Nutrition. 2014;10:1110–1012.
23. Wyka J, Tajner-czopek A, Broniecka A, Piotrowska E. Estimation of dietary exposure to acrylamide of Polish teenagers from an urban environment. Food Chem Toxicol. 2015;75:151–5.
24. Katz J, Winter C, Buttrey S, Fadel J. Comparison of acrylamide intake from Western and guideline based diets using probabilistic techniques and linear programming using probabilistic techniques and linear programming. Food Chem Toxicol. 2012;50:877–83.

25. Sansonetti TG. The Potato. En: New light on a hidden treasure: International Year of the Potato 2008, an end-of-year review. Rome: FAO; 2009. p. 11–46.

26. Taeymans D, Wood J, Ashby P, Blank I, Studer A, Stadler RH, et al. A review of acrylamide: An industry perspective on research, analysis, formation, and control. Crit Rev Food Sci Nutr. 2004;44(5):323–47.

27. Olsson K, Svensson R, Roslund CA. Tuber components affecting acrylamide formation and colour in fried potato: Variation by variety, year, storage temperature and storage time. J Sci Food Agric. 2004;84(5):447–58.

28. Elmore JS, Briddon A, Dodson AT, Muttucumaru N, Halford NG, Mottram DS. Acrylamide in potato crisps prepared from 20 UK-grown varieties : Effects of variety and tuber storage time. Food Chem. 2015;182:1–8.

29. Alves SP, Brum DM, Branco de Andrade ÉC, Pereira Netto AD. Determination of synthetic dyes in selected foodstuffs by high performance liquid chromatography with UV-DAD detection. Food Chem. 2008;107(1):489–96.

30. Lanzotti V. The analysis of onion and garlic. J Chromatogr A. 2006;1112(1–2):3–22.

31. Rydberg P, Eriksson S, Tareke E, Karlsson P, Ehrenberg L, Tornqvist M. Investigations of Factors That Influence the Acrylamide Content of Heated Foodstuffs. J Agric Food Chem. 2003;51:7012–8.

32. Ciesarová Z, Kiss E, Kolek E. Study of Factors Affecting Acrylamide Levels in Model Systems. Czech J Food Sci. 2006;24(3):133–7.

33. Pedreschi F. Acrylamide Formation and Reduction in Fried Potatoes. En: Ortega-Rivas E, editor. Processing Effects on Safety and Quality of Foods. Dublin: Taylor & Francis; 2010. p. 231–52.

34. Mottram DS, Wedzicha BL, Dodson AT. Acrylamide is formed in the Maillard reaction. Nature. 2002;419(October):448–9.

35. Mesías M, Morales FJ. Acrylamide in commercial potato crisps from Spanish market: Trends from 2004 to 2014 and assessment of the dietary exposure. Food Chem Toxicol. 2015;81:104–10.

36. Biedermann M, Grundböck F, Fiselier K, Biedermann S, Bürgi C, Grob K. Acrylamide monitoring in Switzerland , 2007 – 2009 : results and conclusions. Food Addit Contam Part A. 2009;27(10):1352–62.

37. Powers SJ, Mottram DS, Curtis A, Halford NG, Powers SJ, Mottram DS, et al. Acrylamide concentrations in potato crisps in Europe from 2002 to 2011. Food Addit Contam Part A. 2013;30(9):1493–500.

38. Codex Alimentarius Comission. Código de prácticas para reducir el contenido de acrilamida en los alimentos [Internet]. Food and Agriculture Organization. 2009 [citado el 10 de noviembre de 2021]. p. 1–12. Disponible en: https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/codes-of-practice/es/

39. European Commission. Commission Recommendation on the monitoring of

acrylamide levels in food [Internet]. Official Journal of the European Union. 2007 [citado el 29 de noviembre de 2021]. Disponible en: https://www.global-regulation.com/law/european-union/196297/commission-recommendation-of-3-may-2007-on-the-monitoring-of-acrylamide-levels-in-food-%2528notified-under-document-number-c%25282007%2529-1873%2529-%2528text-w.html

40. European Food Safety Authority. Results on acrylamide levels in food from monitoring year 2008. EFSA Journal. 2010;31.

41. FDA. FDA Action Plan for Acrylamide in Food [Internet]. FDA. 2004 [citado el 29 de noviembre de 2021]. Disponible en: https://www.fda.gov/food/chemical-contaminants-food/survey-data-acrylamide-food-total-diet-study-results

42. Food and Drug Administration. Survey Data on Acrylamide in Food Acrylamide [Internet]. 2019 [citado el 5 de diciembre de 2020]. Disponible en: https://www.fda.gov/food/chemicals/survey-data-acrylamide-food#:~:text=In research studies%2C high levels,those found in human food.&text=Between 2011 and 2015%2C the,study acrylamide levels in foods

43. Food and Drug Administration. Draft Guidance for Industry on Acrylamide in Foods. Federation Register. 2013;15370–1.

44. Food and Drug Administration/Center for Food Safety and Applied Nutrition. Guidance for Industry Acrylamide in Foods [Internet]. Rockville, MD; 2016. 37 p. Disponible en: http://www.fda.gov/FoodGuidances

45. Taylor P, Arisseto AP, Toledo MC, Govaert Y, Loco J Van, Fraselle S, et al. Determination of acrylamide levels in selected foods in Brazil. Food Addit Contam. 2007;24(3):236–41.

46. Pacetti D, Gil E, Frega NG, Álvarez L, Dueñas P, Garzón A, et al. Acrylamide levels in selected Colombian foods. Food Addit Contam Part B Surveill. 2015;8(2):99–105.

47. Sánchez-Otero MG, Méndez-Santiago CN, Luna-Vázquez F, Soto-Rodríguez I, García HS, Serrano-Niño JC. Assessment of the Dietary Intake of Acrylamide by Young Adults in Mexico. J Food Nutr Res [Internet]. 2017;5(12):894–9. Disponible en: http://pubs.sciepub.com/jfnr/5/12/3/index.html

48. Barrios-Rodríguez YF, Pedreschi F, Rosowski J, Gómez JP, Figari N, Castillo O, et al. Is the dietary acrylamide exposure in Chile a public health problem? Food Addit Contam - Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess [Internet]. 2021;38(7):1126–35. Disponible en: https://doi.org/10.1080/19440049.2021.1914867

49. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Orientaciones sobre Acrilamida. Informe Técnico N° 28 [Internet]. ANVISA. 2007 [citado el 1 de diciembre de 2021]. Disponible en: https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/alimentos/informes/copy_of_28de2007

50. Antón Bernal TL, Saavedra Bravo P de J. Influencia del escaldado en la

reducción de acrilamida en camotes (Ipomoea batatas) fritos, variedad amarillo. Tesis de pregrado. Universidad Señor de Sipan; 2017.

51. Luque K. Evaluación de galletas tipo crackers con adición de metabisulfito de sodio. Tesis de pregrado. Universidad Agraria La Molina; 2017.
52. Ludeña A. Acrilamida en el consumo de Algarrobina con fines de estandarización en un proceso tecnificado. Tesis de doctorado. Universidad nacional de Piura; 2012.
53. Yaranga Oncihuay RI. Efecto de la temperatura de escaldado y fritado en el contenido de acrilamida de papa nativa, oca y mashua amarilla. Tesis de pregrado. Universidad Nacional del Centro del Perú; 2019.
54. Ministerio de Salud. Dirección General de Salud Ambiental. Reglamento de la calidad del agua para consumo humano: D.S. N° 031-2010-SA. Primera ed. D.S. N° 031-2010-SA Lima, Perú: JB Grafic EIRL; 2011 p. 44.
55. National Toxicology Program/Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction. NTP-CERHR Monograph on the Potential Human Reproductive and Developmental Effects of Acrylamide [Internet]. National Institutes of Health. 2005 [citado el 10 de diciembre de 2021]. Disponible en: https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/ohat/acrylamide/acrylamide_monograph.pdf
56. Saboktakin MR. Acrylamide, Synthesis and Properties. En: Advances in chemistry research. New York: Nova publishers; 2012. p. 1–46.
57. Eriksson S. Acrylamide in food products : Identification , formation and analytical methodology. Tesis de doctorado. Stockholm University; 2005.
58. European Food Safety Authority. Update on acrylamide levels in food from monitoring years 2007 to 2010. EFSA J. 2012;10(10):1–38.
59. Sumner SCJ, Williams CC, Snyder RW, Krol WL, Asgharian B, Fennell TR. Acrylamide : A Comparison of Metabolism and Hemoglobin Adducts in Rodents following Dermal, Intraperitoneal, Oral, or Inhalation Exposure. Toxicol Sci. 2003;270:260–70.
60. Miller MJ, Carter DE, Sipes IG. Pharmacokinetics of Acrylamide in Fisher-334 Rats. Toxicol Appl Pharmacol. 1982;63:36–44.
61. Sörgel F, Kinzig-schippers M. Acrylamide: Increased Concentrations in Homemade Food and First Evidence of Its Variable Absorption from Food , Variable Metabolism and Placental and Breast Milk Transfer in Humans. Chemotherapy. 2002;48:267–74.
62. Friedman M. Chemistry, Biochemistry, and Safety of Acrylamide . A Review. J Agric Food Chem. 2003;51:4504–26.
63. Pérez HL, Cheong H-K, Yang JS, Osterman-Golkar S. Simultaneous Analysis of Hemoglobin Adducts of Acrylamide and Glycidamide by Gas Chromatography Mass Spectrometry. Anal Biochem. 1999;274(1):59–68.
64. Fennell TR, Sumner SCJ, Snyder RW, Burgess J, Spicer R, Bridson WE, et al. Metabolism and Hemoglobin Adduct Formation of Acrylamide in Humans. Toxicol Sci. 2005;85(1):447–59.
65. Parzefall W. Minireview on the toxicity of dietary acrylamide. Food Chem

Toxicol. 2008;46:1360–4.

66. Lopachin RM, Schwarcz AI, Gaughan CL, Mansukhani S, Das S. In Vivo and In Vitro Effects of Acrylamide on Synaptosomal Neurotransmitter Uptake and Release. Neurotoxicology. 2004;25:349–63.

67. Pruser KN, Flynn NE. Acrylamide in health and disease. Front Biosci. 2011;S3:41–51.

68. Costa GG da, Churchwell MI, Hamilton LP, Tungeln LS Von, Beland FA, Marques MM, et al. DNA Adduct Formation from Acrylamide via Conversion To Glycidamide in Adult and Neonatal Mice. Chem Res Toxicol. 2003;16:1328–37.

69. Sega GA, Generoso EE, Brimer PA. Acrylamide Exposure Induces a Delayed Unscheduled DNA Synthesis in Germ Cells of Male Mice That Is Correlated With the Temporal Pattern of Adduct Formation in Testis DNA. Environ Mol Mutagen. 1990;16:137–42.

70. Marsh GM, Lucas LJ, Youk AO, Schall LC. Mortality patterns among workers exposed to acrylamide : 1994 follow up. Occupacional Environ Med. 1999;56:181–90.

71. Swaen GMH, Haidar S, Burns CJ, Bodner K, Parsons T, Collins JJ, et al. Mortality study update of acrylamide workers. Occupacional Environ Med. 2007;64:396–402.

72. Virk-Baker MK, Nagy TR, Barnes S, Groopman J. Dietary Acrylamide and Human Cancer: A Systematic Review of Literature. Nutr Cancer. 2014;66(5):774–90.

73. Pelucchi C, Franceschi S, Levi F, Trichopoulos D, Bosetti C, Negri E, et al. Fried potatoes ad human cancer. Int J Cancer. 2003;105:558–60.

74. Bosetti C, Talamini R, Levi F, Negri E, Franceschi S, Airoldi L, et al. Fried foods: a risk factor for laryngeal cancer? Br J Cancer. 2002;87:1230–3.

75. Esposito F, Cirillo T, Squillante J, Nolasco A, Montuori P. Acrylamide levels in smoke from conventional cigarettes and heated tobacco products and exposure assessment in habitual smokers. Environ Res. 2022;208:1–8.

76. Andersen FA. Amended Final Report on the Safety Assessment of Polyacrylamide and Acrylamide Residues in Cosmetics. Int J Toxicol. 2005;24:21–50.

77. Patel A, Pathak Y, Patel J, Sutariya V. Role of nutritional factors in pathogenesis of cancer. Food Qual Saf. 2018;2(1):27–36.

78. Petersen BJ, Tran N. Exposure to Acrylamide: Placing exposure in context. En: Friedman, Mottram, editores. Chemistry and Safety of Acrylamid in Food. Boston: Springer; 2005. p. 63–76.

79. Matthys C, Willems JL. Risk assessment of dietary acrylamide intake in Flemish adolescents. Food Chem Toxicol. 2005;43:271–8.

80. Ahn JS, Castle L, Clarke DB, Lloyd AS, Philo MR, Speck DR. Verification of the findings of acrylamide in heated foods. Food Addit Contam. 2002;19(12):1116–24.

