



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Química

Programa de Posgrado en Alimentos del Centro de la  
República (PROPAC)

Maestría en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

### **Tesis de investigación**

**“Diseño de un recubrimiento comestible basado en proteína de  
quinua-quitosano entrecruzado con transglutaminasa y su  
aplicación en totopos”**

**Presenta:**

IAG. Cindy Vianney Quiroz Sandoval

**Dirigido por:**

Dr. Carlos Regalado González

Centro Universitario  
Querétaro, Qro.  
Noviembre 2020



Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Química  
Maestría en Ciencias y Tecnología de los Alimentos

**“Diseño de un recubrimiento comestible basado en proteína de quinua-  
quitosano entrecruzada con transglutaminasa y su aplicación en totopos”**

**TESIS**

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de  
Maestra en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

**Presenta:**

IAG. Cindy Vianney Quiroz Sandoval

**Dirigido por:**

Dr. Carlos Regalado González

Dr. Carlos Regalado González  
Presidente

Dr. Eduardo Castaño Tostado  
Secretario

Dr. Aldo Amaro Reyes  
Vocal

Dr. Pedro Antonio García Saucedo  
Suplente

Dra. Teresita Arredondo Ochoa  
Suplente

---

Dra. Silvia Lorena Amaya Llano  
Directora de la Facultad de Química

---

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña  
Directora de Investigación y Posgrado

Centro Universitario  
Querétaro, Qro.  
Noviembre 2020

**DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DE ESTUDIANTE:** Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que reporto detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras. Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.



---

Cindy Vianney Quiroz Sandoval

Dirección General de Bibliotecas UHQ

## RESUMEN

El mercado de botanas en México ha aumentado y en consecuencia la cantidad de personas con sobrepeso u obesidad. Esto está directamente relacionado con el consumo de alimentos ricos en grasas y carbohidratos. Por otro lado, se investiga la presencia de acrilamida en alimentos tan diversos como papas fritas, totopos horneados o fritos, ya que es un compuesto neurotóxico formado por el calentamiento de alimentos a alta temperatura ( $>120\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) por la interacción entre un aminoácido y un azúcar reductor. El objetivo de este trabajo consistió en diseñar y caracterizar un recubrimiento comestible (RC) así como evaluar su aplicación en totopos tanto fritos y horneados. Para la formulación de los RC se usó un diseño factorial completo  $2^3$  con tres réplicas, siendo los factores una mezcla de quitosano (QT) (75 % o 90 % de des-acetilación) con proteína de quinua (PQ) (1:5 o 1:10 QT:PQ, p/p) y aplicación de transglutaminasa (TG) como entrecruzante (presencia o ausencia). Los RC se caracterizaron y posteriormente, se evaluó el efecto de los RC con diferentes pH's (3, 4 y 5) sobre los totopos de maíz azul recubiertos, ya sean fritos (TFR) u horneados (THR). Se evaluaron la fuerza de fractura, el color, la disminución del contenido de aceite y el contenido de acrilamida. El potencial  $\zeta$  más alto fue exhibido por el tratamiento PQ:QT 1:5 75 % DA con valores (18.35 %), mostrando tamaños de partícula entre 1.97 y 2.41  $\mu\text{m}$ . El Módulo de Young fue mayor en los RC sin TG. Los RC evaluados redujeron efectivamente el contenido de aceite de los TFR, logrando una reducción de hasta el 56 % (p/p) en comparación con los totopos fritos sin recubrimiento, mientras que la fuerza de fractura fue similar entre todos los tratamientos. TFR y THR mostraron una disminución en el contenido de acrilamida en comparación con los totopos sin recubrir (16.75 % y 39.71 %). En conclusión, el RC a base de una mezcla de QT-QP 1:5 (75 % de des-acetilación) puede ser una buena alternativa para reducir el contenido de aceite de los totopos a base de maíz azul nixtamalizado.

Palabras clave: Recubrimiento comestible, acrilamida, freído, horneado, totopos, maíz azul

## ABSTRACT

In recent years the market for snacks in Mexico has increased and consequently the number of people who are overweight or obese. This is directly related to the consumption of foods rich in fat and carbohydrates. On the other hand, the presence of acrylamide has been investigated in foods as diverse as French fries, baked or fried chips. Acrylamide is a neurotoxic compound, which is formed by heating food products at high temperature ( $> 120^{\circ}\text{C}$ ) by the interaction between an amino acid and reducing sugar. The objective of this work was to design and characterize an edible coating and to evaluate its application in fried and baked tortilla chips. A  $2^3$  experimental design with three replicates was applied using as factors a mixture of chitosan (CT) (75% and 90% deacetylation), quinoa protein (QP) (1:5 and 1:10 QT-PQ, w/w), and transglutaminase as crosslinker (presence and absence). The edible films (EF) obtained were physico-chemically characterized, evaluating color,  $\zeta$  potential, particle size, and mechanical properties. Subsequently, the effect of different treatments was evaluated on coated blue corn chips either fried (CFC) or baked (CBC) at three different pH values (3, 4, and 5). Fracture strength, color, reduction in oil and acrylamide content, were evaluated. The highest  $\zeta$  potential was exhibited by the treatment with a 1:5 ratio (CT:QP) (CT 75%), showing particle sizes between 1.97 and 2.41  $\mu\text{m}$ . The yellow color of the EFs increased in the treatments with a 1:10 ratio (CT:QP), as well as a significantly lower luminosity. Tensile strength did not show a significant variation among treatments, while elongation was higher in the treatments with 1:5 ratio (CT:QP). The edible coatings (EC) evaluated effectively reduced the oil content of the CFC, achieving a reduction of up to 56% (w/w) compared to the uncoated fried chips (UFC), while the fracture strength was similar. CFC and CBC showed lower acrylamide content than the control. In conclusion, the EC based on a mixture of CT-QP 1: 5 (75% deacetylation) may be a good alternative to reduce the oil content of chips based on nixtamalized blue corn.

Keywords: Edible coating, acrylamide, deep frying, baked, blue corn, chips

# Índice

Contenido	Página
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. ANTECEDENTES .....</b>	<b>2</b>
2.1. Recubrimientos y películas comestibles.....	2
2.1.1. Función.....	2
2.1.2. Composición.....	3
2.1.2.1. Proteína de quinua.....	5
2.1.2.2. Quitosano.....	6
2.1.2.3. Transglutaminasa.....	7
2.2. Maíz azul.....	9
2.2.1. Taxonomía y características morfológicas.....	9
2.2.2. Composición química del maíz azul.....	10
2.2.3. Panorama del mercado del maíz en México.....	11
2.2.4. Productos elaborados a partir de harina de maíz.....	12
2.2.5. Mercado de productos basados en maíz.....	12
2.2.6. Producción de totopos.....	13
2.3. Métodos de cocción.....	14
2.3.1. Freído.....	14
2.3.1.1. Reacciones químicas del aceite durante el freído.....	17
2.3.1.2. Problemática del consumo de alimentos fritos.....	19
2.3.1.3. Mecanismo de acción de los RC en alimentos fritos.....	19
2.3.2. Horneado.....	21
2.3.2.1. Productos horneados.....	21
2.4. Acrilamida.....	22
2.4.1. Estructura química.....	22
2.4.2. Mecanismo de formación de acrilamida.....	22
2.4.3. Formación de acrilamida en productos fritos y horneados.....	23
<b>3. JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>26</b>
<b>4. OBJETIVOS .....</b>	<b>28</b>
4.1. Objetivo general.....	28
4.2. Objetivos específicos.....	28
<b>5. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>29</b>

5.1. Materiales.....	29
5.2. Métodos.....	29
5.2.1. Diseño experimental para la elaboración de RC.....	29
5.2.2. Extracción de la proteína de quinua.....	30
5.2.3. Preparación de las soluciones filmogénicas.....	31
5.2.4. Determinación de las propiedades del recubrimiento.....	32
5.2.4.1. Potencial $\zeta$ , tamaño de partícula e índice de polidispersión.....	32
5.2.4.2. Espesor.....	32
5.2.4.3. Solubilidad.....	32
5.2.4.4. Color y opacidad.....	33
5.2.5. Propiedades mecánicas.....	33
5.2.6. Microestructura de las PC.....	34
5.2.7. Elaboración de los totopos.....	34
5.2.8. Aplicación del recubrimiento.....	35
5.2.9. Freído de los totopos.....	35
5.2.10. Horneado de los totopos.....	36
5.2.11. Determinación de la fuerza de fractura.....	36
5.2.12. Determinación de color.....	36
5.2.13. Determinación del contenido de humedad.....	36
5.2.14. Determinación del contenido de lípidos.....	37
5.2.15. Determinación del contenido de acrilamida en totopos.....	38
5.2.15.1. Extracción de acrilamida de totopos.....	38
5.2.15.2. Análisis de acrilamida.....	38
5.2.16. Análisis estadístico.....	39
<b>6. RESULTADOS.....</b>	<b>40</b>
6.1. Extracción de proteína de quinua.....	40
6.2. Obtención de las películas comestibles (PC).....	40
6.3. Determinación de las propiedades de los RC.....	42
6.3.1. Potencial $\zeta$ , tamaño de partícula e índice de polidispersión.....	42
6.3.2. Espesor.....	44
6.3.3. Solubilidad.....	45
6.3.4. Color y opacidad.....	47
6.3.5. Propiedades mecánicas.....	49
6.3.6. Microestructura de las PC.....	51
6.4. Evaluación de la aplicación del RC en los totopos fritos y horneados.....	52
6.4.1. Aplicación del RC.....	52
6.4.2. Determinación de la fuerza de fractura.....	54
6.4.3. Determinación de color.....	56
6.4.4. Determinación de humedad.....	60
6.4.5. Determinación del contenido de aceite.....	63