81. Konings EJM, Baars AJ, Van Klaveren JD, Spanjer MC, Rensen PM, Hiemstra M, et al. Acrylamide exposure from foods of the Dutch population and an assessment of the consequent risk. Food Chem Toxicol. 2003;41(11):1569–79.

82. Dybing E, Farmer PB, Andersen M, Fennell TR, Lalljie SPD. Human exposure and internal dose assessments of acrylamide in food. Food Chem Toxicol. 2005;43:365–410.

83. Boon PE, Mul A De, Voet H Van Der, Donkersgoed G Van, Brette M, Klaveren JD Van. Calculations of dietary exposure to acrylamide. Mutat Res. 2005;580:143–55.

84. Timmermann CAG, Mølck SS, Kadawathagedara M, Bjerregaard AA, Törnqvist M, Brantsæter AL, et al. A review of dietary intake of acrylamide in humans. Toxics. 2021;9(7):1–24.

85. Stadler RH, Studer A. Acrylamide Formation Mechanisms. En: Gökmen V, editor. Acrylamide in Food: Analysis, Content and Potential Health Effects. New York: Academic Press; 2016. p. 1–16.

86. Maan AA, Anjum MA, Khan MKI, Nazir A, Saeed F, Afzaal M, et al. Acrylamide Formation and Different Mitigation Strategies during Food Processing–A Review. Food Rev Int [Internet]. 2020;00(00):1–18. Disponible en: https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1719505

87. Stadler RH, Blank I, Varga N, Robert F, Hau J, Guy PA, et al. Acrylamide from Maillard reaction products. Nature. 2002;419:449–50.

88. Stojanovska S, Tomovska J. Factors influence to formation of acrylamide in food. J Hyg Eng Des. 2015;13(4):10–5.

89. IARC. Monographs on the Evaluation the Carcinogenic Risk to Human. Some Industrial Chemicals. Vol. 60, International Agency for Research on Cancer. Lyon, France; 1994. 389–433 p.

90. Pedreschi F. Fried and Dehydrated Potato Products. En: Singh J, Kaur L, editores. Anvances in Potato Chemistry and Technology. First. Noida, India: Elsevier; 2009. p. 319–38.

91. Becalski A, Lau BPY, Lewis D, Seaman SW. Acrylamide in foods: Occurrence, sources, and modeling. J Agric Food Chem. 2003;51(3):802–8.

92. Dunovská L, Hajšlová J, Čajka T, Holadová K, Hájková K. Changes of acrylamide levels in food products during technological processing. Czech J Food Sci. 2004;22:283–6.

93. Amrein TM, Bachmann S, Noti A, Biedermann M, Barbosa MF, Biedermann-Brem S, et al. Potential of acrylamide formation, sugars, and free asparagine in potatoes: A comparison of cultivars and farming systems. J Agric Food Chem. 2003;51(18):5556–60.

94. Taeymans D, Wood J, Ashby P, Blank I, Studer A, Stadler RH, et al. A review of acrylamide: An industry perspective on research, analysis, formation, and control. Crit Rev Food Sci Nutr. 2004;44(5):323–47.

95. Amrein TM, Schönbächler B, Rohner F, Lukac H, Schneider H, Keiser A,

et al. Potential for acrylamide formation in potatoes: Data from the 2003 harvest. Eur Food Res Technol. 2004;219(6):572–8.

96. Taubert D, Harlfinger S, Henkes L, Berkels R, Schomig E. Influence of Processing Parameters on Acrylamide Formation during Frying of Potatoes. J Agric Food Chem. 2004;52:2735–9.

97. Mustăţea G, Popa ME. Acrylamide in food – EU versus FDA approaches. Bull UASVM Food Sci Technol. 2015;72(2):145–52.

98. Gagliardi D. Latest News and Perspectives on California Prop 65. The National Law Review [Internet]. el 10 de enero de 2019; Disponible en: https://www.natlawreview.com/article/latest-news-and-perspectives-california-prop-65

99. Samanipour B, Jalili M, Rezaei K, Faraji R. Analysis of acrylamide from potato chips using an amino column followed by PDA as the detection system in HPLC. Qual Assur Saf Crop Foods. 2019;11(5):411–9.

100. Albishri HM, El-hady DA. Eco-friendly ionic liquid based ultrasonic assisted selective extraction coupled with a simple liquid chromatography for the reliable determination of acrylamide in food samples. Talanta. 2014;118:129–36.

101. Anastassiades M, Lehotay SJ, Stajnbaher D, Schenck F. Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile. J AOAC Int. 2003;86(2):412–31.

102. Stefanović S, Dordevic V, Jelušić V. Rapid and reliable QuEChERS-based LC-MS/MS method for determination of acrylamide in potato chips and roasted coffee. IOP Conf Ser Earth Environ Sci. 2017;85(1):0–6.

103. Gökmen V, Şenyuva HZ, Acar J, Sarioğlu K. Determination of acrylamide in potato chips and crisps by high-performance liquid chromatography. J Chromatogr A. 2005;1088(1–2):193–9.

104. Ghalebi M, Hamidi S, Nemati M. High-performance liquid chromatography determination of acrylamide after its extraction from potato chips. Pharm Sci. 2019;25(4):338–44.

105. Schlichtherle-Cerny H, Affolter M, Cerny C. Hydrophilic interaction liquid chromatography coupled to electrospray mass spectrometry of small polar compounds in food analysis. Anal Chem. 2003;75(10):2349–54.

106. Pule BO, Torto N. Determination of Acrylamide in Cooking Oil by Agilent Bond Elut QuEChERS Acrylamide Kit and HPLC-DAD (Application note 5990-5988EN) [Internet]. Agilent Technologies. [citado el 1 de junio de 2019]. Disponible en: https://www.gimitec.com/file/5990-5988EN.pdf

107. Al-Taher F. Analysis of Acrylamide in French Fries using Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC kit and LC / MS / MS. Food Appl. 2012;(2):1–6.

108. Mastovska K, Lehotay S. Rapid Sample Preparation Method for LC-MS/MS or GC-MS Analysis of Acrylamide in Various Food Matrices. J Agric Food Chem. 2006;54:7001–8.

109. Kunsagi Z, Stroka J. Determination of Ochratoxin A in Capsicum spp.

(Paprika and Chili) by Immunoaffinity Column Cleanup and Liquid Chromatography: Collaborative Study. J AOAC Int. 2014;97(3):876–83.

110. Working PK, Bentley KS, Hurtt ME, Mohr KL. Comparison of the dominant lethal effects of acrylonitrile and acrylamide in male Fischer 344 rats. Mutagenesis. 1987;2(3):215–20.

111. Waters Corporation. Oasis Cartridges and 96-Well Plates: Care and use manual [Internet]. [citado el 20 de diciembre de 2020]. p. 1–13. Disponible en: https://www.waters.com/webassets/cms/support/docs/716001391en.pdf

112. Callegari-Jacques SM. Regressão linear simples. En: Callegari-Jacques S, editor. Bioestatística: Princípios e Aplicações. Porto Alegre: Artmed; 2007. p. 94–105.

113. Pedreschi F, Moyano P, Kaack K, Granby K. Color changes and acrylamide formation in fried potato slices. Food Res Int. 2005;38(1):1–9.

114. Majcher M, Jeleń HH. Acrylamide formation in low-fat potato snacks and its correlation with colour development. Food Addit Contam. 2007;24(4):337–42.

115. Bhaskar PB, Wu L, Busse JS, Whitty BR, Hamernik AJ, Jansky SH, et al. Suppression of the vacuolar invertase gene prevents cold-induced sweetening in potato. Plant Physiol. 2010;154(2):939–48.

116. Radio Programas del Perú Noticias. ¿Las papas fritas dan cáncer?, un estudio responde La [Internet]. RPP Noticias. 2017 [citado el 1 de diciembre de 2021]. Disponible en: https://rpp.pe/ciencia/mas-ciencia/las-papas-fritas-dan-cancer-un-estudio-responde-noticia-1026094

117. Diario Correo. Esta dato sobre las papitas fritas te hará querer dejar de consumirlas [Internet]. Diario Correo. 2015 [citado el 1 de diciembre de 2021]. Disponible en: https://diariocorreo.pe/salud/esta-dato-sobre-las-papitas-fritas-te-hara-querer-dejar-de-consumirlas-627017/

118. Agencia Peruana de Noticias Andina. Advierten que algunas frituras contienen acrilamida, una sustancia cancerígena [Internet]. Andina Noticias. 2014 [citado el 1 de diciembre de 2021]. Disponible en: https://andina.pe/agencia/noticia-advierten-algunas-frituras-contienen-acrilamida-una-sustancia-cancerigena-498072.aspx

119. Diario El Comercio. Las tostadas quemadas y las papas fritas podrían causar cáncer [Internet]. Diario El Comercio. 2017 [citado el 1 de diciembre de 2021]. Disponible en: https://elcomercio.pe/tecnologia/ciencias/tostadas-quemadas-papas-fritas-causar-cancer-160568-noticia/

120. Portal Perú.com. ¿ Comer tostadas quemadas puede causar cáncer ? ¿ Qué tan cierto puede ser esto ? [Internet]. Portal Perú.com. 2013 [citado el 1 de diciembre de 2021]. Disponible en: https://peru.com/actualidad/sabias-que/comer-tostadas-quemadas-puede-causar-cancer-que-tan-cierto-puede-esto-noticia-206931

121. Diario Trome. ¿ Comes papas fritas y tostadas quemadas ? ¡ Cuidado ! Podrías desarrollar cáncer [Internet]. 2017 [citado el 1 de diciembre de 2021]. Disponible en: https://trome.pe/familia/salud/comes-papas-fritas-

tostadas-quemadas-cuidado-desarrollar-cancer-video-fotos-37896/

X. ANEXOS

X.1. Anexo 1. Reporte de Investigación de Mercado para Snacks en Perú, realizado de Euromonitor en el 2018.

Passport

SAVOURY SNACKS IN PERU - ANALYSIS

Country Report | Jul 2018

HEADLINES

- Savoury snacks grows by 2% to reach 42,000 tonnes in 2018, while in current value terms sales rise by 5% to reach PEN750 million
- Savoury biscuits is the most popular category, achieving a 66% value share in 2018
- Nuts, seeds and trail mixes is the fastest growing category in 2018, rising by 10% in current value terms
- The average unit price grows by 3% during 2018
- Mondelez Perú SA manages to retain its leadership in 2018, with a 26% value share
- Savoury snacks to record a CAGR of 2% at constant 2018 prices over the forecast period to reach PEN840 million in 2023

PROSPECTS

Peruvians prefer native products

Most Peruvians perceive savoury snacks as healthy, since they do not contain sugar. However, each year more consumers improve their knowledge and realise that not all savoury snacks are as healthy as they thought. Therefore, they are favouring savoury snacks made from native products such as plantain, sweet potatoes or other vegetables. They also like nuts and corn grains in different varieties, usually salted. All snacks that include native products are considered more natural than for example puffed products or even potato chips, which are associated with chemicals.

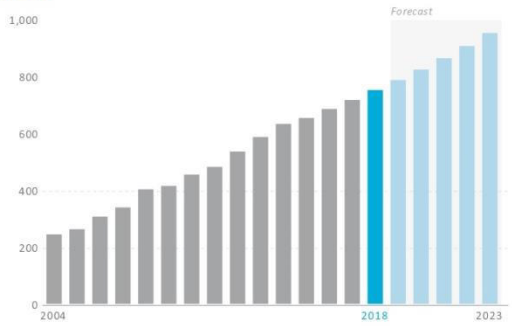
Demand for nuts, seeds and trail mixes is rapidly growing

Market Sizes

Sales of Savoury Snacks

Retail Value RSP - PEN million - Current - 2004-2023

750



Sales Performance of Savoury Snacks

% Y-O-Y Retail Value RSP Growth 2004-2023

Nuts, seeds and trail mixes was the largest-growing category in 2017 and 2018, in both volume and value sales. The category is not mature yet and has large opportunities to keep growing because demand for nuts, seeds and trail mixes is rising fast. The reason for this is that consumers are trying to find more snack options that do not contain sugar, carbs or bad fats. This increasing trend is followed by consumers from children to adults; so much sales growth is being generated by young people.

The main threat to this category is economic deceleration, because the unit prices are higher than those of all other savoury snacks. Therefore, manufacturer and retailer efforts should focus on highlighting product attributes. Additionally, small pack sizes are expected to gain ground.

The new labelling law is expected to negatively affect savoury snacks

Savoury snacks has been benefiting from consumers being more informed; shoppers are switching from sweetened products to savoury ones. However, in mid-2018 a new labelling law is being enforced in Peru and all products will need to clearly indicate its amount of sugar, salt and fat. This is expected to negatively affect products such as puffed snacks, which have a large fat content, as well as potato chips and all other chips, including vegetable ones or those made from native ingredients. Also, some nuts are high in salt and fat. Therefore, customer perception will change to some extent, but in the middle and long term consumers will keep buying these products.