6.4.6. Determinación del contenido de acrilamida .....	65
<b>7. CONCLUSIONES.....</b>	<b>68</b>
<b>8. REFERENCIAS .....</b>	<b>69</b>
<b>9. ANEXOS.....</b>	<b>82</b>

Dirección General de Bibliotecas UAQ

## Índice de Figuras

Figura	Título	Página
1	Estructura química del quitosano	7
2	Principales propiedades funcionales de proteínas de interés alimentario influenciadas por la transglutaminasa	8
3	Reticulación de la enzima transglutaminasa en películas comestibles	9
4	Diagrama de flujo del proceso de elaboración de totopos	14
5	Transferencia de masa y calor que se produce durante el freído del alimento	15
6	Cambios químicos y físicos del aceite durante el proceso del freído	16
7	Mecanismo de acción de los recubrimientos comestibles en alimentos fritos	20
8	Estructura química de la acrilamida	22
9	Mecanismo de formación de la acrilamida	23
10	Proceso de elaboración de los totopos de maíz azul	35
11	Películas comestibles obtenidas de acuerdo al diseño experimental	41
12	Espesor de las películas comestibles	45
13	Porcentaje de solubilidad de las películas comestibles	46
14	Espacio de color CIE L* a* y b*	48
15	Color de las PC de acuerdo al espacio de color CIE L* a* y b*	49
16	Microestructura de las películas comestibles	52
17	Aplicación de los recubrimientos comestibles sobre los totopos de maíz azul por el método de inmersión	53
18	Totopos de maíz azul recubiertos	53
19	Determinación de la fuerza de fractura de los totopos fritos	55

20	Determinación de la fuerza de fractura de los totopos horneados	55
21	Estructura de las antocianinas	59
22	Color de los totopos fritos y horneados de acuerdo al espacio de color CIE L* a* y b*	60

Dirección General de Bibliotecas UAQ

## Índice de Tablas

Tabla	Título	Página
1	Composición de aminoácidos del aislado de PQ	6
2	Composición química del maíz azul de las variedades Tabloncillo y Chalqueño	11
3	Factores y niveles para el diseño de las películas comestibles.	29
4	Diseño experimental de las soluciones filmogénicas	30
5	Potencial $\zeta$ , tamaño de partícula e índice de polidispersión de las suspensiones filmogénicas	43
6	Parámetros de color $L^*$ , $a^*$ y $b^*$ y porcentaje (%) de opacidad de las películas comestibles	48
7	Propiedades mecánicas de las películas comestibles.	50
8	Parámetros de color $L^*$ , $a^*$ y $b^*$ de las de los totopos de maíz azul fritos	57
9	Parámetros de color $L^*$ , $a^*$ y $b^*$ de las de los totopos de maíz azul horneados	58
10	Efecto de los RC sobre el contenido de humedad de los totopos fritos	62
11	Efecto de los RC sobre el contenido de humedad de los totopos horneados	62
12	Efecto de los RC sobre el contenido y reducción de aceite de los totopos fritos	64
13	Efecto de los RC sobre el contenido y reducción de acrilamida de los totopos fritos y horneados	66

## 1. INTRODUCCIÓN

El mercado de botanas en el mundo es dinámico. Datos de la Secretaría de Economía de México (SE) estiman que se superen los 4,000 millones de dólares en el 2020. Un segmento importante de este mercado son los chips de papa, tortilla o vegetales ya que conforman el 65 % de botanas producidas. Además, más del 80 % de consumo humano de maíz en México es a través de la tortilla y sus derivados. El incremento en el consumo de botanas en el mundo se ha relacionado con problemas de salud, ya que estas suelen ser ricas en grasas y carbohidratos, por lo que se les ha relacionado con obesidad, hipertensión, y enfermedades cardiovasculares. Por otro lado, el proceso de la producción de alimentos fritos y horneados puede ocasionar la producción de acrilamida la cual está asociada principalmente a la reacción de Maillard entre algunos aminoácidos y azúcares reductores a altas temperaturas. Es conocido que la acrilamida es un compuesto neurotóxico, carcinogénico y genotóxico. Los productos horneados representan alrededor del 20 % de la exposición humana a acrilamida (Keramat et al., 2011).

Es por lo anterior que se han buscado nuevas estrategias para reducir el contenido de grasas, así como la producción de acrilamida de diversas botanas fritas y horneadas, entre estas estrategias se encuentra la aplicación de recubrimientos comestibles para reducir la adsorción de grasa. Por otro lado, el uso de recubrimientos comestibles a base de proteína de quinua-quitosano genera recubrimientos y películas comestibles con buenas propiedades tanto mecánicas como de barrera. Además, la adición de transglutaminasa puede reforzar las propiedades de los recubrimientos comestibles, por medio de la reticulación de proteínas. Por tal motivo, el objetivo principal del presente trabajo fue diseñar un recubrimiento comestible a base de una mezcla de quitosano y proteína de quinua entrecruzada con transglutaminasa, evaluar sus propiedades mecánicas, fisicoquímicas y de estabilidad que luego se aplicaron en totopos para evaluar su efecto en las propiedades fisicoquímicas y parámetros de calidad de los totopos. Se evaluó el efecto del recubrimiento utilizando dos métodos de cocción el horneado y el freído.

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1. Recubrimientos y películas comestibles**

Las películas y recubrimientos comestibles se definen como una capa delgada para el envasado primario de alimentos. Los recubrimientos comestibles (RC) y películas comestibles (PC) se producen completamente a partir de componentes renovables y seguros para el consumo humano. La principal diferencia entre estos sistemas es que los RC se aplican en forma líquida en el alimento, generalmente sumergiendo el producto en una solución, mientras que las PC se moldean primero como láminas sólidas, que luego se aplican como una envoltura o empaque externo sobre el producto alimenticio (McHugh et al., 2000; Falguera et al., 2011). Los RC y PC también deben mantener el sabor original, la textura, la apariencia del producto y no deben ser detectables por la lengua del consumidor.

La aplicación de RC en la industria alimenticia, depende de diversas características como el costo, la disponibilidad, los atributos funcionales, las propiedades mecánicas (flexibilidad, tensión), las propiedades ópticas (brillo y opacidad), el efecto de barrera contra el flujo de gases, la resistencia estructural, al agua y microorganismos, así como la aceptabilidad sensorial (Park et al., 2014).

#### **2.1.1. Función**

Los RC y PC cumplen la función de barrera contra el oxígeno, humedad y solutos de los alimentos sin cambiar sus ingredientes originales (Hassan et al., 2018). La efectividad y funcionalidad de un material de recubrimiento está determinada por sus propiedades mecánicas como de barrera, que dependen de su composición, microestructura, así como por las características del producto alimenticio al que se une (Han et al., 2014). Las PC tienen funciones similares a las de los envases convencionales, incluida la barrera contra el vapor de agua, los gases y los compuestos de sabor, mejoran la integridad estructural y protegen de daños mecánicos de los alimentos.

La calidad de la mayoría de los productos alimenticios disminuye durante el tiempo de almacenamiento a través de fenómenos de transferencia de masa, incluyendo adsorción o pérdida de humedad, adsorción de aceite u olores

indeseables, oxidación, pérdida de sabor y migración de componentes del envase al alimento. Sin embargo, la pérdida de humedad es el factor de degradación de calidad más crítico en los productos fritos (Kurek et al., 2018)

### 2.1.2. Composición

Los RC y PC son producidos a partir de biopolímeros y aditivos aprobados para su uso en alimentos. Los biopolímeros pueden ser proteínas, polisacáridos, lípidos o una mezcla de estos. Los plastificantes y otros aditivos empleados en la elaboración de los RC y PC son incorporados para la modificación de sus propiedades mecánicas, de barrera u otra funcionalidad. Los biopolímeros cuentan con diferentes mecanismos de formación de RC y PC que incluyen fuerzas intermoleculares como los enlaces covalentes, interacciones electrostáticas, hidrófobas o iónicas (Bourtoom et al., 2008).

Como componentes de los RC y PC, los lípidos generalmente se usan para reducir la transmisión de vapor de agua, los polisacáridos pueden controlar la transmisión de gases como O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>, mientras que las proteínas a menudo proporcionan estabilidad mecánica. Todas estas biomoléculas pueden utilizarse de forma individual, Sin embargo, es más frecuente que se mezclen para producir películas hidrocoloides compuestas (Song & Zheng, 2014). Tanto las propiedades químicas como estructurales de los biopolímeros y aditivos filmogénicos deben interactuar bien con la finalidad de adaptarse para el desarrollo de películas para aplicaciones específicas (Kumari et al., 2017).

Los polisacáridos utilizados para hacer películas comestibles incluyen derivados de celulosa, quitosano, almidón, hidrolizados de almidón (dextrinas), gomas, alginato, carragenina, xantana, pectina entre otros que deben tratarse químicamente para aumentar su solubilidad en agua como la celulosa y quitina (Park et al 2014; Ganiari et al 2017). Los polisacáridos se encuentran ampliamente disponibles y generalmente son de fácil acceso. Debido a que los polisacáridos presentan en su estructura un gran número de grupos hidroxilo y otros grupos polares, los enlaces de hidrógeno tienen una función importante en las características finales de RC y PC (Harnkarnsujarit 2017; Dehghani et al. 2018).

El principal mecanismo para la formación de películas basadas en polisacáridos es la ruptura de segmentos de polímero y el reacomodo de la cadena del polímero en una matriz de película o gel. Esto generalmente se obtiene mediante la evaporación de un solvente que genera enlaces hidrofílicos y de hidrógeno, así como entrecruzamiento electrolítico o iónico (Park et al., 2014).

Las proteínas utilizadas en la elaboración de RC se obtienen a partir de proteínas de diversas fuentes, las cuales incluyen plantas, carne, huevo y leche, por ejemplo, colágeno, albúmina, gelatina, caseína, proteínas de suero de leche, zeína, ovoalbúmina, proteína de soya, proteína de chícharo, proteína de salvado de arroz, queratina y gluten de trigo entre otras (Harnkarnsujarit, 2017). La estructura de la proteína puede modificarse por métodos físicos (calentamiento, cizallamiento y presión hidrostática), químicos (alquilación, acilación, acetilación o alteración del pH) y bioquímicos (enzimas), que resultan en un cambio estructural o conformacional de la estructura nativa, sin alterar la secuencia de aminoácidos. Estas modificaciones en la estructura podrían mejorar las propiedades funcionales de las proteínas para adaptarlas a una aplicación final específica (Zink et al. 2016).

El principal mecanismo para la formación de películas de proteínas incluye su desnaturalización para lograr la gelificación de la proteína. Esta puede ser iniciada por diferentes métodos como el calor, la adición de distintos disolventes o un cambio en el pH, seguida de una nueva asociación de cadenas peptídicas a través de nuevas interacciones intermoleculares (Wittaya, 2012; Dehghani et al., 2018). Los enlaces principales que generan las fuerzas asociativas para que se produzcan las interacciones proteína-proteína son los enlaces disulfuro, de hidrógeno y enlaces hidrófobos, estos generan la formación de la red de los RC (Park et al. 2014). Las proteínas tienen buenas propiedades de formación de película y buena adherencia a las superficies hidrófilas (Dehghani et al. 2018).

Los hidrocoloides que se utilizan principalmente para aplicaciones de fritura son los polisacáridos y proteínas debido a los buenos atributos de gelificación. Los componentes funcionales en el recubrimiento contribuyen al valor agregado de un producto y sirven como un escudo para controlar la difusión de humedad y grasa en los alimentos fritos.

Los plastificantes son en la mayoría de los casos ingredientes necesarios para películas y recubrimientos comestibles que contienen particularmente polisacáridos y proteínas, debido al hecho de que son rígidos debido a las extensas interacciones entre cadenas poliméricas en estas películas. Para aumentar la termoplasticidad del polímero, se incluyen plastificantes (agentes de bajo peso molecular) en los materiales poliméricos formadores de película. Pueden ubicarse entre polímeros y obstaculizar las interacciones polímero-polímero para hacerlos más flexibles, procesables, mejorar el manejo, mantener la integridad, así como reducir el número de poros y grietas en la matriz polimérica que se pueden formar durante el proceso de recubrimiento o durante la fritura (Kurek et al., 2017; Kumar, 2019). Los posibles plastificantes de grado alimenticio son glicerol, manitol, sorbitol y sacarosa. La efectividad de un plastificante depende del tamaño, la forma y la compatibilidad con la matriz de proteínas.

#### 2.1.2.1. Proteína de quinua

La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd), como planta herbácea anual perteneciente a la familia Chenopodiaceae, se considera un pseudocereal por razones botánicas (Elsohaimy et al., 2015). Actualmente, la quinua se cultiva principalmente en América del sur. (Repo-Carrasco et al., 2010). Las semillas de quinua tienen un alto contenido de proteínas, alrededor del 15 % y su equilibrio esencial de aminoácidos es excelente, debido a un espectro de aminoácidos más amplio que los cereales y legumbres comunes (Tabla 1) (Bhargava et al., 2003). La cantidad de proteína de la quinua (PQ) puede variar del 10.4 % al 17.0 % dependiendo de su variedad (Montaño Reyes et al., 2006). Las fracciones proteicas de la proteína de quinua (PQ) son albuminas y globulinas, su estructura es estabilizada por puentes disulfuro (Abugoch et al., 2008). Existen limitados estudios del uso de proteína de quinua en RC, entre ellos, el trabajo de Abugoch et al., (2011) quienes elaboraron películas de proteína de quínoa-quitosano que mostraron resistencia mecánica, mejor elongación en respuesta a la tensión, y propiedades más hidrofílicas que la película de solo quitosano. Las películas tenían un aspecto traslúcido y color amarillento, mostrando que se puede generar una interacción

entre las proteínas de quinua y el quitosano. Valenzuela et al. (2013) adicionaron aceite de girasol como un agente hidrófobo para mejorar las propiedades de barrera al vapor de agua afectando levemente las propiedades mecánicas conferidas por la proteína de quinua.

Tabla 1. Composición de aminoácidos del aislado de PQ Adaptado de (Abugoch et al., 2008)

<b>Aminoácido</b>	<b>mg/g proteína</b>
Asparagina	89.40 ± 1.7
Ácido aspártico	70.60 ± 0.9
Cistina	6.80 ± 0.5
Glicina	50.50 ± 0.7
Ácido glutámico	145.40 ± 0.4
Histidina	23.00 ± 0.6
Isoleucina	39.10 ± 0.7
Leucina	69.20 ± 1.3
Lisina	52.10 ± 1.0
Metionina	23.50 ± 0.7
Fenilalanina	41.40 ± 0.7
Serina	47.60 ± 0.2
Treonina	42.70 ± 0.4
Triptófano	35.60 ± 0.0
Tirosina	35.60 ± 0.3
Valina	47.50 ± 0.9
Alanina	2.40 ± 0.6

#### 2.1.2.2. Quitosano

El quitosano (QT) es un polisacárido no ramificado obtenido a partir de la desacetilación de quitina. Es un compuesto que conforma el exoesqueleto de los crustáceos tales como: camarones, langostinos, cangrejos y en pared celular de hongos. El quitosano es un polímero natural que se encuentra constituido por  $\beta$ -(1-4)-2-acetamido-D glucosa y  $\beta$ -(1-4)-2-amino-D-glucosa (Figura 1).

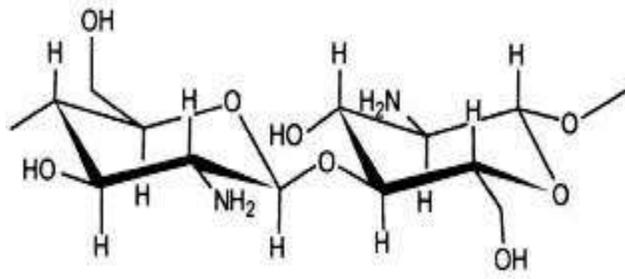


Figura 1. Estructura química del quitosano (adaptado de Mármol et al., 2011).

El quitosano es conocido por su baja toxicidad, biocompatibilidad y biodegradabilidad (Younes & Rinaudo, 2015). Además, posee múltiples aplicaciones potenciales en la industria alimentaria, debido a sus propiedades funcionales, nutricionales y fisicoquímicas únicas, además, cuenta con la denominación de "generalmente reconocido como seguro" (GRAS) por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) de los Estados Unidos de América (Escamilla-García et al., 2017). La ingesta diaria admitida es de 3.0 g (Rovira et al., 2012).

Ha sido utilizado como aditivo alimentario debido a sus excelentes propiedades emulsionantes y como fuente de fibra dietética (Li et al., 2017). Se ha utilizado para obtener películas elásticas y transparentes, además de ejercer actividad antimicrobiana (Kannat et al., 2007). La actividad antimicrobiana del quitosano está influenciada por el pH, el peso molecular, el grado de des-acetilación, la distribución de los grupos des-acetilados a lo largo de la cadena, la fuerza iónica del medio y el contraión asociado en su sal (Ma et al., 2017). Las películas de quitosano muestran una baja permeabilidad al oxígeno y contenido de humedad, pero una alta permeabilidad al vapor de agua (Jost et al., 2014).