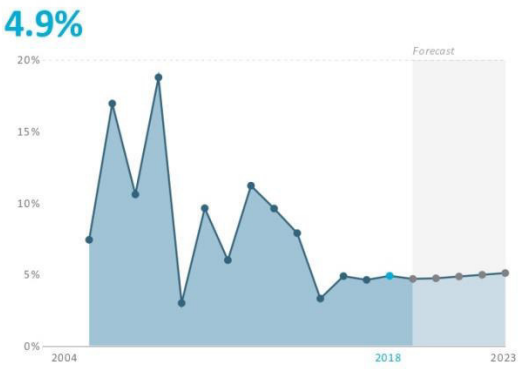
COMPETITIVE LANDSCAPE

The main competition comes from unpackaged products

There is strong competition among manufacturers, including multinational players such as Mondelez Perú SA and Snacks America Latina SRL (PepsiCo Inc), and national producers such as Alicorp SAA. Their successful strategies include having a wide portfolio and penetrating modern and traditional channels. But the main competition comes from unpackaged products, which are sold by weight in markets or in small food stores. The offering of unpackaged products is very large and includes chips (potatoes, sweet potatoes, plantains, other vegetables) and savoury biscuits. They target all kinds of consumers, from families to foodservice clients that prefer unpackaged goods due to their lower unit prices.

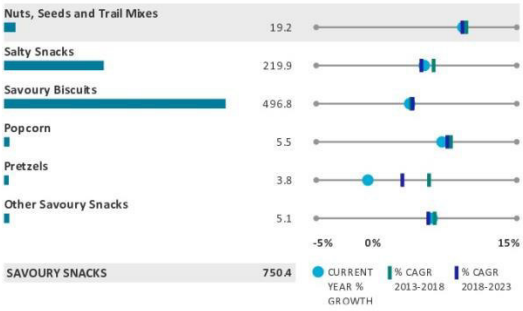
Availability is a key success factor

Savoury snacks are mainly bought for two different occasions: individual snacking, often on impulse; and get-togethers. In both cases, availability is the key success factor, as once the customer is in a point of sale, he/she will purchase the product that is



Sales of Savoury Snacks by Category

Retail Value RSP - PEN million - Current - 2018



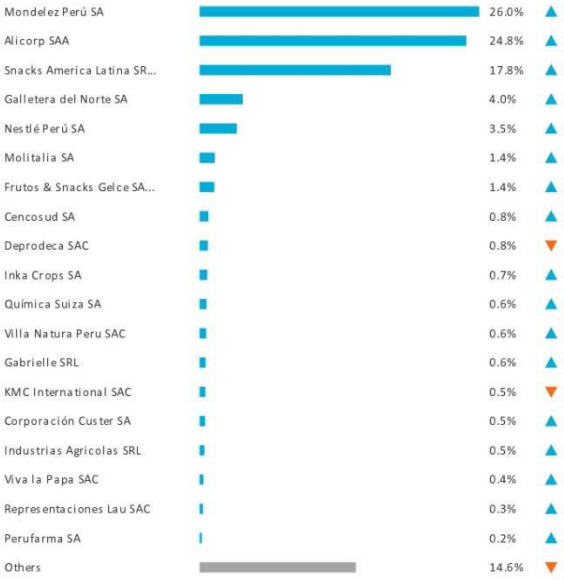
displayed. Therefore, manufacturers have to be present in all kinds of channels, mainly traditional ones such as independent small grocers, which lead distribution, but also supermarkets and hypermarkets, which are increasing their participation.

There are frequent launches

New launches are frequent in savoury snacks. There are new brands offering sweet potato products, plantain and Peruvian original grain versions, as well as salty big corn, for example Salysol, Cricket's, El Artesano and Gelce. But there are also new imported brands, eg Granuts, which targets young consumers. They have all come to increase the offering within savoury snacks, while consolidated local brands such as Manitoba, Inka Chips and Custer keep expanding their portfolios; and private label is following this trend. The problem is that consumers do not easily differentiate between each manufacturer in terms of value proposal, and consider most products as being the same, except for differences in product type or flavour.

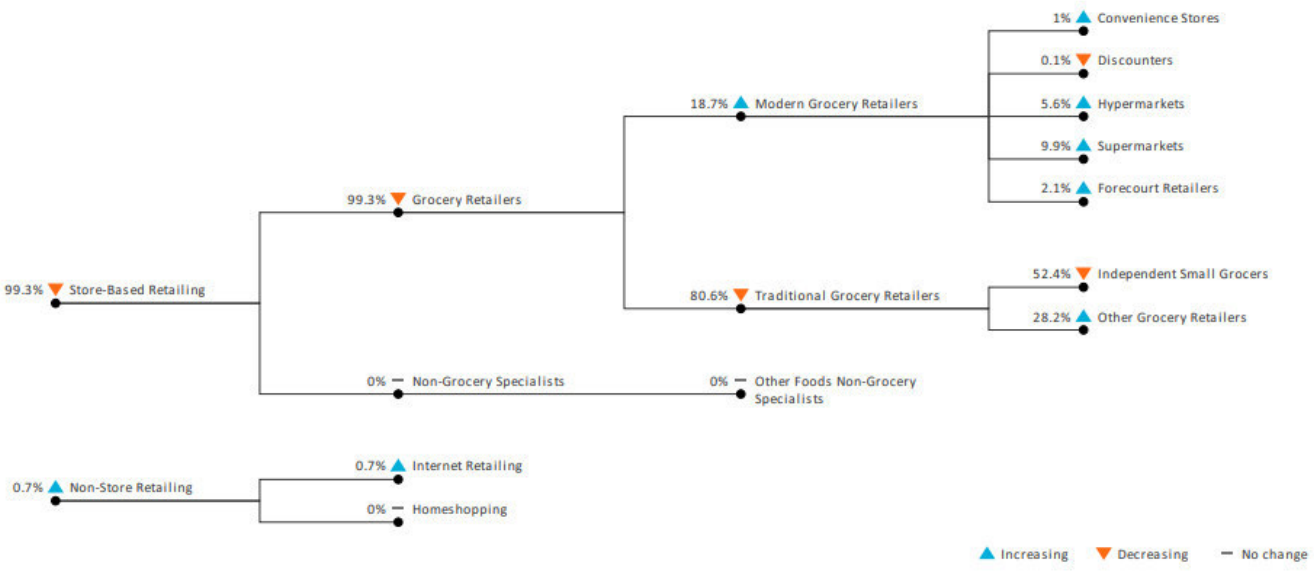
Competitive Landscape

Company Shares of Savoury Snacks
% Share (NBO) - Retail Value RSP - 2018



Distribution

Channel Distribution for Savoury Snacks
Retail Value RSP 2018 and Percentage Point Growth - 2013-2018



X.2. Anexo 2. Difusión sobre la acrilamida en papas en medios de comunicación de Perú.

Medio de comunicación	Fecha de difusión	Título de la publicación
RPP	25/01/2017	¿Las papas fritas dan cáncer?, un estudio responde(116)
Correo	21/10/2015	Esta dato sobre las papitas fritas te hará querer dejar de consumirlas(117)
Agencia Andina	16/03/2014	Advierten que algunas frituras contienen acrilamida, una sustancia cancerígena(118)
El Comercio	23/01/2017	Las tostadas quemadas y las papas fritas podrían causar cáncer(119)
Perú.com	5/11/2013	¿Comer tostadas quemadas puede causar cáncer? ¿Qué tan cierto puede ser esto?(120)
Trome	23/01/2017	¿Comes papas fritas y tostadas quemadas? ¡Cuidado! Podrías desarrollar cáncer(121)

Fuente propia.

X.3. Anexo 3. Registro sanitario de hojuela de papas fritas en Lima metropolitana en el año 2018.

REGISTRO	MARCA	FECHA EMISION	FECHA VENCIMIENTO	RAZON SOCIAL
E5618017N/NARPLU	ISELITAS	22/06/2017	22/06/2022	NADALCO S.A.C.
E5701117N/NASBGV	CROCANTES MIGUELITO	4/07/2017	4/07/2022	SOBERANIS GAVINO EBER WILLIAN
E7301214N/NAMLFO	KRYPTOS	3/02/2014	3/02/2019	MILIAN FLORES ALBERTO
E7301313N/NARDSC	REDJOS	5/02/2018	5/02/2023	REDJOS SOCIEDAD ANONIMA CERRADA
E7304015N/NAPNTR	TORRICHIP	20/05/2015	20/05/2020	PANIFICADORA TORRES S.A.C.
E7304113N/NASAAE	LAYS	4/06/2013	4/06/2018	SNACKS AMERICA LATINA S.R.L.
E7304716N/NASAEL	BOCADITOS PIURANOS	21/03/2016	21/03/2021	SNACKS EL CHURRE S.A.C.
E7305614N/NARVCR	VIDA LIGHT	20/05/2014	20/05/2019	RIVERO CORONADO MARTHA ASUNCION
E7305616N/NACRRY	KIMI SUR	4/04/2016	4/04/2021	CARDENAS REYES KIMI SARAHI
E7306117N/NANLIP	CRANCHIS	4/04/2017	4/04/2022	NILANGE IMPORT - EXPORT SAC
E7307216N/NALNEI	PAPI RICAS CON SABOR A SAL	11/05/2016	11/05/2021	LANTO E.I.R.L.
E7307515N/NABCEL	EL CRUCEÑITO	26/08/2015	26/08/2020	BOCADITOS EL CRUCENITO S R LTDA
E7308114N/NAFOML	FRITOS RICOS	12/08/2014	12/08/2019	FLORES MILIAN JUAN MARCIAL
E7308916N/NACCYR	EL NORTEÑITO	10/06/2016	10/06/2021	CUCHUÑAUPA YARANGA ABRAHAN ALEXANDER
E7311014N/NAROCL	BOCADITOS QUIANITO	20/08/2014	20/08/2019	RIOS CELADITA FAUSTINA
E7311416N/NAFLNG	FULL NEGOCIOS SNACK S.A.C.	5/08/2016	5/08/2021	FULL NEGOCIOS SNACK S.A.C.
E7312513N/NAPOJH	JOHN'S	6/12/2013	6/12/2018	PRODUCTOS JOHN´S S.A.C
E7312713E/NAEWN	WONG / METRO	20/12/2013	20/12/2018	E WONG S A
E7314916N/NADNSA	DANIZA SNACKS	8/11/2016	8/11/2021	DANIZA SNAKS S.A.C.

E7316316N/NABCPQ	BOCADITOS PQ SNACKS	22/11/2016	22/11/2021	BOCADITOS PQ SNACKS S.A.C. - PQ SNACKS S.A.C.
E7319016N/NASTSN	ALEMAT FOODS SNACKS, CHIPS & SNACKS, DELY SNACKS	29/12/2016	29/12/2021	SOTO SANTOS ALEJANDRO TEODOCIO
N1600516N/NAMGPO	MG QUICK; MG NATURA	5/05/2016	5/05/2021	MG NATURA PERU S.A.C.
N3100116N/NKCICA	CHIFLES CRASH DEL NORTE	20/07/2016	20/07/2021	CHIFLES CRASH DEL NORTE S.A.C.
N8500216N/NGIDAI	FRANCOS	5/01/2016	5/01/2021	INDUSTRIAS ALIMENTARIAS VERA S.A.C.
N8500515E/NASPPR	BELL´S"	8/01/2015	8/01/2020	SUPERMERCADOS PERUANOS SOCIEDAD ANONIMA 'O ' S.P.S.A.
N8500909N/NAMNLC	BOCADITOS MONTALVO	27/01/2014	27/01/2019	MONTALVO LUCAS OLINDA
N8501115N/NAMRAI	INKASNACK, ANDESNACKS, NATUNATT, SOL&VALLE, NATURE, SHEBIS, WONG, METRO	26/01/2015	26/01/2020	MORAN ALIMENTOS DEL PERU S.A.C
N8501217N/NAIESN	DELI CHIPS	18/01/2017	18/01/2022	IMEX SAN JOSE S.A.C.
N8501617N/NAGRCN	GARDEN CENTER 4 ESTACIONES	30/01/2017	30/01/2022	GARDEN CENTER 4 ESTACIONES S A
N8502017N/NAHRSL	PEDRO HERRERA SALCEDO	2/02/2017	2/02/2022	HERRERA SALCEDO PEDRO ENRIQUE
N8502217N/NABKMX	KRASH - MASHKAR	3/02/2017	3/02/2022	BOKADITOS MIX MAKAR S.A.C.
N8502516N/NACROM	BOCADITOS CARDENAS	19/01/2016	19/01/2021	CARDENAS OLMEDA CLAUDIO
N8502715N/NASURY	BOCADITOS EL ORIENTE	17/03/2015	17/03/2020	SHUAN REYES JUSTIDIANO
N8504016E/NAHPTT	TOTTUS	12/02/2016	12/02/2021	HIPERMERCADOS TOTTUS S.A
N8504414N/NAIVBR	KARINTO	5/05/2014	5/05/2019	PEPSICO ALIMENTOS PERU S.R.L.

N8504811N/NAIKCON	INKA CHIPS	30/05/2016	30/05/2021	INKA CROPS S.A.
N8505614N/NANGYR	YURY GOOL	11/07/2014	11/07/2019	NEGOCIACIONES YURY - GOOL E.I.R.L.
N8506217N/NAYPEI	MUNDO ORGANICO	27/04/2017	27/04/2022	YUPANKY'S E.I.R.L.
N8506408N/NANTMR	PEGUI	24/09/2013	24/09/2018	NATTERI MARMOL GUIDO JAVIER
N8506613N/NAMRMB	PAPIKAR CHIPS	21/05/2013	21/05/2018	MIRIAN MABEL TRUJILLO PAUCAR E.I.R.L.
N8506615N/NAHRSC	PECO´S	25/05/2015	25/05/2020	HERBY'S SOCIEDAD ANONIMA CERRADA - HERBY'S S.A.C.
N8507414N/NACMNÑ	CAMPOS	13/08/2014	13/08/2019	CAMPOS NUÑEZ WILMER AUWER
N8507610N/NARSSRN/ NARSSL	RASIL, XANDER, CINEPOLIS, AROS, MARCA UNO, TOTTUS	17/03/2015	17/03/2020	RASIL SRL
N8508413N/NAPODN	DON JUSTO	26/06/2013	26/06/2018	PRODUCTOS DON JUSTO S.A.C.
N8509515N/NAFRDM	CRAKS ORO	31/07/2015	31/07/2020	FERNANDEZ DOMINGUEZ FLOR DE DELIA
N8510013N/NASRLM	SNACKS & NUTS	23/08/2013	23/08/2018	PRIME TRADERS S.A.C.
N8510109N/NAVLNTN/ NAVLNT	VILLA NATURA	21/10/2014	21/10/2019	VILLA NATURA PERU S.A.C
N8510416N/NAHRRM	AKEMY	6/06/2016	6/06/2021	HIROSE RAMOS JANET AKEMY
N8510915N/NAFUSA	VILLA NATURA	26/08/2015	26/08/2020	FRUTOS & SNACKS GELCE S.A.C.
N8510917N/NALPML	MR DEL NORTE MACELL	31/07/2017	31/07/2022	LOPEZ MELENDEZ CESAR AUGUSTO
N8511416N/NAATAD	SNACKS MAS	20/06/2016	20/06/2021	ALTOS ANDES BRANDS S.A.C.
N8511615N/NACNPL	MAXXI CROCk	4/09/2015	4/09/2020	CANTORAL PALOMINO MAXIMILIANO
N8512717N/NABCGN	DYADHY	17/08/2017	17/08/2022	BICERREL GONZALES MARIA DOLORES
N8514716N/NAMLML	MARKORITOS	4/08/2016	4/08/2021	MILIAN JHONY JESUS

N8515116N/NAIDSU	BOCADITOS SHUAN	23/08/2016	23/08/2021	INDUSTRIAL SHUAN E.I.R.L.
N8515415N/NABCCI	BOCADITOS CRISLITOS SRL	12/11/2015	12/11/2020	BOCADITOS CRISLITOS S.R.L
N8516615N/NAYNCU	YE-YEY'S	26/11/2015	26/11/2020	YANTAS CHUCO NERY
N8516616N/NAMGEI	PRODUCTOS * M G *	23/09/2016	23/09/2021	M.G.N.C. E.I.R.L.
N8517015N/NAMNSL	MISKY MARIA	27/11/2015	27/11/2020	MONTES SILVA ALICIA CARMEN
N8517215N/NAIKCO	VIVA LA PAPA	1/12/2015	1/12/2020	VIVA LA PAPA S.A.C.
N8517615N/NACRGR	JOEL / JENNIFER	11/12/2015	11/12/2020	CORPORACION GARRIAZO SOCIEDAD ANONIMA CERRADA - CORPORACION G S.A.C.
N8519816N/NAPOSN	SANTA MILA S.A.C.	28/11/2016	28/11/2021	PRODUCTOS SANTA MILA S.A.C.
N9501014N/NAJRVL	PIQUEOS DEL INKA	4/11/2014	4/11/2019	JURO VILCHEZ YAZMIN FLOR
N9502716N/NAGOSA	TOTO SNACKS	19/04/2016	19/04/2021	GLOBAL SNACKS PERÚ S.A.C.
N8518717N/NAAISL	Alimentos selectos Perú	13/12/2017	13/12/2022	ALIMENTOS SELECTOS PERÚ S.A.C.
E7319017N/NATJSL	D´GUSTIKOS	29/11/2017	29/11/2022	TEJA Y SALAVERRY Y ASOCIADOS EMPRENDEDORES S.A.C.
E7301118N/NAHAHA	PRODUCTOS CRISTIAN	2/02/2018	2/02/2023	HUAMÁN HUAMÁN SEGUNDO ALEJANDRO
E7318917N/NAPOSN	SAN ANDRES, SAN JUAN	20/11/2017	20/11/2022	PROCESADORA SAN JUAN EIRL
N8500318N/NARMCI	PRODUCTOS SAN GABRIEL	5/01/2018	5/01/2023	REMIGIO CHINGUEL JOSUE
N9502216N/NARDSC	PAPA ONDA	17/03/2016	17/03/2021	REDJOS SOCIEDAD ANONIMA CERRADA
N8507210N/NAPOAI	CARTER	1/04/2015	1/04/2020	PRODUCTOS ALIMENTICIOS CARTER SOCIEDAD ANONIMA

E7307014N/NADSEC	MR. CHIPS	23/06/2014	23/06/2019	DEPRODECA

Fuente propia.

X.4.Anexo 4: Procesamiento de muestras de hojuelas de papa fritas.

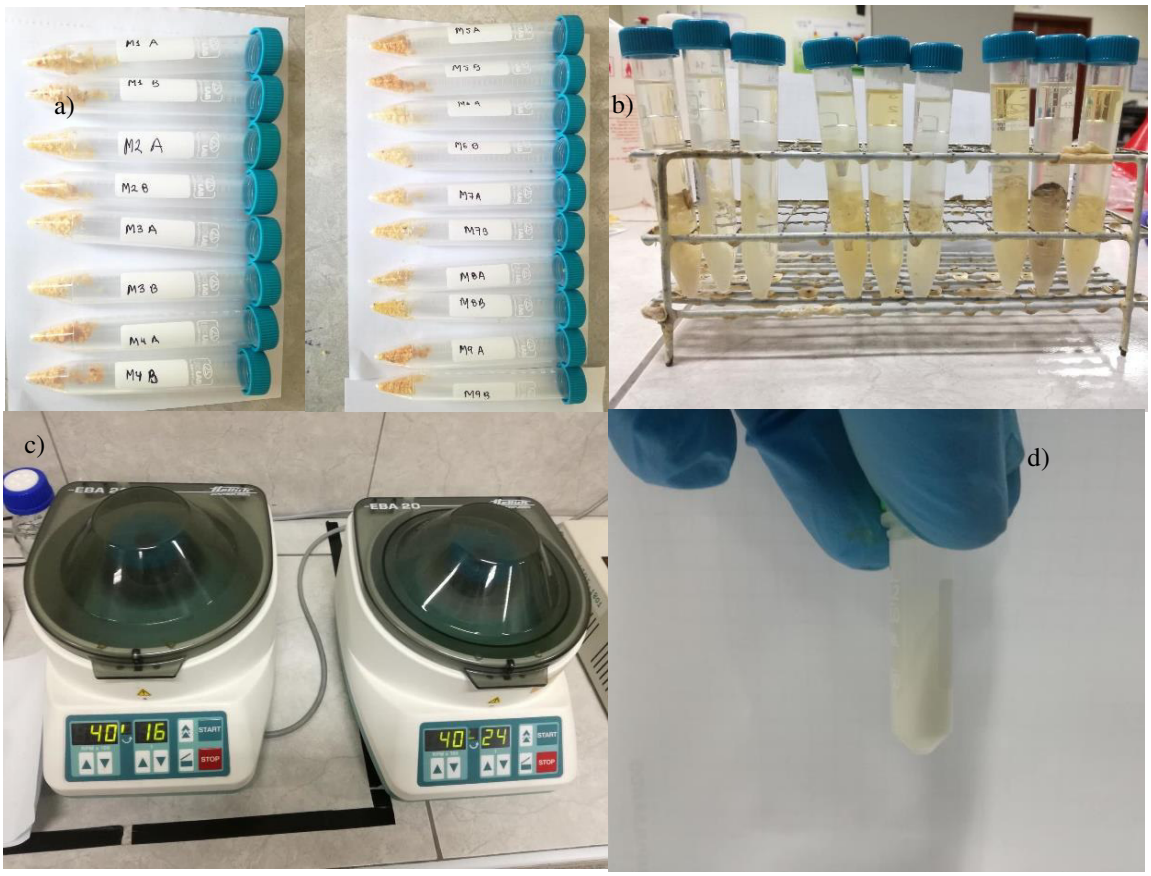


Figura. a) Molienda de muestras de hojuelas de papas fritas, b) Fases de extracción de acrilamida en muestras de hojuelas de papas fritas, superior (hexano), medio (acetonitrilo), inferior (acuosa), c) separación de fases agua/acetonitrilo mediante centrifugación, d) empleo del kit Disque QuEChERS clean-up.



Figura. Análisis de UPLC en el Laboratorio de Tecnologías Limpias y/o Emergentes en la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional de Trujillo.

X.5. **Anexo 5:** Reporte Cromatográfico

a. Resumen de corridas cromatográficas

Sequence Overview

Sequence Details

Name:	**Acrilamide**	*Created On:*	**18/Ago/18 18:08:09**
Directory:	**Instrument Data\U3000_RS_001\Acrilamide**	*Created By:*	**OMNICAdmin**
Data Vault:	**ChromeleonLocal**	*Updated On:*	**25/Nov/18 18:25:33**
No. of Injections:	**516**	*Updated By:*	**OMNICAdmin**

Injection Details

No.	Injection Name	Position	Type	Level	Inject Time
1	Acrilamida	RE4	Unknown		18/Ago/18 18:26:58
2	Metacrilamida	RE5	Unknown		18/Ago/18 18:38:40
3	Acrilamide 50 D	RE4	Unknown		18/Ago/18 18:50:44
4	Metacrilamida 50 D	RE5	Unknown		18/Ago/18 19:02:26
5	META +ACRILAMIDA MIX	RE6	Unknown		18/Ago/18 19:19:34
6	META +ACRILAMIDA MIX	RE6	Unknown		18/Ago/18 19:26:12
7	Acrilamide 50 D	RE4	Unknown		18/Ago/18 19:32:50
8	Metacrilamida 50 D	RE5	Unknown		18/Ago/18 19:39:27
9	blk de spking	RE6	Unknown		18/Ago/18 20:49:58
10	spiking	RE6	Unknown		18/Ago/18 21:01:39
11	ACM+MET 20ug/ml	GB4	Unknown		01/Set/18 15:51:40
12	spiking	RE8	Unknown		01/Set/18 15:58:14
13	ACRILAMIDA	RA1	Unknown		01/Set/18 16:17:11
14	METAACRILAMIDA	RB1	Unknown		01/Set/18 16:23:45
15	ACRILAMIDA + META	RC1	Unknown		01/Set/18 16:30:20
16	ACRILAMIDA + META	RE1	Unknown		01/Set/18 16:40:47
17	CALIBRADO G	RE2	Unknown		01/Set/18 16:47:22
18	G	RE3	Unknown		01/Set/18 16:53:57
19	CALIBRADO G	RE2	Unknown		01/Set/18 17:04:48
20	G	RE3	Unknown		01/Set/18 17:11:22
21	CALIBRADO G	RE2	Unknown		01/Set/18 17:24:32
22	G	RE3	Unknown		01/Set/18 17:41:08
23	ACM+META	RE1	Unknown		01/Set/18 17:58:16
24	MUESTRA G	GB4	Unknown		01/Set/18 18:16:56
25	ACM+META	RE1	Unknown		01/Set/18 18:34:01
26	MUESTRA G	GB4	Unknown		01/Set/18 18:46:06
27	MUESTRA G	GB4	Unknown		01/Set/18 18:58:51
28	CALIBRACION G	GB5	Unknown		01/Set/18 19:13:08