### 2.1.2.3. Transglutaminasa

La transglutaminasa (TG) (EC 2.3.2.13), es una enzima transferasa bacteriana que es purificada de *Streptovorticillium mobaraense*. Puede catalizar la modificación postraducciona de proteínas mediante la introducción de enlaces isopeptídicos, que son altamente resistentes a la proteólisis enzimática y al estrés mecánico. Los

productos de reacción resultantes van desde péptidos hasta polipéptidos que contienen enlaces cruzados intra e intermoleculares, estos últimos clasificados como homo-lineales o ramificados y hetero-polímeros (Sabbah et al., 2019). Es capaz de catalizar la reticulación de las proteínas a través de reacciones de transferencia acilo entre el grupo  $\gamma$ -carboxiamida de glutamina y el grupo  $\epsilon$ -amino de lisina en las secuencias polipeptídicas, lo que genera enlaces isopeptídicos intermoleculares e intramoleculares en las películas basadas en hidrocoloides (Porta et al., 2011). La transglutaminasa se encuentra activa en un amplio rango de temperaturas y pH con una actividad óptima aproximadamente de 40 °C y un pH óptimo de 7.0–7.5.

La TG, considerado como "GRAS" para la ingesta humana, se ha propuesto ampliamente como una alternativa de procesamiento para modificar las propiedades funcionales de muchos productos alimenticios diferentes. Dado que las proteínas son una de las principales clases de componentes alimenticios, su modificación estructural mediante métodos químicos, físicos o enzimáticos es una alternativa disponible para la mejora y desarrollo de nuevas propiedades funcionales de alimentos específicos basados en proteínas (Figura 2) (Sabbah et al., 2019). Una alternativa para mejorar las características de las películas basadas en proteínas, es crear una estructura reticulada de su red, mediante el entrecruzamiento de proteínas a través de dicha enzima (Figura 3) (Fernández-Bats et al., 2018; Giosafatto et al., 2018).

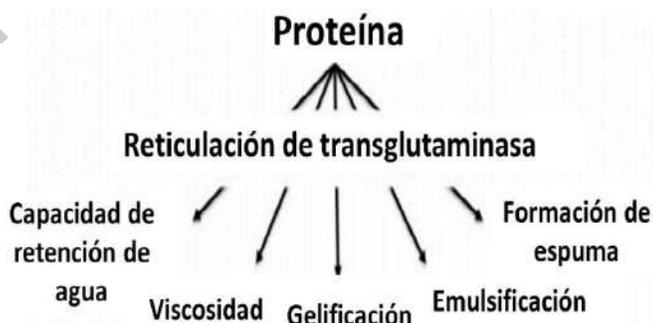


Figura 2. Principales propiedades funcionales de proteínas de interés alimentario influenciadas por la transglutaminasa (Adaptado de Sabbah et al., 2019)

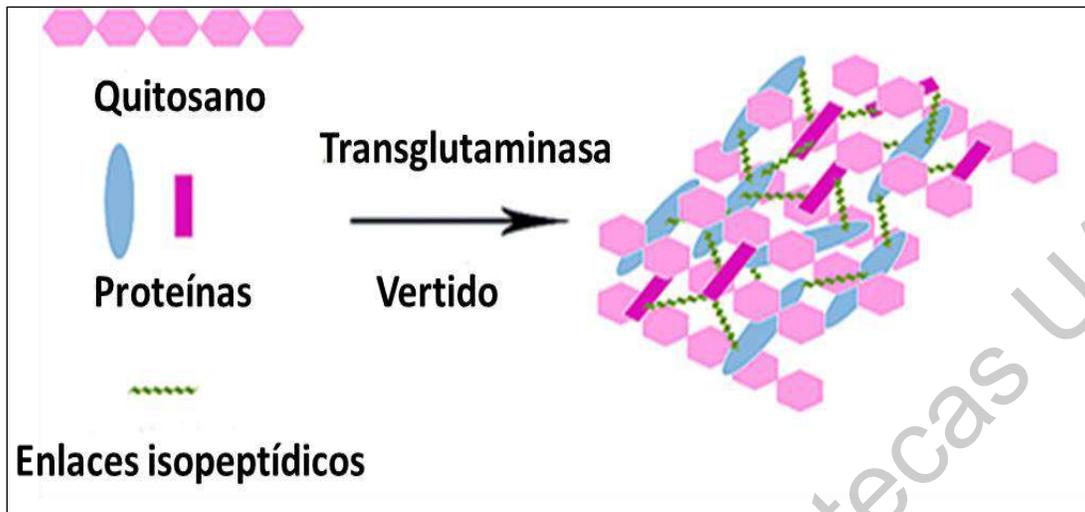


Figura 3. Reticulación de películas comestibles por medio de la enzima transglutaminasa (adaptado de Di Pierro et al., 2006)

## 2.2. Maíz azul

El maíz representa uno de los sectores más importantes de la producción agrícola en México. El maíz blanco y amarillo son las principales variedades utilizadas en los productos nixtamalizados en diversas regiones de México. Sin embargo, existen numerosos cultivares que contienen pigmentos de color, entre ellos se encuentran los pigmentos rojos, azules, púrpuras y negro. Estos colores se deben a las antocianinas que están presentes, principalmente en el pericarpio y la capa aleurónica (Khampas et al., 2015).

### 2.2.1. Taxonomía y características morfológicas

El maíz (*Zea mays*), es una angiosperma del orden de los cereales y perteneciente a la familia de las gramíneas, su planta alcanza medio metro a seis metros de alto. Sus condiciones óptimas de cultivo son temperaturas que sobrepasan los 20 °C y precipitaciones de 600 a 1000 mm al año (SIAP, 2012).

### 2.2.2. Composición química del maíz azul

El maíz azul destaca por la presencia de compuestos antioxidantes, los cuales retrasan el daño causado por radicales libres. Los compuestos fenólicos son parte de la composición del maíz azul, son metabolitos secundarios que contribuyen al aroma y al sabor de los alimentos. Dependiendo de su estructura los compuestos fenólicos se dividen en flavonoides y no flavonoides. El maíz azul es una fuente importante de antocianinas con potenciales aplicaciones antioxidantes. Las diferencias en el perfil de antocianinas de maíz dan como resultado una variación de color que van desde el rojo, morado, azul hasta casi negro. Las antocianinas del maíz azul ya han sido caracterizadas y presenta diez antocianinas tanto aciladas como no aciladas. Contienen un amplio rango de concentración de antocianinas totales, siendo la antocianina mayoritaria la cianidina 3-glucósido (Cy-3-Glu) que conforma un 90 %, seguido de la pelargonidina-3-glucósido con un 8 % y alrededor del 2 % de peonidina (Žilić et al., 2016). Existen diferencias del contenido de antocianinas en todas las variedades de maíz azul, se ha reportado que el contenido aproximado es de 400 a 900 mg/kg en el grano sin germen. Sin embargo, la nixtamalización afecta severamente estos compuestos. Por lo que las tortillas de maíz azul contienen aproximadamente un 30 % de las antocianinas totales (De la parra et al., 2008; Castañeda-Sánchez, et al., 2011). El maíz azul posee una alta calidad nutricional en comparación al maíz blanco o amarillo. Su nivel de fibra es más alto que otros cereales, además de contener carbohidratos de fácil digestión (De la parra, 2008).

En México existen distintos cultivares de maíz azul. Las variaciones entre estos cultivares está determinada por factores como: condiciones climáticas, tipo de suelo, factores genéticos, etc. En diferentes regiones del país se cultivan variedades criollas de maíz azul, siendo las más importantes Tabloncillo y Chalqueño su composición química se puede observar en la Tabla (2).

Tabla 2. Composición química del maíz azul de las variedades Tabloncillo y Chalqueño (Nuss & Tanumihardjo, 2010; Castañeda-Sánchez, 2011)

<b>Componente</b>	<b>Tabloncillo</b>	<b>Chalqueño</b>
Humedad (%)*	8.58 ± 0.31	8.29 ± 0.17
Cenizas (%)*	1.63 ± 0.01	1.52 ± 0.03
Lípidos (%)*	5.36 ± 0.04	4.91 ± 0.02
Proteínas (%)*	9.04 ± 0.23	9.04 ± 0.12
Almidón (%)*	78.5 ± 0.95	82.9 ± 0.86

\* Relación (p/p)

### 2.2.3. Panorama del mercado del maíz en México

La producción mundial de maíz en 2016 se estimó en 1,026 millones de toneladas, los principales países productores de este cultivo son Estados Unidos con un 37 % de la producción total, siguiéndole China con un 21 %, y Brasil con un 8 %, México se ubica como el octavo mayor productor mundial de este cultivo. Por otro lado, el consumo mundial del maíz ha crecido 3.3 % un promedio, en cuanto al tipo de consumo, el maíz forrajero ha crecido 2.5 % a tasa anual y el maíz para consumo humano e industrial ha crecido un 4.9 %. Los principales países consumidores de maíz son en orden de consumo Estados Unidos, China, Unión Europea, Brasil, México, India, Japón y Egipto concentrando alrededor del 75 % del consumo mundial (FIRA, 2016). De acuerdo al Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2018) en los últimos años México ha producido alrededor de 27 millones de toneladas de maíz anualmente, de las cuales 86 % corresponde a maíz de grano blanco, 7 % al maíz amarillo y el 7 % restante a otros colores, de los cuales el maíz de grano azul es el más importante. El 54 % de la producción de maíz blanco se produce en cuatro estados: Sinaloa, Jalisco, México y Michoacán. El 80 % de la producción de maíz amarillo se concentra en Chihuahua, Jalisco y Tamaulipas. Mientras que Estado de México y Chiapas conforman el 59 % de la producción de maíces de colores.