29	SPIKING	GB6	Unknown		01/Set/18 19:26:29
30	ACRYLAMIDAD50	RA1	Unknown		01/Set/18 19:35:49
31	SPIKING	RA1	Unknown		01/Set/18 20:11:49
32	STD+IS	RA2	Unknown		01/Set/18 20:21:30
33	BLK SPIKING	RA3	Unknown		01/Set/18 20:30:49
34	SPIKING	RA1	Unknown		01/Set/18 20:40:54
35	BLK SPIKING	RA3	Unknown		01/Set/18 20:50:12
36	SPIKING	RA3	Unknown		01/Set/18 20:59:31
37	SPIKING	RA1	Unknown		01/Set/18 21:08:49
38	BLK	RA3	Unknown		01/Set/18 21:19:41
39	G	RB7	Unknown		01/Set/18 21:28:59
40	CAL G	RC7	Unknown		01/Set/18 21:38:18
41	CAL G	RC8	Unknown		01/Set/18 21:48:19
42	BLK SPIKING	RE1	Unknown		02/Set/18 21:49:11
43	SPIKING	RE2	Unknown		02/Set/18 22:00:26
44	SPIKING	RE2	Unknown		02/Set/18 22:52:33
45	BLK SPIKING	RE1	Unknown		02/Set/18 23:01:05
46	ST+IS	RE3	Unknown		02/Set/18 23:09:36
47	ST+IS	RE3	Unknown		02/Set/18 23:18:55
48	SPIKING	RE2	Unknown		02/Set/18 23:29:37
49	ST+IS	RE3	Unknown		02/Set/18 23:38:23
50	SPIKING	RE2	Unknown		02/Set/18 23:46:23
51	SPIKINGBLK	RE1	Unknown		02/Set/18 23:55:43
52	SPIKINGBLK	RE2	Unknown		03/Set/18 00:04:09
53	SPIKINGBLK	RE3	Unknown		03/Set/18 00:11:54
54	ST+IS	RE3	Unknown		03/Set/18 00:19:39
55	SPIKING	RE2	Unknown		03/Set/18 00:27:23
56	ST+IS	RE3	Unknown		03/Set/18 00:36:08
57	SPIKING	RE2	Unknown		03/Set/18 00:43:54
58	ST+IS D50	RE4	Unknown		03/Set/18 00:52:01
59	ST+IS D50	RE4	Unknown		03/Set/18 00:59:47
60	ST+IS D50	RE4	Unknown		03/Set/18 01:09:59
61	SPIKING	RE2	Unknown		03/Set/18 01:31:27
62	SPIKING	RE2	Unknown		03/Set/18 01:39:36
63	ST+IS D50	RE4	Unknown		03/Set/18 01:47:24
64	ST+IS D50	RE4	Unknown		03/Set/18 01:56:14
65	SPIKING	RE2	Unknown		03/Set/18 02:04:51
66	BLK SPIKINGB	RE1	Unknown		03/Set/18 02:13:27
67	ST+IS	RE3	Unknown		03/Set/18 02:26:45
68	SPIKING	RE4	Unknown		03/Set/18 02:37:43
69	SPIKING	RE2	Unknown		03/Set/18 02:46:19
70	SPIKING	RE2	Unknown		03/Set/18 02:58:51
71	SOLUC SPK D10	RA1	Unknown		15/Set/18 18:12:48
72	SOLUC SPK D10	RA1	Unknown		15/Set/18 18:22:29
73	SOLUC SPK D10	RA1	Unknown		15/Set/18 18:34:32
74	SOLUC SPK D10	RA1	Unknown		15/Set/18 18:45:25
75	BLK SPK	RA2	Unknown		15/Set/18 18:57:27
76	SPK	RA3	Unknown		15/Set/18 19:08:20
77	BLK SPK	RA2	Unknown		15/Set/18 19:18:26
78	SPK	RA3	Unknown		15/Set/18 19:27:22
79	BLK SPK	RA2	Unknown		15/Set/18 19:37:28

80	BLK SPK 2	RA2	Unknown		15/Set/18 19:49:53
81	SPK2	RA3	Unknown		15/Set/18 19:58:50
82	BLK SPK 2	RA2	Unknown		15/Set/18 20:11:15
83	SPK2	RA3	Unknown		15/Set/18 20:20:11
84	BLK SPK 2	RA2	Unknown		15/Set/18 20:47:54
85	SPK 2	RA3	Unknown		15/Set/18 21:05:12
86	BLK SPK 2	RA2	Unknown		15/Set/18 21:16:05
87	SOLUC SPK D10	RA1	Unknown		15/Set/18 21:26:34
88	SOLUC SPK D10	RA1	Unknown		15/Set/18 21:40:57
89	SOLUC SPK D10	RA1	Unknown		15/Set/18 21:56:53
90	BLK SPK 2	RA2	Unknown		15/Set/18 22:06:30
91	SPK 2	RA3	Unknown		15/Set/18 22:16:08
92	ACN	RA4	Unknown		15/Set/18 22:37:12
93	250 ng MET	RA5	Unknown		15/Set/18 22:46:03
94	250 ng MET	RA6	Unknown		15/Set/18 22:53:14
95	SOLUC SPK D10	RA1	Unknown		15/Set/18 23:01:59
96	1 ug ACM	RA5	Unknown		15/Set/18 23:10:55
97	BLK SPK 2	RA2	Unknown		15/Set/18 23:19:28
98	SPK 2	RA3	Unknown		15/Set/18 23:28:01
99	SOLUC SPK D10	RA4	Unknown		15/Set/18 23:41:37
100	SOLUC SPK D10	RA1	Unknown		15/Set/18 23:50:10
101	SPK 2	RA3	Unknown		16/Set/18 00:02:59
102	SPK 2	RA3	Unknown		16/Set/18 00:25:31
103	M1A	RB1	Unknown		16/Set/18 01:10:02
104	M1A	RB1	Unknown		16/Set/18 01:21:41
105	M1B	RB2	Unknown		16/Set/18 01:33:21
106	M1B	RB2	Unknown		16/Set/18 01:45:00
107	M2A	RB3	Unknown		16/Set/18 01:56:40
108	M2A	RB3	Unknown		16/Set/18 02:08:19
109	M2B	RB4	Unknown		16/Set/18 02:19:59
110	M2B	RB4	Unknown		16/Set/18 02:31:38
111	M3A	RB5	Unknown		16/Set/18 02:43:18
112	ACN	RA4	Unknown		16/Set/18 02:54:57
113	M3A	RB5	Unknown		16/Set/18 03:06:36
114	M3B	RB6	Unknown		16/Set/18 03:18:16
115	M3B	RB6	Unknown		16/Set/18 03:29:55
116	M4A	RB7	Unknown		16/Set/18 03:41:34
117	M4A	RB7	Unknown		16/Set/18 03:53:14
118	M4B	RB8	Unknown		16/Set/18 04:04:53
119	M4B	RB8	Unknown		16/Set/18 04:16:33
120	M5A	RC1	Unknown		16/Set/18 04:28:12
121	M5A	RC1	Unknown		16/Set/18 04:39:51
122	ACN	RA4	Unknown		16/Set/18 04:51:31
123	M5B	RC2	Unknown		16/Set/18 05:03:10
124	M5B	RC2	Unknown		16/Set/18 05:14:49
125	M6A	RC3	Unknown		16/Set/18 05:26:29
126	M6A	RC3	Unknown		16/Set/18 05:38:08
127	M6B	RC4	Unknown		16/Set/18 05:49:47
128	M6B	RC4	Unknown		16/Set/18 06:01:26
129	M7A	RC5	Unknown		16/Set/18 06:13:06
130	M7A	RC5	Unknown		16/Set/18 06:24:45

131	M7B	RC6	Unknown		16/Set/18 06:36:24
132	ACN	RA4	Unknown		16/Set/18 06:48:04
133	M7B	RC6	Unknown		16/Set/18 06:59:43
134	M8A	RC7	Unknown		16/Set/18 07:11:22
135	M8A	RC7	Unknown		16/Set/18 07:23:01
136	M8B	RC8	Unknown		16/Set/18 07:34:41
137	M8B	RC8	Unknown		16/Set/18 07:46:20
138	M9A	RD1	Unknown		16/Set/18 07:57:59
139	M9A	RD1	Unknown		16/Set/18 08:09:38
140	M9B	RD2	Unknown		16/Set/18 08:21:17
141	M9B	RD2	Unknown		16/Set/18 08:32:57
142	ACN	RA4	Unknown		16/Set/18 08:44:36
143	M10A	RD3	Unknown		16/Set/18 08:56:15
144	M10A	RD3	Unknown		16/Set/18 09:07:54
145	M10B	RD4	Unknown		16/Set/18 09:19:33
146	M10B	RD4	Unknown		16/Set/18 09:31:12
147	M11A	RD5	Unknown		16/Set/18 09:42:52
148	M11A	RD5	Unknown		16/Set/18 09:54:31
149	M11B	RD6	Unknown		16/Set/18 10:06:10
150	M11B	RD6	Unknown		16/Set/18 10:17:49
151	MUESTRA A	RB1	Unknown		16/Set/18 15:33:55
152	CALIBRADO A	RC1	Unknown		16/Set/18 15:45:34
153	CALIBRADO A	RC1	Unknown		16/Set/18 15:55:34
154	ACN	RA4	Matrix		16/Set/18 15:59:09
155	MUESTRA A	RB1	Unknown		16/Set/18 16:16:37
156	CALIBRADO A	RC1	Unknown		16/Set/18 16:28:16
157	CALIBRADO A	RC2	Unknown		16/Set/18 16:39:55
158	CALIBRADO A	RC1	Unknown		16/Set/18 17:02:02
159	CALIBRADO A	RC1	Unknown		16/Set/18 17:13:41
160	ACN	RA4	Unknown		16/Set/18 17:25:20
161	CALIBRADO B	RC2	Unknown		16/Set/18 17:36:58
162	CALIBRADO B	RC2	Unknown		16/Set/18 17:48:37
163	CALIBRADO C	RC3	Calibration Standard	5	16/Set/18 18:00:16
164	CALIBRADO C	RC3	Calibration Standard	5	16/Set/18 18:11:54
165	CALIBRADO D	RC4	Calibration Standard	4	16/Set/18 18:23:33
166	CALIBRADO D	RC4	Calibration Standard	4	16/Set/18 18:35:12
167	CALIBRADO E	RC5	Calibration Standard	3	16/Set/18 18:47:14
168	CALIBRADO E	RC5	Calibration Standard	3	16/Set/18 18:58:53
169	CALIBRADO F	RC6	Calibration Standard	2	16/Set/18 19:10:31
170	CALIBRADO F	RC6	Calibration Standard	2	16/Set/18 19:22:10
171	CALIBRADO G	RC7	Calibration Standard	1	16/Set/18 19:34:35
172	CALIBRADO G	RC7	Calibration Standard	1	16/Set/18 19:46:13
173	ST 4000	GA1	Calibration Standard	1	29/Set/18 19:23:20
174	ST 4000	GA1	Calibration Standard	1	29/Set/18 19:35:19
175	ST 4000	GA1	Calibration Standard	1	29/Set/18 20:57:35
176	blk 4000 ALU 1G	GA2	Calibration Standard	1	29/Set/18 21:09:10
177	4000 ALU 1G	GA3	Calibration Standard	1	29/Set/18 21:20:44
178	MUESTRA ALU 4G	GA4	Calibration Standard	1	29/Set/18 21:32:18
179	ST 4000	GA1	Calibration Standard	1	29/Set/18 21:43:51
180	BLK 4000 1G	GA5	Calibration Standard	1	29/Set/18 21:55:25
181	4000 1G	GA6	Calibration Standard	1	29/Set/18 22:06:58

182	MUESTRA 4G	GA7	Calibration Standard	1	29/Set/18 22:18:31
183	ACN	GA8	Calibration Standard	1	29/Set/18 23:29:20
184	M12A	GB1	Calibration Standard	1	29/Set/18 23:43:11
185	M12A	GB1	Calibration Standard	1	29/Set/18 23:57:01
186	M12B	GB2	Calibration Standard	1	30/Set/18 00:10:52
187	M12B	GB2	Calibration Standard	1	30/Set/18 00:24:44
188	M13A	GB3	Calibration Standard	1	30/Set/18 00:38:37
189	M13A	GB3	Calibration Standard	1	30/Set/18 00:52:29
190	M13B	GB4	Calibration Standard	1	30/Set/18 01:06:21
191	ACN	GA8	Calibration Standard	1	30/Set/18 01:20:13
192	M13B	GB4	Calibration Standard	1	30/Set/18 01:34:05
193	M14A	GB5	Calibration Standard	1	30/Set/18 01:47:57
194	M14A	GB5	Calibration Standard	1	30/Set/18 02:01:49
195	M14B	GB6	Calibration Standard	1	30/Set/18 02:15:40
196	M14B	GB6	Calibration Standard	1	30/Set/18 02:29:32
197	M15A	GB7	Calibration Standard	1	30/Set/18 02:43:24
198	M15A	GB7	Calibration Standard	1	30/Set/18 02:57:15
199	M15B	GB8	Calibration Standard	1	30/Set/18 03:11:07
200	ACN	GA8	Calibration Standard	1	30/Set/18 03:24:58
201	M15B	GB8	Calibration Standard	1	30/Set/18 03:38:49
202	M16A	GC1	Calibration Standard	1	30/Set/18 03:52:40
203	M16A	GC1	Calibration Standard	1	30/Set/18 04:06:31
204	M16B	GC2	Calibration Standard	1	30/Set/18 04:20:22
205	M16B	GC2	Calibration Standard	1	30/Set/18 04:34:13
206	M1A	GC3	Calibration Standard	1	30/Set/18 04:48:04
207	M1A	GC3	Calibration Standard	1	30/Set/18 05:01:54
208	M2B	GC4	Calibration Standard	1	30/Set/18 05:15:45
209	M2B	GC4	Calibration Standard	1	30/Set/18 05:29:35
210	M4A	GC5	Calibration Standard	1	30/Set/18 05:43:26
211	M4A	GC5	Calibration Standard	1	30/Set/18 05:57:16
212	M5A	GC6	Calibration Standard	1	30/Set/18 06:11:06
213	M5A	GC6	Calibration Standard	1	30/Set/18 06:24:57
214	M6A	GC7	Calibration Standard	1	30/Set/18 06:38:47
215	ACN	GA8	Calibration Standard	1	30/Set/18 06:52:37
216	M6A	GC7	Calibration Standard	1	30/Set/18 07:06:27
217	M6B	GC8	Calibration Standard	1	30/Set/18 07:20:16
218	M6B	GC8	Calibration Standard	1	30/Set/18 07:34:06
219	M7A	GD1	Calibration Standard	1	30/Set/18 07:47:56
220	M7A	GD1	Calibration Standard	1	30/Set/18 08:01:45
221	M7B	GD2	Calibration Standard	1	30/Set/18 08:15:34
222	M9A	GD3	Calibration Standard	1	30/Set/18 08:29:24
223	M9A	GD3	Calibration Standard	1	30/Set/18 08:43:12
224	ACN	GA8	Calibration Standard	1	30/Set/18 08:57:01
225	M9B	GD4	Calibration Standard	1	30/Set/18 09:10:50
226	M10A	GD5	Calibration Standard	1	30/Set/18 09:24:38
227	M10A	GD5	Calibration Standard	1	30/Set/18 09:38:27
228	M10B	GD6	Calibration Standard	1	30/Set/18 09:52:15
229	M11A	GD7	Calibration Standard	1	30/Set/18 10:06:04
230	M11A	GD7	Calibration Standard	1	30/Set/18 10:19:52
231	M11B	GD8	Calibration Standard	1	30/Set/18 10:33:40
232	ST 4000	GA1	Calibration Standard	1	30/Set/18 10:47:28

233	ACN	GA8	Calibration Standard	1	30/Set/18 11:01:16
234	BLK PAPA ALU 4000 1G	GA2	Calibration Standard	1	30/Set/18 11:15:04
235	PAPA ALU 4000 1G	GA3	Calibration Standard	1	30/Set/18 11:28:52
236	PAPA ALU 4 G	GA4	Calibration Standard	1	30/Set/18 11:42:39
237	ACN	GA8	Calibration Standard	1	30/Set/18 11:56:27
238	BLK 4000 1G	GA5	Calibration Standard	1	30/Set/18 12:10:14
239	4000 1G	GA6	Calibration Standard	1	30/Set/18 12:24:01
240	MUESTRA 4G	GA7	Calibration Standard	1	30/Set/18 12:37:48
241	ACN	GA8	Calibration Standard	1	30/Set/18 12:51:35
242	ACN	GA8	Calibration Standard	1	30/Set/18 13:05:22
243	ACN	GA8	Calibration Standard	1	30/Set/18 13:19:09
244	ACN	GA8	Calibration Standard	1	30/Set/18 13:32:56
245	BLK 4000 1G	GA5	Calibration Standard	1	30/Set/18 15:50:05
246	ACN	GB2	Calibration Standard	1	30/Set/18 16:03:51
247	BLK 4000 1G	GA5	Calibration Standard	1	30/Set/18 16:22:35
248	4000 1G	GA6	Calibration Standard	1	30/Set/18 16:36:21
249	MUESTRA 4G	GA7	Calibration Standard	1	30/Set/18 16:50:07
250	ST 4000	GA1	Calibration Standard	1	30/Set/18 17:03:52
251	ACN	GA8	Calibration Standard	1	30/Set/18 17:17:38
252	4000 1G	GA6	Calibration Standard	1	30/Set/18 17:31:23
253	ST 4000	GA1	Calibration Standard	1	30/Set/18 17:45:08
254	1000 1G	GE1	Calibration Standard	1	30/Set/18 18:21:03
255	1500 1G	GE2	Calibration Standard	1	30/Set/18 18:34:48
256	2000 1G	GE3	Calibration Standard	1	30/Set/18 18:48:33
257	6000 1G	GE4	Calibration Standard	1	30/Set/18 19:02:18
258	ST 1000	GE5	Calibration Standard	1	30/Set/18 19:16:03
259	ST 1500	GE6	Calibration Standard	1	30/Set/18 19:29:47
260	ST 2000	GE7	Calibration Standard	1	30/Set/18 19:43:32
261	ST 6000	GE8	Calibration Standard	1	30/Set/18 19:57:17
262	1000 1G	GE1	Calibration Standard	1	30/Set/18 20:11:01
263	1500 1G	GE2	Calibration Standard	1	30/Set/18 20:24:46
264	750 st	RA1	Calibration Standard	1	13/Oct/18 20:13:27
265	1000 st	RA2	Calibration Standard	1	13/Oct/18 20:27:18
266	750 st	RA1	Calibration Standard	1	13/Oct/18 21:36:34
267	750 st	RA1	Calibration Standard	1	13/Oct/18 21:50:07
268	1000 st	RA2	Calibration Standard	1	13/Oct/18 22:03:41
269	750 st	RA1	Calibration Standard	1	13/Oct/18 22:46:23
270	750 st	RA1	Calibration Standard	1	13/Oct/18 23:00:01
271	750 st	RA1	Calibration Standard	1	13/Oct/18 23:13:38
272	750 st	RA1	Calibration Standard	1	13/Oct/18 23:23:27
273	750 st	RA1	Calibration Standard	1	13/Oct/18 23:29:29
274	750 st	RA1	Calibration Standard	1	13/Oct/18 23:37:47
275	750 st	RA1	Calibration Standard	1	13/Oct/18 23:44:12
276	750 st	RA1	Calibration Standard	1	13/Oct/18 23:50:37
277	750 st	RA1	Calibration Standard	1	13/Oct/18 23:57:02
278	750 st	RA1	Calibration Standard	1	14/Oct/18 00:08:23
279	750 st	RA1	Calibration Standard	1	14/Oct/18 00:16:44
280	750 st	RA1	Calibration Standard	1	14/Oct/18 00:30:22
281	750 st	RA1	Calibration Standard	1	14/Oct/18 00:43:59
282	750 st	RA1	Calibration Standard	1	14/Oct/18 00:57:35
283	750 st	RA1	Calibration Standard	1	14/Oct/18 01:11:10

284	ACN	RA8	Calibration Standard	1	14/Oct/18 01:24:44
285	750 st	RA1	Calibration Standard	1	14/Oct/18 01:38:18
286	750 st	RA1	Calibration Standard	1	14/Oct/18 01:51:52
287	750 st	RA1	Calibration Standard	1	14/Oct/18 02:05:25
288	750 st	RA1	Calibration Standard	1	14/Oct/18 02:18:59
289	750 st	RA1	Calibration Standard	1	14/Oct/18 02:32:54
290	ACN	RA8	Calibration Standard	1	14/Oct/18 02:46:50
291	1000 st	RA2	Calibration Standard	1	14/Oct/18 03:00:45
292	1000 st	RA2	Calibration Standard	1	14/Oct/18 03:14:41
293	1500 st	RA3	Calibration Standard	1	14/Oct/18 03:28:36
294	1500 st	RA3	Calibration Standard	1	14/Oct/18 03:42:31
295	2000 st	RA4	Calibration Standard	1	14/Oct/18 03:56:26
296	2000 st	RA4	Calibration Standard	1	14/Oct/18 04:10:21
297	3000 st	RA5	Calibration Standard	1	14/Oct/18 04:24:16
298	ACN	RA8	Calibration Standard	1	14/Oct/18 04:38:10
299	3000 st	RA5	Calibration Standard	1	14/Oct/18 04:52:05
300	4000 st	RA6	Calibration Standard	1	14/Oct/18 05:06:00
301	4000 st	RA6	Calibration Standard	1	14/Oct/18 05:19:54
302	750 recuperado	RB1	Calibration Standard	1	14/Oct/18 05:33:48
303	750 recuperado	RB1	Calibration Standard	1	14/Oct/18 05:47:42
304	1000 recuperado	RB2	Calibration Standard	1	14/Oct/18 06:01:36
305	1000 recuperado	RB2	Calibration Standard	1	14/Oct/18 06:15:29
306	1500 recuperado	RB3	Calibration Standard	1	14/Oct/18 06:29:22
307	ACN	RA8	Calibration Standard	1	14/Oct/18 06:43:15
308	1500 recuperado	RB3	Calibration Standard	1	14/Oct/18 06:57:08
309	2000 recuperado	RB4	Calibration Standard	1	14/Oct/18 07:11:00
310	2000 recuperado	RB4	Calibration Standard	1	14/Oct/18 07:24:53
311	3000 recuperado	RB5	Calibration Standard	1	14/Oct/18 07:38:45
312	3000 recuperado	RB5	Calibration Standard	1	14/Oct/18 07:52:37
313	4000 recuperado	RB6	Calibration Standard	1	14/Oct/18 08:06:29
314	4000 recuperado	RB6	Calibration Standard	1	14/Oct/18 08:20:20
315	MUESTRA 1	RC1	Calibration Standard	1	14/Oct/18 08:34:12
316	ACN	RA8	Calibration Standard	1	14/Oct/18 08:48:03
317	MUESTRA 1	RC1	Calibration Standard	1	14/Oct/18 09:01:54
318	MUESTRA 2	RC2	Calibration Standard	1	14/Oct/18 09:15:45
319	MUESTRA 2	RC2	Calibration Standard	1	14/Oct/18 09:29:36
320	MUESTRA 3	RC3	Calibration Standard	1	14/Oct/18 09:43:27
321	MUESTRA 4	RC4	Calibration Standard	1	14/Oct/18 09:57:17
322	MUESTRA 4	RC4	Calibration Standard	1	14/Oct/18 10:11:07
323	MUESTRA 5	RC5	Calibration Standard	1	14/Oct/18 10:24:57
324	MUESTRA 5	RC5	Calibration Standard	1	14/Oct/18 10:38:47
325	ACN	RA8	Calibration Standard	1	14/Oct/18 10:52:36
326	MUESTRA 6	RC6	Calibration Standard	1	14/Oct/18 11:06:26
327	MUESTRA 6	RC6	Calibration Standard	1	14/Oct/18 11:20:15
328	MUESTRA 7	RC7	Calibration Standard	1	14/Oct/18 11:34:04
329	MUESTRA 7	RC7	Calibration Standard	1	14/Oct/18 11:47:53
330	MUESTRA 8	RC8	Calibration Standard	1	14/Oct/18 12:01:41
331	MUESTRA 8	RC8	Calibration Standard	1	14/Oct/18 12:15:30
332	1000 ST	RA2	Calibration Standard	1	14/Oct/18 16:41:14
333	1000 ST	RA2	Calibration Standard	1	14/Oct/18 16:55:28
334	1000 ST	RA2	Calibration Standard	1	14/Oct/18 17:07:44