#### 2.2.4. Productos elaborados a partir de harina de maíz

La harina de maíz se deriva de la molienda de los granos secos de maíz, esta tiene aplicaciones en la industria alimentaria para la preparación de productos de panadería, bocadillos y productos listos para comer (Gwartz & Garcia-Casal, 2014). La harina de maíz se mezcla con la harina de trigo para reducir el gluten en productos de panadería (Sciarini et al., 2010).

Los productos alimenticios de maíz se pueden procesar a pequeña escala o a escala industrial, transformando la materia prima en productos. A escala industrial la harina de maíz puede procesarse como un producto estable. El maíz tiene que ser procesado para que sea aceptable para el consumidor, puede incluir la adición de otros ingredientes junto con el procesamiento térmico (ebullición, secado, fritura o horneado) lo cual define los atributos nutricionales y sensoriales del producto final. Los productos de maíz y los métodos de elaboración son tan diversos como el propio cultivo (Gwartz & García-Casal, 2014).

#### 2.2.5. Mercado de productos basados en maíz

El mercado global de las tortillas y sus derivados incrementará un 3.7 % anual en el periodo 2018-2028, alcanzando un valor de 12,324 millones de dólares en 2028. La demanda de productos de harina de maíz está incrementando debido a la demanda de productos como totopos, tostadas, botanas saludables y productos listos para el consumo. Además, la región del mundo donde este crecimiento será mayor será en la región Asia-Pacífico con un crecimiento medio anual de 7.4 % (Future Market Insights, 2018).

En México, se consumen en promedio 28 millones de toneladas de maíz al año, del cual 16.8 millones (60 %) se utiliza en la alimentación humana, de las cuales 11.5 millones de toneladas las consume la población no productora, adquiriendo el maíz transformado en tortillas y otros productos. Lo anterior demuestra la importancia que tiene el maíz y en la alimentación de la población mexicana de forma específica, la tortilla y sus derivados como lo son los totopos y las tostadas (CEDRSSA, 2014).

El tamaño del mercado mundial de los totopos de tortilla se valoró en 21 mil millones de dólares, tan solo en EE.UU. en 2018, y se tiene pronosticado un incremento de mercado de 4.41 % anual hasta el 2025. Este crecimiento se ve impulsado por cambios en el estilo de vida, donde se demandan productos “listos para su consumo”, en ese segmento se ha impulsado recientemente la inversión en Investigación y Desarrollo (I+D) para desarrollar productos más saludables, como totopos integrales, sin gluten, con bajo contenido de grasas y sodio (Tortilla Chips Market Size, 2020).

#### 2.2.6. Producción de totopos

Después de las papas fritas, las frituras de tortillas representan el segundo segmento más grande de botanas saladas. El primer paso para su producción es la nixtamalización que consiste en someter al maíz entero a un tratamiento térmico y alcalino. Este proceso dura 3 horas a una temperatura de 80-100 °C en agitación con un exceso de agua a una concentración de 2 % de cal. Posteriormente el maíz cocido se deja reposar. Este proceso permite que el endospermo se hidrate y el almidón se gelatinice parcialmente, subsecuentemente el maíz se somete a un lavado lo que elimina la cal residual y el pericarpio. El material resultante es molido lo que genera una masa fresca que después es deshidratado. Posteriormente la harina de maíz, es reconstituida con agua, es cortada para finalmente producir las botanas de tortilla o totopos esos pueden ser elaborados por el freído o el horneado (Figura 4) (Riaz et al., 2016).

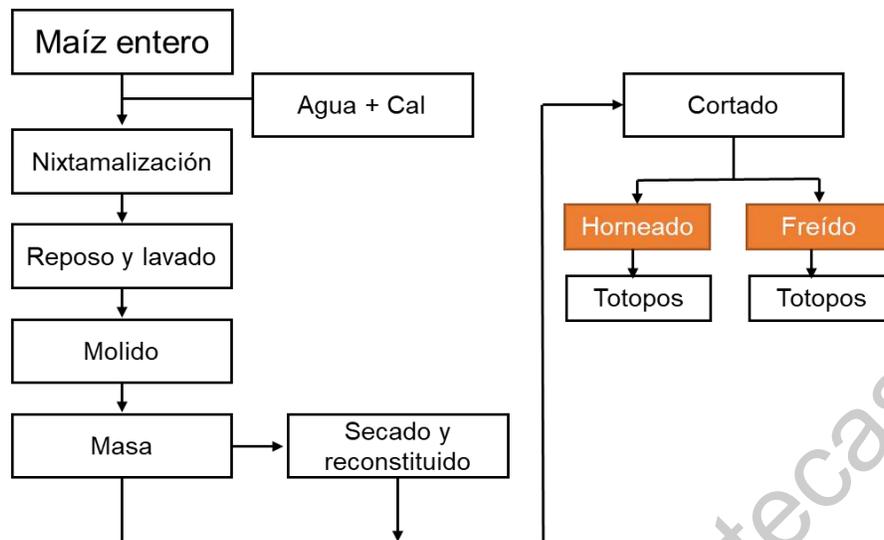


Figura 4. Diagrama de flujo del proceso de elaboración de totopos (adaptado de Riaz et al., 2016)

## 2.3. Métodos de cocción

### 2.3.1. Freído

El freído o “deep fat-frying” puede ser definido como el proceso de inmersión de un alimento en aceite o grasa comestible que se calienta a temperaturas de 150 °C a 200 °C (Kurek et al., 2017). El proceso de freído es una de las formas de preparación de comida más antiguas y populares. Durante este proceso se llevan a cabo cambios físicos, químicos y nutricionales en el alimento. Estos cambios dependen de diversos factores, pero los principales son: la humedad, la composición del alimento, la calidad del aceite y la temperatura a la cual se está llevando a cabo el proceso, así como el tiempo de contacto del alimento y el aceite.

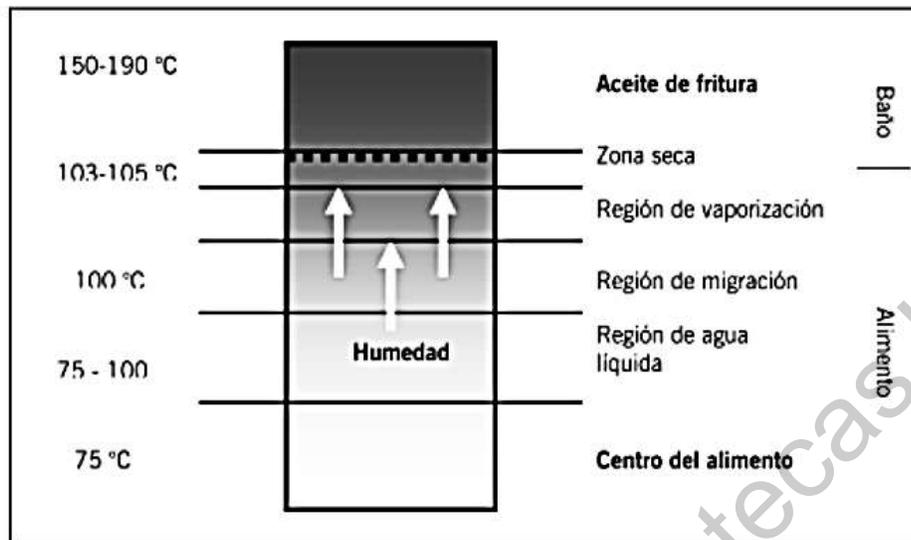


Figura 5. Transferencia de masa y calor que se produce durante el freído del alimento (Choe & Min, 2007)

Las propiedades térmicas y fisicoquímicas tanto de los alimentos como del aceite, afectan el proceso de transferencia de calor y masa. El aceite para freír actúa como un medio de transferencia de calor que contribuye a la textura y el sabor de los alimentos fritos (Choe & Min, 2007) (Figura 5). El proceso de freído produce compuestos de sabor que depende el caso puede ser deseable o indeseable, cambia la estabilidad, el sabor, el color, la textura y la calidad nutricional de los alimentos. Los aceites frescos comestibles son, en un 96 - 99 %, mezclas de triacilgliceroles que sufren una degradación irreversible durante la fritura, principalmente debido al calor, el agua, el oxígeno y la exposición a la luz (Achir et al., 2006). Durante la fritura, la oxidación de las grasas insaturadas no se acelera ya que el oxígeno es limitante, pero un mecanismo de radicales libres aumenta la descomposición del hidroperóxido en compuestos como aldehídos, cetonas, dímeros oxidativos y polímeros. Además, durante la fritura, el vapor de agua se escapa de los alimentos y aumenta el contenido de humedad dentro del aceite. Como resultado, la humedad da lugar a reacciones hidrolíticas que producen ácidos grasos libres, mono y diacilgliceroles y glicerol (Choe & Ming, 2007). Finalmente, el exceso de energía proporcionada al aceite forma reticulaciones químicas que

provocan la formación de polímeros en el aceite. Todos estos compuestos pueden afectar el valor nutricional de los alimentos, tener efectos nutricionales adversos y peligros potenciales para la salud humana. La hidrólisis, oxidación y polimerización del aceite son reacciones químicas comunes en el aceite de freír y producen compuestos volátiles y no volátiles. La mayoría de los compuestos volátiles se evaporan a la atmósfera con el vapor de agua y los compuestos no volátiles experimentan reacciones químicas adicionales, o bien se absorben en los alimentos fritos. Los compuestos no volátiles en el aceite cambian las propiedades físicas y químicas tanto del aceite así como de los alimentos fritos, afectando la estabilidad, el sabor y la textura de los alimentos durante el almacenamiento. El freído reduce los ácidos grasos insaturados del aceite y aumenta la formación de espuma, color, viscosidad, densidad, calor específico y el contenido de ácidos grasos libres, materiales polares y compuestos poliméricos (Figura 6) (Choe & Min, 2007).

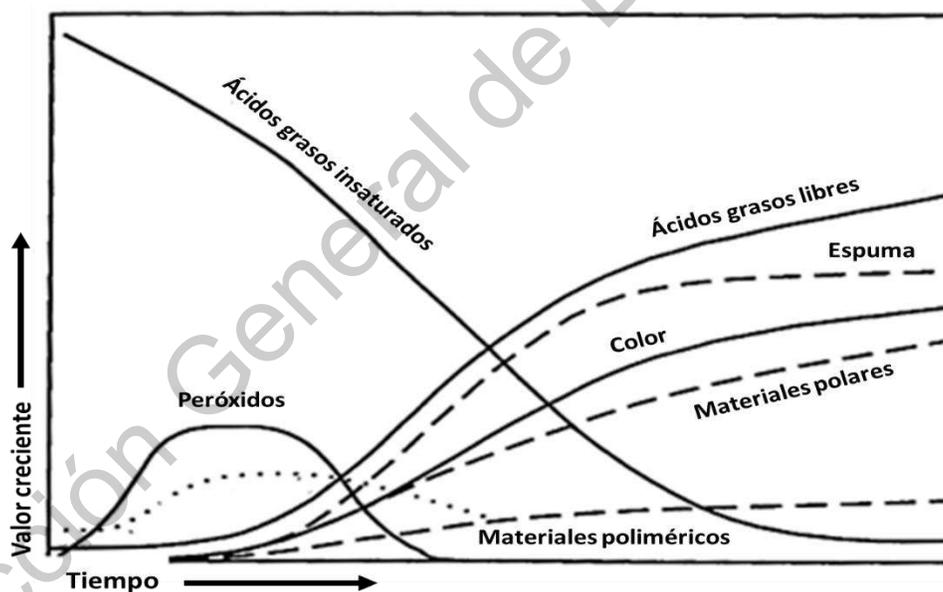


Figura 6. Cambios químicos y físicos del aceite durante el proceso del freído (Choe & Min, 2007).

Los alimentos fritos son una gran parte del mercado de alimentos y sigue siendo un método culinario ampliamente utilizado a nivel doméstico, comercial e industrial. Los alimentos fritos pueden ser sabrosos, con mejor apariencia, aroma,

sabor y textura (crujiente); pero el principal problema es que después de freír, los productos fritos pueden contener hasta un 50 % de grasa del peso total del producto. Además, algunos de los lípidos ni siquiera estaban en el alimento antes de freírlos. En particular, la grasa saturada y los ácidos grasos trans en los alimentos fritos son factores clave que contribuyen a la dieta de la alta incidencia de enfermedades cardiovasculares (colesterol alto, enfermedad cardíaca, entre otras) así como un mayor riesgo de ciertos cánceres y obesidad (Kurek et al., 2018).

Los alimentos fritos a la temperatura y el tiempo óptimos tienen un color marrón dorado, si se cocinan adecuadamente son crujientes y tienen una absorción de aceite óptima (Blumenthal, 1991). Sin embargo, los alimentos fritos a una temperatura más baja o un tiempo de fritura menor al óptimo tienen un color blanco o ligeramente marrón en el borde, y tienen almidón no gelatinizado o parcialmente cocido en el centro. Los alimentos fritos tienen un sabor frito intenso deseable, buen color y textura crujiente. Los alimentos fritos a una temperatura más alta y un tiempo de fritura más prolongado tienen superficies oscurecidas, endurecidas y una textura grasa debido a la absorción excesiva de aceite (Choe & Min, 2007).

#### 2.3.1.1. Reacciones químicas del aceite durante el freído

- Hidrólisis del aceite

Cuando un alimento se somete al proceso de freído, el vapor de agua proveniente de éste reacciona atacando el enlace éster de los triglicéridos produciendo su hidrólisis consecuentemente se liberan ácidos grasos libres, monoacilgliceroles, diacilgliceroles y glicerol. Los triglicéridos que contienen ácidos grasos de cadena corta son más sensibles a la hidrólisis que aquellos que tienen cadena larga (Juárez & Sammán, 2007). El contenido de ácidos grasos libres en el aceite de freír aumenta con el número de veces que se reutiliza. El valor del ácido graso libre se utiliza para controlar la calidad del aceite de freír (Chung et al., 2004).

Los ácidos grasos libres y sus compuestos oxidados producen un sabor desagradable y hacen que el aceite sea menos aceptable para la fritura.

- Oxidación

La oxidación es la forma más común en el deterioro de aceites y grasas, ocurre cuando se oxidan los ácidos insaturados otorgando al aceite un olor a oxidado. Esta reacción ocurre más rápidamente en aceites con alto contenido de ácido esteárico, oleico, linoleico y linolenico. Debido a que los ácidos grasos con más presencia de insaturaciones necesitan menos tiempo para absorber la misma cantidad de oxígeno por ello se oxidan con mayor rapidez que los ácidos grasos con menor insaturación.

La oxidación se puede detener parcialmente debido a que al producirse el primer radical libre este ataca a otra molécula de grasa convirtiéndola en un peróxido que es también un radical libre con posibilidad de oxidar a otras moléculas de aceite. Esta oxidación produce características de olor y sabor desagradables en el alimento (Sang, 2009). La auto-oxidación es una importante reacción de degradación que es atribuida a la rancidez del aceite, es bien conocido que la mayor parte de la reacción ocurre durante el freído mientras se aumenta la temperatura. Durante el tratamiento de freído el contenido de oxígeno disminuye con el tratamiento a altas temperaturas, adicionalmente cuando ya no se tiene oxígeno libre, muchas otras reacciones térmicas tienen lugar. Sin embargo, la velocidad de reacción incrementa durante el proceso a altas temperaturas. El mecanismo de la oxidación térmica es similar al de la auto-oxidación con la única diferencia en la velocidad de reacción (Houhoula et al., 2003). La cinética clásica del modelo de peroxidación de ácidos grasos insaturados consiste de 3 etapas: Iniciación, propagación y terminación (Zhang et al., 2012).

- Polimerización

Los compuestos volátiles son extremadamente importantes en el sabor y en la calidad de los alimentos fritos, pero el contenido total de compuestos volátiles en los aceites de freído está presente en concentraciones de partes por millón (Choe & Min, 2007). Los polímeros de triacilglicéridos como dímeros, trímeros y oligómeros son categorías de productos oxidados térmicamente. El oxígeno y la temperatura son los factores principales que producen la polimerización. Esta reacción forma polímeros y complejos con enlaces  $-C-C-$ ,  $-C-O-C-$  y  $-C-O-O-C-$  entre las

moléculas. Por lo tanto, el oxígeno puede producir distintos tipos de productos poliméricos, polímeros no polares sin oxígeno extra y polímeros polares con oxígeno extra. Con la producción y acumulación de polímeros, muchos fenómenos indeseables como deterioro, pérdida de color e incremento de viscosidad se producen durante el proceso de freído e indican el momento de reemplazar el aceite (Zhang et al., 2012).

#### 2.3.1.2. Problemática del consumo de alimentos fritos

El principal problema en cuanto al consumo de los alimentos fritos es que después de freír, los productos fritos pueden contener hasta un 50 % de grasa del peso total del producto, incluyendo grasas saturada y grasas trans. En particular este tipo de grasas en la dieta son contribuyentes clave en la alta incidencia de enfermedades cardiovasculares. Entre las principales implicaciones que puede tener para la salud se encuentran: la obesidad, la hipertensión, las enfermedades cardiovasculares (ECV), entre otras, las cuales se encuentran directamente asociadas con el alto consumo de alimentos fritos con alto contenido de grasa (Hu et al., 2001; Ananey-Obiri et al., 2018). Por ello, el desarrollo de productos fritos más saludables que contengan una menor absorción de aceite durante el proceso de freído es uno de los factores dominantes en las últimas tendencias de investigación, lo que lleva a estudios sobre formas de reducir el contenido de aceite de los alimentos fritos (Varela et al., 2014; Zhang et al., 2018).

De acuerdo a Las pautas dietéticas para estadounidenses recomienda que las grasas aporten menos del 35 % de las calorías diarias. En los alimentos fritos, hasta el 75 % de las calorías pueden provenir de las grasas (Brannan & Pettit, 2015).

#### 2.3.1.3. Mecanismo de acción de los RC en alimentos fritos

La absorción de aceite está influenciada por una variedad de factores. Estos consideran la calidad del aceite, la temperatura de fritura, el tiempo de freído, varios pretratamientos y la composición de los alimentos. El aceite utilizado en la fritura aumenta el contenido total de lípidos de los alimentos. Este es absorbido y tiende a acumularse en la superficie de los alimentos fritos durante la fritura en la mayoría

de los casos moviéndose hacia el interior de los alimentos durante el enfriamiento (Figura 7) (Moreira et al., 1999).