335	1000 ST	RA2	Calibration Standard	1	14/Oct/18 17:37:51
336	1000 ST	RA2	Calibration Standard	1	14/Oct/18 17:51:30
337	1000 ST	RA2	Calibration Standard	1	14/Oct/18 18:01:18
338	1000 ST	RA2	Calibration Standard	1	14/Oct/18 18:18:13
339	1000 ST	RA2	Calibration Standard	1	14/Oct/18 18:30:39
340	1000 ST	RA2	Calibration Standard	1	14/Oct/18 18:37:23
341	2000 ST	RA4	Calibration Standard	1	14/Oct/18 18:51:07
342	ACN	RA8	Calibration Standard	1	14/Oct/18 19:01:08
343	2000 ST	RA4	Calibration Standard	1	14/Oct/18 19:12:16
344	2000 ST	RA4	Calibration Standard	1	14/Oct/18 19:25:59
345	3000 ST	RA5	Calibration Standard	1	14/Oct/18 19:39:42
346	MUESTRA 2	RC2	Calibration Standard	1	14/Oct/18 19:53:24
347	MUESTRA 2	RC2	Calibration Standard	1	14/Oct/18 20:07:51
348	MUESTRA 3	RC3	Calibration Standard	1	14/Oct/18 20:21:32
349	ACN	RA8	Calibration Standard	1	14/Oct/18 20:35:13
350	MUESTRA 3	RC3	Calibration Standard	1	14/Oct/18 20:48:54
351	ST 1000	GB1	Calibration Standard	1	27/Oct/18 17:36:01
352	ST 1000	GB1	Calibration Standard	1	27/Oct/18 17:49:22
353	ST 1000	GB1	Calibration Standard	1	27/Oct/18 18:02:19
354	ST 1000	GB1	Calibration Standard	1	27/Oct/18 18:13:13
355	ST 1000	GB1	Calibration Standard	1	27/Oct/18 18:23:14
356	ACN	GB8	Calibration Standard	1	27/Oct/18 18:38:11
357	ST 1000	GB1	Calibration Standard	1	27/Oct/18 19:09:28
358	ST 1000	GB1	Calibration Standard	1	27/Oct/18 19:17:19
359	ST 1000	GB1	Calibration Standard	1	27/Oct/18 19:27:21
360	ST 1000	GB1	Calibration Standard	1	27/Oct/18 19:37:21
361	ACN	GB8	Calibration Standard	1	27/Oct/18 19:45:51
362	ST 1000	GB1	Calibration Standard	1	27/Oct/18 19:56:11
363	ST 1000	GB1	Calibration Standard	1	27/Oct/18 20:09:50
364	ST 1000	GB1	Calibration Standard	1	27/Oct/18 20:19:46
365	ST 1000	GB1	Calibration Standard	1	27/Oct/18 20:34:08
366	ST 1000	GB1	Calibration Standard	1	27/Oct/18 20:49:12
367	ST 1000	GB1	Calibration Standard	1	27/Oct/18 21:01:29
368	ST 1000	GB1	Calibration Standard	1	27/Oct/18 21:20:40
369	ST 1000	GB1	Calibration Standard	1	27/Oct/18 21:34:16
370	ST 1000	GB1	Calibration Standard	1	27/Oct/18 21:42:43
371	ACN	GB8	Calibration Standard	1	27/Oct/18 21:56:17
372	ST 1000	GB1	Calibration Standard	1	27/Oct/18 22:09:50
373	ST 1000	GB1	Calibration Standard	1	27/Oct/18 22:18:38
374	ST 1000	GB1	Calibration Standard	1	27/Oct/18 22:32:55
375	ST 1000	GB1	Calibration Standard	1	27/Oct/18 22:43:09
376	ST 1000	GB1	Calibration Standard	1	27/Oct/18 22:55:14
377	ACN	GB8	Calibration Standard	1	27/Oct/18 23:01:27
378	ST 1000	GB1	Calibration Standard	1	27/Oct/18 23:14:37
379	MUESTRA 9	GA1	Calibration Standard	1	27/Oct/18 23:29:59
380	MUESTRA 9	GA1	Calibration Standard	1	27/Oct/18 23:43:52
381	ACN	GB8	Calibration Standard	1	27/Oct/18 23:57:46
382	C	GA1	Calibration Standard	1	28/Oct/18 00:11:40
383	C	GA1	Calibration Standard	1	28/Oct/18 00:25:34
384	ST 1000	GB1	Calibration Standard	1	28/Oct/18 00:51:01
385	ST 1000	GB1	Calibration Standard	1	28/Oct/18 00:59:13

386	ST 1000	GB1	Calibration Standard	1	28/Oct/18 01:32:46
387	ST 1000	GB1	Calibration Standard	1	28/Oct/18 01:42:41
388	ACN	GB8	Calibration Standard	1	28/Oct/18 01:49:22
389	ACN	GB8	Calibration Standard	1	28/Oct/18 01:58:16
390	ST 1000	GB1	Calibration Standard	1	28/Oct/18 02:06:03
391	MUESTRA 9	GA1	Calibration Standard	1	28/Oct/18 02:17:09
392	MUESTRA 9	GA1	Calibration Standard	1	28/Oct/18 02:23:26
393	MUESTRA 10	GA2	Calibration Standard	1	28/Oct/18 02:37:08
394	MUESTRA 10	GA2	Calibration Standard	1	28/Oct/18 02:50:50
395	ACN	GB8	Calibration Standard	1	28/Oct/18 03:04:31
396	MUESTRA 11	GA3	Calibration Standard	1	28/Oct/18 03:18:12
397	MUESTRA 11	GA3	Calibration Standard	1	28/Oct/18 03:31:53
398	ACN	GB8	Calibration Standard	1	28/Oct/18 03:45:33
399	MUESTRA 12	GA4	Calibration Standard	1	28/Oct/18 03:59:13
400	MUESTRA 12	GA4	Calibration Standard	1	28/Oct/18 04:12:54
401	MUESTRA 13	GA5	Calibration Standard	1	28/Oct/18 04:26:34
402	MUESTRA 13	GA5	Calibration Standard	1	28/Oct/18 04:40:14
403	MUESTRA 14	GA6	Calibration Standard	1	28/Oct/18 04:53:53
404	MUESTRA 14	GA6	Calibration Standard	1	28/Oct/18 05:07:32
405	ACN	GB8	Calibration Standard	1	28/Oct/18 05:21:11
406	MUESTRA 15	GA7	Calibration Standard	1	28/Oct/18 05:34:50
407	MUESTRA 15	GA7	Calibration Standard	1	28/Oct/18 05:48:28
408	MUESTRA 16	GA8	Calibration Standard	1	28/Oct/18 06:02:05
409	MUESTRA 16	GA8	Calibration Standard	1	28/Oct/18 06:15:42
410	ACN	GB8	Calibration Standard	1	28/Oct/18 06:29:19
411	MUESTRA 1B	GC1	Calibration Standard	1	28/Oct/18 06:42:56
412	MUESTRA 1B	GC1	Calibration Standard	1	28/Oct/18 06:56:54
413	MUESTRA 2B	GC2	Calibration Standard	1	28/Oct/18 07:10:29
414	MUESTRA 2B	GC2	Calibration Standard	1	28/Oct/18 07:24:27
415	ACN	GB8	Calibration Standard	1	28/Oct/18 07:38:01
416	MUESTRA 3B	GC3	Calibration Standard	1	28/Oct/18 07:51:36
417	MUESTRA 3B	GC3	Calibration Standard	1	28/Oct/18 08:05:10
418	MUESTRA 4B	GC4	Calibration Standard	1	28/Oct/18 08:18:43
419	MUESTRA 4B	GC4	Calibration Standard	1	28/Oct/18 08:32:16
420	ACN	GB8	Calibration Standard	1	28/Oct/18 08:46:10
421	MUESTRA 5B	GC5	Calibration Standard	1	28/Oct/18 09:00:04
422	MUESTRA 5B	GC5	Calibration Standard	1	28/Oct/18 09:13:58
423	MUESTRA 6B	GC6	Calibration Standard	1	28/Oct/18 09:27:52
424	MUESTRA 6B	GC6	Calibration Standard	1	28/Oct/18 09:41:45
425	ACN	GB8	Calibration Standard	1	28/Oct/18 09:55:38
426	MUESTRA 7B	GC7	Calibration Standard	1	28/Oct/18 10:09:31
427	MUESTRA 7B	GC7	Calibration Standard	1	28/Oct/18 10:23:24
428	MUESTRA 8B	GC8	Calibration Standard	1	28/Oct/18 10:37:17
429	MUESTRA 8B	GC8	Calibration Standard	1	28/Oct/18 10:51:10
430	ACN	GB8	Calibration Standard	1	28/Oct/18 11:05:02
431	MUESTRA 9B	GD1	Calibration Standard	1	28/Oct/18 11:18:55
432	MUESTRA 9B	GD1	Calibration Standard	1	28/Oct/18 11:32:47
433	MUESTRA 10B	GD2	Calibration Standard	1	28/Oct/18 11:46:40
434	MUESTRA 10B	GD2	Calibration Standard	1	28/Oct/18 12:00:32
435	ST 1000	GB1	Calibration Standard	1	28/Oct/18 12:14:24
436	MUESTRA 9	GA1	Calibration Standard	1	28/Oct/18 12:30:27

437	ACN	GB8	Calibration Standard	1	28/Oct/18 12:44:19
438	MUESTRA 11B	GD3	Calibration Standard	1	28/Oct/18 12:58:11
439	MUESTRA 11B	GD3	Calibration Standard	1	28/Oct/18 13:12:03
440	MUESTRA 12B	GD4	Calibration Standard	1	28/Oct/18 13:25:55
441	MUESTRA 12B	GD4	Calibration Standard	1	28/Oct/18 13:39:47
442	MUESTRA 13B	GD5	Calibration Standard	1	28/Oct/18 13:59:07
443	MUESTRA 13B	GD5	Calibration Standard	1	28/Oct/18 14:12:59
444	ST1000	GB1	Calibration Standard	1	28/Oct/18 14:26:50
445	MUESTRA 14B	GD6	Calibration Standard	1	28/Oct/18 14:40:41
446	MUESTRA 14B	GD6	Calibration Standard	1	28/Oct/18 14:54:31
447	MUESTRA 15B	GD7	Calibration Standard	1	28/Oct/18 15:08:21
448	MUESTRA 15B	GD7	Calibration Standard	1	28/Oct/18 15:22:11
449	MUESTRA 16B	GD8	Calibration Standard	1	28/Oct/18 15:38:12
450	STD 1000	GB1	Calibration Standard	1	28/Oct/18 15:52:01
451	MUESTRA 16B	GD8	Calibration Standard	1	28/Oct/18 16:05:51
452	MUESTRA 10	GA2	Calibration Standard	1	28/Oct/18 16:19:41
453	MUESTRA 12	GA4	Calibration Standard	1	28/Oct/18 16:33:31
454	MUESTRA 12	GA4	Calibration Standard	1	28/Oct/18 16:47:20
455	ST1000	GB1	Calibration Standard	1	28/Oct/18 17:01:10
456	MUESTRA 13	GA5	Calibration Standard	1	28/Oct/18 17:15:00
457	MUESTRA 13	GA5	Calibration Standard	1	28/Oct/18 17:28:50
458	MUESTRA 14	GA6	Calibration Standard	1	28/Oct/18 17:42:39
459	MUESTRA 14	GA6	Calibration Standard	1	28/Oct/18 17:56:28
460	MUESTRA 15	GA7	Calibration Standard	1	28/Oct/18 18:10:18
461	ST1000	GB1	Calibration Standard	1	28/Oct/18 18:24:07
462	MUESTRA 15	GA7	Calibration Standard	1	28/Oct/18 18:37:56
463	MUESTRA 1B	GC1	Calibration Standard	1	28/Oct/18 18:51:45
464	MUESTRA 3B	GC3	Calibration Standard	1	28/Oct/18 19:05:33
465	MUESTRA 4B	GC4	Calibration Standard	1	28/Oct/18 19:19:22
466	750STD	GB1	Calibration Standard	1	24/Nov/18 16:04:11
467	1000STD	GB2	Calibration Standard	1	24/Nov/18 16:17:58
468	1500STD	GB3	Calibration Standard	1	24/Nov/18 16:31:40
469	2000STD	GB4	Calibration Standard	1	24/Nov/18 16:45:21
470	3000STD	GB5	Calibration Standard	1	24/Nov/18 16:58:59
471	4000STD	GB6	Calibration Standard	1	24/Nov/18 17:12:46
472	6000STD	GB7	Calibration Standard	1	24/Nov/18 17:22:21
473	750 STD	GB1	Calibration Standard	1	24/Nov/18 17:29:43
474	1000 STD	GB2	Calibration Standard	1	24/Nov/18 17:43:19
475	1500 STD	GB3	Calibration Standard	1	24/Nov/18 17:57:15
476	2000 STD	GB4	Calibration Standard	1	24/Nov/18 18:07:05
477	3000 STD	GB5	Calibration Standard	1	24/Nov/18 18:14:00
478	4000 STD	GB6	Calibration Standard	1	24/Nov/18 18:23:06
479	6000 STD	GB7	Calibration Standard	1	24/Nov/18 18:31:05
480	6000 STD	GB7	Calibration Standard	1	24/Nov/18 18:44:52
481	ACN	GB8	Calibration Standard	1	24/Nov/18 18:53:33
482	750 STD	GB1	Calibration Standard	1	24/Nov/18 19:04:04
483	750 STD	GB1	Calibration Standard	1	24/Nov/18 19:34:54
484	1000 STD	GB2	Calibration Standard	1	24/Nov/18 19:46:02
485	1000 STD	GB3	Calibration Standard	1	24/Nov/18 19:59:52
486	2000 STD	GB4	Calibration Standard	1	24/Nov/18 20:13:39
487	3000 STD	GB5	Calibration Standard	1	24/Nov/18 20:20:33