La selección de un recubrimiento apropiado para alimentos antes de freír es un posible medio para reducir la absorción de grasa así como para disminuir la pérdida de humedad. La mayoría de los recubrimientos de biopolímeros comerciales que se dice que actúan de esta manera para reducir la absorción de grasa, son recubrimientos de polisacáridos. Además, varias proteínas también han sido examinadas como revestimiento para diversos productos alimenticios (Mellema, 2003).

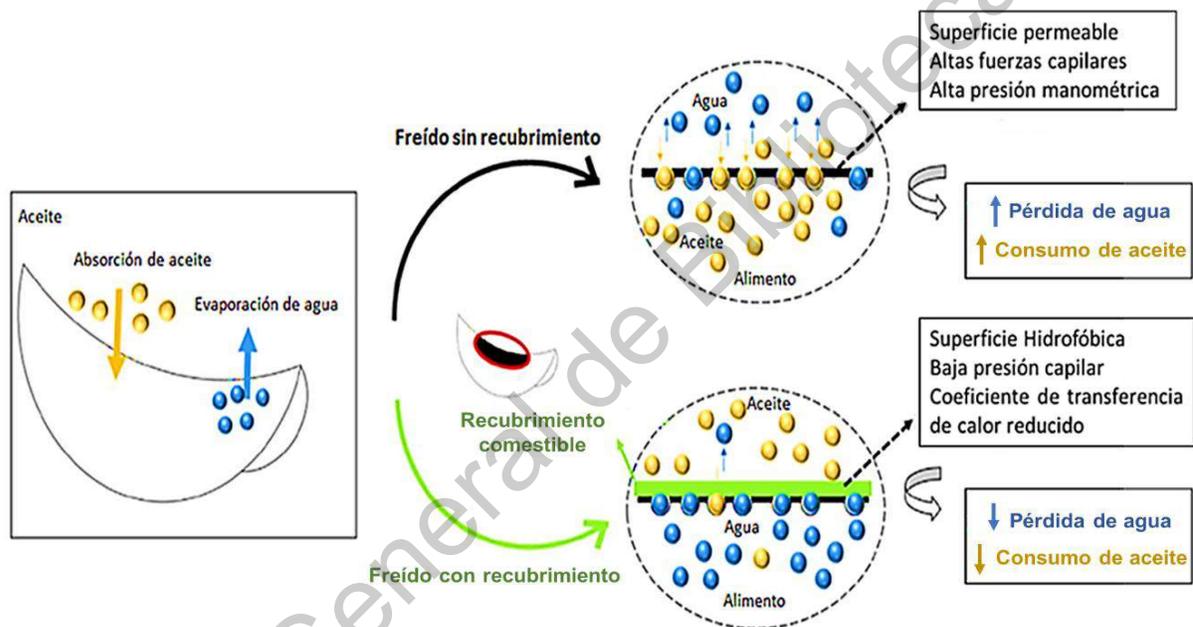


Figura 7. Mecanismo de acción de los recubrimientos comestibles en alimentos fritos (adaptado de Kurek et al., 2017)

Los RC y PC forman una capa protectora que impide la entrada de aceite en el interior del alimento. Se ha reportado que los RC de naturaleza hidrocoloidal son eficientes para la reducción de la absorción de aceite durante el freído, tal es el caso de la metilcelulosa, zeína de maíz, quitosano, pectina, goma arábiga, caseinato, etc.

## 2.3.2. Horneado

### 2.3.2.1. Productos horneados

Los productos horneados son sujetos a deterioro físico, químico y microbiológico. La adsorción de humedad en los alimentos horneados a menudo resulta en cambios físicos y químicos indeseables que afectan sus parámetros de calidad y vida útil. De hecho, la textura crujiente, es la propiedad esencial de los alimentos secos, y esta se pierde cuando los productos superan los valores de actividad del agua. El efecto crítico de la humedad en los alimentos horneados está asociado a un mecanismo de plastificación que implica un aumento del volumen libre mediante la adición de compuestos de bajo peso molecular como el agua. Este proceso da como resultado una mayor movilidad y flexibilidad de las macromoléculas y transforma la matriz del alimento de una textura crujiente a un estado gomoso, que es la principal causa de rechazo de los alimentos horneados por parte de los consumidores (Roudaut et al. 2002; Bravin et al., 2006)

Una de las posibilidades para controlar la migración de humedad en los alimentos secos es su recubrimiento comestible. Una película comestible dotada de baja permeabilidad al vapor de agua puede ser una forma útil de evitar la absorción de agua por los alimentos horneados (Falguera et al., 2011). Bravin et al., (2006) elaboraron una película comestible emulsionada compuesta de almidón de maíz, metilcelulosa (MC) y aceite de soja. La eficacia del revestimiento comestible para controlar la transferencia de humedad en productos sensibles a esta se evaluó revistiendo galletas saladas. La película esparcida proporcionó mejores propiedades mecánicas y de barrera al vapor. Rossi et al., (2014) evaluaron la capacidad del recubrimiento a base de proteínas de suero / pectina / transglutaminasa para controlar la transferencia de almacenamiento de taralli. El RC de proteína de suero / pectina preparada en presencia de la enzima TG resultó ser una forma útil de prevenir la absorción de agua por los alimentos horneados con el tiempo y evitar que se ablanden rápidamente al perder su dureza y su textura crujiente. De Pilli, (2020) evaluó una PC elaborada con aceite vegetal y proteínas de huevo, las muestras cubiertas con la película comestible mostraron un ligero

aumento de humedad en la corteza 25 % vs 97 % sin desarrollo de hongos, además de un ligero aumento de dureza y moderada disminución de cohesión.

## 2.4. Acrilamida

### 2.4.1. Estructura química

La acrilamida es un producto químico intermedio (un monómero) empleado en la síntesis de poliacrilamidas (Figura 8). Se presenta como un polvo blanco cristalino. Es soluble en agua, etanol, metanol, y acetona; no es soluble en heptano ni benceno. Se polimeriza rápidamente al alcanzar el punto de fusión o al ser expuesto a la luz UV. La acrilamida sólida es estable a temperatura ambiente, pero puede polimerizarse violentamente cuando se mezcla o expone a agentes oxidantes (Maan et al., 2020).

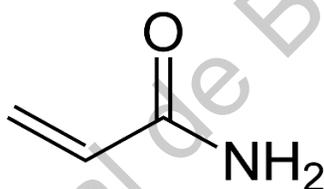


Figura 8. Estructura química de la acrilamida

### 2.4.2. Mecanismo de formación de acrilamida

La formación depende de la presencia de precursores y de las condiciones de procesamiento tales como valor de pH, temperatura, tiempo, entre otros. Los principales requisitos para la formación de acrilamida son una temperatura mínima de 120 °C, bajo contenido de humedad, un valor de pH de 7 o superior y la presencia de precursores como asparagina libre y azúcares reductores (Matthäus & Haase, 2016).

La principal vía de producción de acrilamida en alimentos es principalmente por las reacciones de Maillard que consiste en la reacción entre algunos aminoácidos, principalmente asparagina, y azúcares reductores cuando el alimento es sometido a altas temperaturas (Keramat et al., 2011). Un aminoácido combinado con un compuesto di-carbonilo por la pérdida de agua y sujeto a un reacomodo

intramolecular de iones, puede formar acroleína, nitruro de hidrógeno y otros compuestos del tipo aldehído. La acrilamida puede formarse por la unión de ácido acrílico y nitruro de hidrógeno o amonio originado por los compuestos que tienen nitrógeno, aparte de los azúcares reductores como una fuente de compuestos carbonilo. Otra posible fuente de formación es por oxidación de lípidos durante el freído a temperaturas de 200 °C que conducen a acroleína (Figura 9) (Capuano et al., 2010; Matthäus & Haase, 2016).

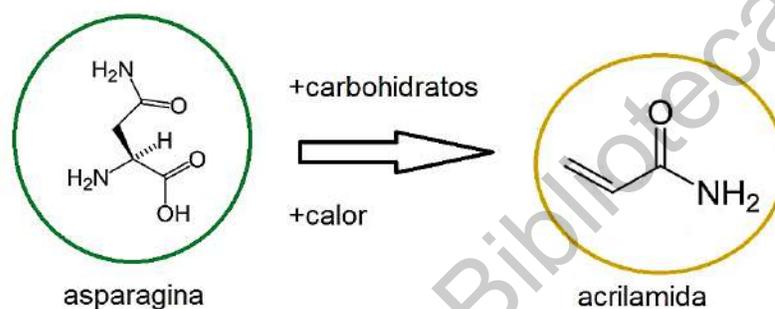


Figura 9. Mecanismo de formación de la acrilamida

#### 2.4.3. Formación de acrilamida en productos fritos y horneados

La presencia de acrilamida en alimentos fue reportada por primera vez por Tareke et al., (2002) en Suecia. En los alimentos se forma cuando son cocinados a altas temperaturas de procesamiento y, por lo tanto, se encuentran niveles más altos en los productos alimenticios horneados, fritos con mucha grasa y productos a base de cereales (Mencin et al., 2020).