488	4000 STD	GB6	Calibration Standard	1	24/Nov/18 20:34:19
489	ACN	GB8	Calibration Standard	1	24/Nov/18 20:48:04
490	750 STD	GB1	Calibration Standard	1	24/Nov/18 21:01:48
491	1000 STD	GB2	Calibration Standard	1	24/Nov/18 21:18:33
492	1500 STD	GB3	Calibration Standard	1	24/Nov/18 21:29:03
493	2000 STD	GB4	Calibration Standard	1	24/Nov/18 21:41:00
494	3000 STD	GB5	Calibration Standard	1	24/Nov/18 21:54:45
495	750 STD	GB1	Calibration Standard	1	24/Nov/18 23:43:07
496	3000 STD	GB5	Calibration Standard	1	24/Nov/18 23:52:15
497	3000 STD	GB5	Calibration Standard	1	25/Nov/18 00:11:12
498	ACN	GB8	Calibration Standard	1	25/Nov/18 00:19:33
499	1000STD	GB2	Calibration Standard	1	25/Nov/18 00:30:05
500	1000STD	GB2	Calibration Standard	1	25/Nov/18 00:39:52
501	1000STD	GB2	Calibration Standard	1	25/Nov/18 00:47:06
502	1500STD	GB3	Calibration Standard	1	25/Nov/18 00:55:04
503	1500STD	GB3	Calibration Standard	1	25/Nov/18 01:04:05
504	MUESTRA LAYS	GB1	Calibration Standard	1	25/Nov/18 01:17:48
505	1000std	GB1	Calibration Standard	1	25/Nov/18 14:01:17
506	1000std	GB1	Calibration Standard	1	25/Nov/18 14:26:05
507	1000std	GB1	Calibration Standard	1	25/Nov/18 14:39:55
508	1500std	GB2	Calibration Standard	1	25/Nov/18 14:49:22
509	1500std	GB2	Calibration Standard	1	25/Nov/18 15:04:15
510	1500std	GB2	Calibration Standard	1	25/Nov/18 15:18:02
511	2000 SPE	GB3	Calibration Standard	1	25/Nov/18 15:31:47
512	6000 SPE	GB4	Calibration Standard	1	25/Nov/18 15:45:32
513	2000 STD	GB5	Calibration Standard	1	25/Nov/18 16:18:02
514	6000 STD	GB6	Calibration Standard	1	25/Nov/18 16:31:44
515	6000 SPE	GB3	Calibration Standard	1	25/Nov/18 16:58:01
516	6000 SPE	GB4	Calibration Standard	1	25/Nov/18 17:11:40

b. Resultado de Cromatograma

Chromatogram and Results

Injection Details

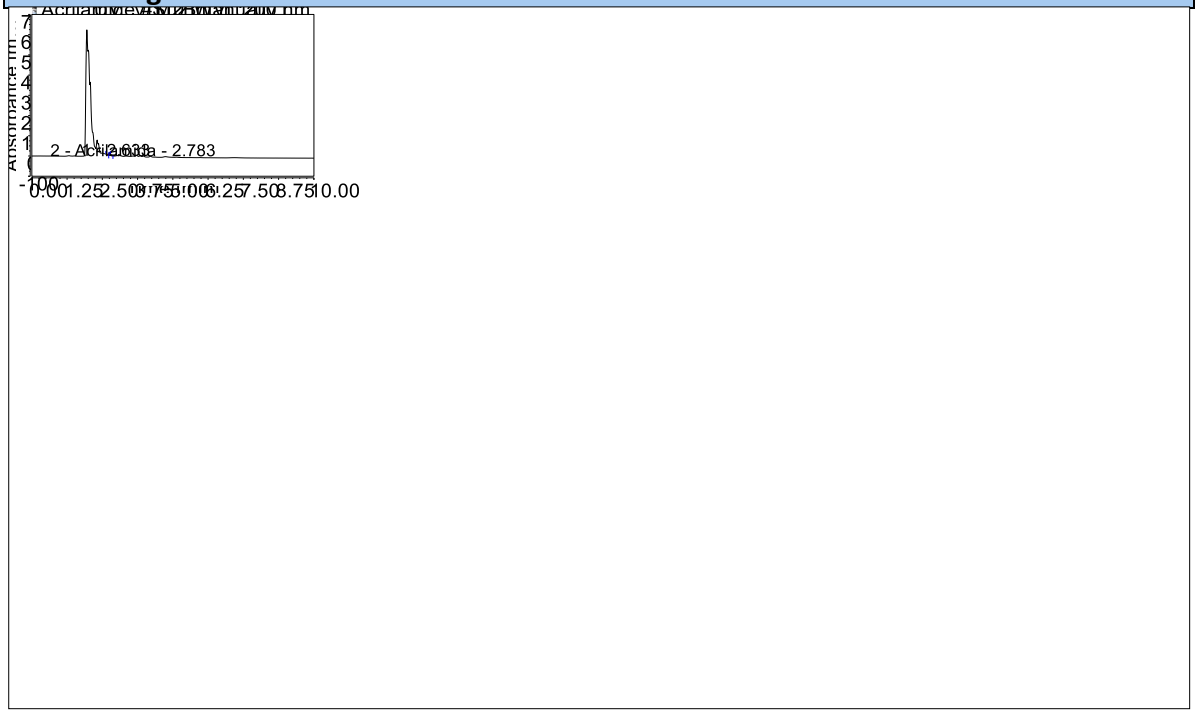
Injection Name:	**M2B**	*Run Time (min):*	**10.00**
Vial Number:	**RB4**	*Injection Volume:*	**5.00**
Injection Type:	**Unknown**	*Channel:*	**UV_VIS_2**
Calibration Level:		*Wavelength:*	**195.0**
Instrument Method:	**ACRILAMIDE 2**	*Bandwidth:*	**1**
Processing Method:	**Acrilamidas**	*Dilution Factor:*	**1.0000**
Injection Date/Time:	**16/Set/18 02:31**	*Sample Weight:*	**1.0000**

Chromatogram



No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Relative Height %	Amount
1	Metacrilamida	2.633	0.138	1.013	28.14	18.06	n.a.
2	Acrilamida	2.783	0.353	4.596	71.86	81.94	982.7208
Total:			**0.491**	**5.609**	**100.00**	**100.00**	

Chromatogram



c. Pista de auditoria

Audit Trail

Injection Details			
Injection Name:	**M2B**	*Run Time (min):*	**10.00**
Vial Number:	**RB4**	*Injection Volume:*	**5.00**
Injection Type:	**Unknown**	*Channel:*	**UV_VIS_2**
Calibration Level:		*Wavelength:*	**200**
Instrument Method:	**ACRILAMIDE 2**	*Bandwidth:*	**1**
Processing Method:	**Acrilamidas**	*Dilution Factor:*	**1.0000**
Injection Date/Time:	**16/Set/18 02:31**	*Sample Weight:*	**1.0000**

Day Time (UTC-05:00)	Ret. Time min	Command/Message
02:30:00		Audit trail of injection "chrom://omnicadmin-pc/ChromeleonLocal/Instrument Data/U3000_RS_001/Acrilamide/Acrilamide.seq/957.smp". Executed 9/16/2018 on instrument U3000_RS_001 (server OMNICAdmin-PC).
02:30:00		Start of injection 110 "M2B", using instrument method "ACRILAMIDE 2".
02:30:00	0.000	Entered stage "Instrument Setup"
02:30:00	0.000	Sampler.Temperature.Nominal = 15.0 °C
02:30:00	0.000	Log TempCtrl: On
02:30:00	0.000	Sampler.Temperature.LowerLimit = 4.0 °C
02:30:00	0.000	Sampler.Temperature.UpperLimit = 45.0 °C
02:30:00	0.000	ColumnOven.Temperature.Nominal = 30.0 °C
02:30:00	0.000	PumpModule.Pump.%C.Equate = "Acetico 5 mM"
02:30:00	0.000	PumpModule.Pump.%D.Equate = "Acetonitrilo"
02:30:00	0.000	PumpModule.Pump.Pressure.LowerLimit = 0 bar
02:30:00	0.000	PumpModule.Pump.Pressure.UpperLimit = 1034 bar
02:30:00	0.000	UV.3DFIELD.MinWavelength = 190.0 nm
02:30:00	0.000	UV.3DFIELD.MaxWavelength = 350.0 nm
02:30:00	0.000	UV.3DFIELD.BunchWidth = 1 nm
02:30:00	0.000	UV.SlitWidth = Narrow
02:30:00	0.000	UV.ResponseTime = 1.000 s
02:30:00	0.000	UV.Data_Collection_Rate = 5 Hz
02:30:00	0.000	UV.UV_VIS_1.Wavelength = 195.0 nm
02:30:00	0.000	UV.UV_VIS_1.Bandwidth = 1 nm
02:30:00	0.000	UV.UV_VIS_1.RefWavelength = Off

02:30:00	0.000	UV.UV_VIS_1.RefBandwidth = 1 nm
02:30:00	0.000	UV.UV_VIS_2.Wavelength = 200.0 nm
02:30:00	0.000	UV.UV_VIS_2.Bandwidth = 1 nm
02:30:00	0.000	UV.UV_VIS_2.RefWavelength = Off
02:30:00	0.000	UV.UV_VIS_2.RefBandwidth = 1 nm
02:30:00	0.000	UV.UV_VIS_3.Wavelength = 210.0 nm
02:30:00	0.000	UV.UV_VIS_3.Bandwidth = 1 nm
02:30:00	0.000	UV.UV_VIS_3.RefWavelength = Off
02:30:00	0.000	UV.UV_VIS_3.RefBandwidth = 1 nm
02:30:00	0.000	UV.UV_VIS_4.Wavelength = 220.0 nm
02:30:00	0.000	UV.UV_VIS_4.Bandwidth = 1 nm
02:30:00	0.000	UV.UV_VIS_4.RefWavelength = Off
02:30:00	0.000	UV.UV_VIS_4.RefBandwidth = 1 nm
02:30:00	0.000	UV.3DFIELD.RefWavelength = 800.0 nm
02:30:00	0.000	UV.3DFIELD.RefBandwidth = 1 nm
02:30:00	0.000	Entered stage "Inject Preparation"
02:30:00	0.000	UV.Autozero
02:30:00	0.000	Wait Sampler.Ready And ColumnOven.Ready And PumpModule.Pump.Ready And UV.Ready
02:30:10	0.000	Wait finished
02:30:10	0.000	Entered stage "Inject"
02:30:10	0.000	Sampler.Inject
02:30:10	0.000	Injecting from vial position RB4.
02:30:10	0.000	Injection Volume is 5.000 µl.
02:30:10	0.000	Waiting for inject response on UM3WPSInjectState1.
02:31:31	0.000	Inject preparation complete, waiting for pump to begin next stroke cycle.
02:31:31	0.000	Received pump stroke synchronization request via UM3PUMP_STROKE port ... waiting for pump reaching sync position.
02:31:38	0.000	Pump has reached sync position. Send sampler sync signal via UM3PUMP_STROKE port.
02:31:38	0.000	Switching inject valve.
02:31:38	0.000	Got inject response.
02:31:38	0.000	Entered stage "Start Run"
02:31:38	0.000	UV.UV_VIS_1.AcqOn
02:31:38	0.000	UV.UV_VIS_2.AcqOn
02:31:38	0.000	UV.UV_VIS_3.AcqO

		n
		UV.UV_VIS_4.AcqO
02:31:38	0.000	n
02:31:38	0.000	UV.3DFIELD.AcqOn
02:31:38	0.000	UV.Temp_Lamphouse.AcqOn
		ColumnOven.ColumnOven_Temp.
02:31:38	0.000	AcqOn
02:31:38	0.000	ColumnOven.Cooler_Temp.AcqOn
02:31:38	0.000	PumpModule.Pump.Pump_Pressure.AcqOn
02:31:38	0.000	Entered stage "Run"
		PumpModule.Pump.Flow.Nominal = 0.200
02:41:38	10.000	ml/min
		PumpModule.Pump.%B.Value =
02:41:38	10.000	0.0 %
		PumpModule.Pump.%C.Value =
02:41:38	10.000	3.0 %
		PumpModule.Pump.%D.Value =
02:41:38	10.000	97.0 %
02:41:38	10.000	PumpModule.Pump.Curve = 5
		PumpModule.Pump.Flow.Nominal = 0.200
02:41:38	10.000	ml/min
		PumpModule.Pump.%B.Value =
02:41:38	10.000	0.0 %
		PumpModule.Pump.%C.Value =
02:41:38	10.000	3.0 %
		PumpModule.Pump.%D.Value =
02:41:38	10.000	97.0 %
02:41:38	10.000	PumpModule.Pump.Curve = 5
		Entered stage "Stop
02:41:38	10.000	Run"
		UV.UV_VIS_1.AcqO
02:41:38	10.000	ff
		UV.UV_VIS_2.AcqO
02:41:38	10.000	ff
		UV.UV_VIS_3.AcqO
02:41:38	10.000	ff
		UV.UV_VIS_4.AcqO
02:41:38	10.000	ff
02:41:38	10.000	UV.3DFIELD.AcqOff
02:41:38	10.000	UV.Temp_Lamphouse.AcqOff
		ColumnOven.ColumnOven_Temp.
02:41:38	10.000	AcqOff
02:41:38	10.000	ColumnOven.Cooler_Temp.AcqOff
02:41:38	10.000	PumpModule.Pump.Pump_Pressure.AcqOff
02:41:39	10.006	Terminating instrument method chrom://omnicadmin-pc/ChromeleonLocal/Instrument Data/U3000_RS_001/Acrilamide/Acrilamide.seq/ACRILAMIDE 2.instmeth. Waiting for instrument to finish processing of current injection ...
02:41:39	10.008	OK to terminate instrument method chrom://omnicadmin-pc/ChromeleonLocal/Instrument Data/U3000_RS_001/Acrilamide/Acrilamide.seq/ACRILAMIDE 2.instmeth.

d. Cromatograma completo

Chromatogram