Los productos horneados representan alrededor del 20 % de la exposición humana a acrilamida, existen factores que desencadenan la formación de acrilamida en los alimentos. Estos son la presencia de precursores de acrilamida, como los aminoácidos libres (principalmente asparagina), azúcares reductores y condiciones de procesamiento tales como tiempo, temperatura de cocción, contenido de humedad y matriz del producto (Keramat et al., 2011). Los valores más altos de acrilamida se han encontrado en productos de papa frita, pero también en productos de cereales como pan tostado, pan o cereales para el desayuno. El café

tostado y los sucedáneos del café también son productos de alto riesgo de contaminación por acrilamida (Matthäus & Haase, 2016).

Es muy probable que la eliminación completa de la acrilamida de los productos fritos sea difícil de lograr. Sin embargo, se debe aplicar el principio de "ALARA" que significa: tan bajo como sea razonable o técnicamente alcanzable. Actualmente, existen diversos métodos que se proponen para reducir la formación de acrilamida una de ellos es la aplicación de recubrimientos comestibles antes de someter al proceso de cocción (Maan et al., 2020)

#### 2.4.4. Efectos sobre la salud

La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) ha confirmado que la acrilamida en los alimentos aumenta el riesgo de desarrollo de cáncer en los consumidores (EFSA, 2015). La acrilamida es neurotóxica tanto para los seres humanos como para los animales de laboratorio debido a sus efectos dañinos sobre el sistema nervioso central y periférico (Hagmar et al., 2001). Los estudios en animales también han demostrado que la acrilamida provoca un aumento en la incidencia de tumores en varias glándulas, incluidas la tiroides, mamarias, pituitaria y otras (Hariri et al., 2015). Además, la ingesta crónica de alimentos que contienen acrilamida se ha asociado con un mayor riesgo de aterosclerosis (Naruszewicz et al., 2009). En consecuencia, la acrilamida ha sido declarada como "un probable carcinógeno humano" por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC, 1994). El potencial carcinogénico de la acrilamida incluye mutaciones genéticas y daño del ADN *in vitro* e *in vivo* además de ser un mutágeno de células germinales (FAO/OMS, 2011).

La acrilamida se convierte en un problema de salud para los consumidores, ya que el efecto de la exposición a un agente tóxico / cancerígeno depende del peso corporal, que se correlaciona principalmente con la edad (Al-Asmar et al., 2018). El Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) determinó los valores de MOE (margen de exposición) de 0.31 mg/kg de peso corporal por día para la inducción de tumores mamarios en ratas, los valores de MOE son 310 y 78 mg/kg, respectivamente. Para los tumores de la glándula de Harder en ratones, el

BMDL 10 (el límite más bajo de confianza en el nivel de efecto del 10 %) es de 0.18 mg/kg de peso corporal por día, y los valores de MOE son 180 y 45 mg/kg de peso corporal por día para exposiciones medias y altas, respectivamente. El Comité consideró que para un compuesto que es tanto genotóxico como cancerígeno de BMDL10 es igual a 0.17 mg/(kg día) para riesgo carcinogénico y un BMDL10 igual a 0.43 mg/(kg día) para riesgo neurotóxico (FAO / OMS, 2011).

Dirección General de Bibliotecas UAQ

### 3. JUSTIFICACIÓN

De acuerdo con cifras de la Secretaría de Economía (SE, 2018) En los últimos años el mercado de botanas ha ido cada vez más en aumento. En México se obtuvo un valor total en 2016 de 3,400 millones de dólares, y se espera que para el año 2020, el crecimiento de este mercado alcance el 4.9 %; en cuanto al valor de este mercado se estima que supere los 4,000 millones de dólares. Existe gran diversidad de botanas en el mercado entre ellas botanas saladas y dulces. Sin embargo, las botanas saladas encabezan la lista de mayor consumo y entre ellas se encuentran: los chips de papa, tortilla o vegetales las cuales conforman el 65 % del total de botanas producidas.

Además, más del 80 % del consumo humano del maíz en México es a través de la tortilla y productos similares como tostadas y totopos (FIRA, 2008). Con ello se demuestra la gran importancia que tienen tanto el maíz como las botanas en la población mexicana.

Aunado a lo anterior, el consumo de alimentos fritos se encuentra directamente relacionado con problemas de salud debido a su alto contenido de grasa. Entre las principales implicaciones que puede tener para la salud se encuentran: la obesidad, la hipertensión y las enfermedades cardiovasculares, entre otras. Siendo el sobrepeso y la obesidad los principales problemas asociados al consumo de estos productos. De acuerdo a cifras de la OMS las tasas de obesidad han alcanzado un número asombroso en todo el mundo. En 2017, se estimó que 1.9 billones de personas mayores de 18 años alrededor del mundo tenían sobrepeso, por lo cual se han implementado alternativas para disminuir el contenido de aceite en los alimentos fritos. Sin embargo, a pesar de las alternativas para concientizar del bajo valor nutritivo de los alimentos fritos, estos se consumen a diario en el país, así que reducir el índice de contenido de grasa en los alimentos es fundamental.

Por otro lado, otro problema atribuido al consumo de alimentos fritos y horneados es la producción de acrilamida, un compuesto con potencial carcinogénico y neurotóxico. De acuerdo con la Autoridad Europea en Seguridad Alimentaria (EFSA), la formación de acrilamida se presenta en numerosos alimentos fritos y horneados como: papas fritas, totopos fritas, pan, galletas y café, entre otros.

Se deben proponer soluciones innovadoras para disminuir el contenido de grasa de los alimentos fritos, manteniendo las propiedades organolépticas como el sabor y la sensación en la boca. La aplicación de recubrimientos comestibles como tratamiento previo al freído es un proceso prometedor para reducir la absorción de lípidos y, además, para reducir el contenido de acrilamida en los productos fritos, así como en alimentos horneados. Son pocos los trabajos reportados en cuanto al uso de recubrimientos comestibles en otros alimentos además de papas fritas. De allí la necesidad de contribuir con más información sobre el efecto de los RC sobre este tipo de productos ya que además se disminuir la adsorción de aceite y la formación de acrilamida el RC no debe afectar las propiedades organolépticas del producto final para evitar el rechazo de los consumidores.

Es por lo anterior que en este trabajo se propuso diseñar, aplicar y evaluar un recubrimiento comestible (RC) a base de proteína de quinua-quitosano entrecruzado con transglutaminasa que disminuyera el contenido de acrilamida en totopos fritos y horneados

## 4. OBJETIVOS

### 4.1. Objetivo general

Diseñar un recubrimiento comestible a base de una mezcla de quitosano y proteína de quinua entrecruzada con transglutaminasa y evaluar su efecto sobre la grasa incorporada y la producción de acrilamida cuando se aplica en totopos.

### 4.2. Objetivos específicos

1) Diseñar la formulación de recubrimientos comestible evaluando diferentes proporciones de proteína de quinua-quitosano y transglutaminasa.

2) Caracterizar las propiedades fisicoquímicas, mecánicas y de barrera de los recubrimientos comestibles.

3) Evaluar el efecto de los recubrimientos con mejores propiedades en totopos sobre las propiedades fisicoquímicas del producto frito y del producto horneado.

4) Determinar la capacidad de reducción de los niveles de acrilamida de los totopos, tanto fritos como horneados.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1. Materiales

El quitosano (peso molecular 375 kDa, desacetilación  $\geq 75$  % y alto grado de pureza), el acetato de sodio y el D-sorbitol se adquirieron de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). El quitosano (peso molecular 375 kDa, desacetilación  $\geq 90$  % y alto grado de pureza) se obtuvo de Chemsavers (Bluefield, VA, EUA). La acrilamida 99.9% pureza, el ácido clorhídrico y el ácido fórmico se obtuvieron de J.T. Baker. El hidróxido de sodio fue adquirido de Meyer. La quinua peruana (*Chenopodium quinoa*) fue obtenida de Hanseatik S.A. de C.V. (Ciudad de México, México). La enzima transglutaminasa microbiana derivada del cultivo de *Streptoverticillium* sp, con 92 UI/g se adquirió de Activa WM, Ajinomoto (Tokio, Japón). La harina de maíz azul nixtamalizado se obtuvo de MASECA® Harinera de maíz de Nuevo León, S.A. De C.V. (Nuevo León, México).

### 5.2. Métodos

#### 5.2.1. Diseño experimental para la elaboración de RC

Se aplicó un diseño factorial completo  $2^3$  con tres réplicas y los tratamientos se aleatorizaron. Los factores a evaluar fueron la mezcla proteína de quinua-quitosano, el porcentaje de des-acetilación del quitosano y la enzima transglutaminasa. Cada factor se evaluó en dos niveles, el efecto de dos proporciones de la mezcla proteína de quinua-quitosano (1:5, 1:10 p/p), el efecto de dos porcentajes de des-acetilación del quitosano (75 % y 90 %) y la presencia o ausencia de la enzima transglutaminasa (Tabla 3).

Tabla 3: Factores y niveles para el diseño de las películas comestibles

Factor	Niveles	
% Des-acetilación del quitosano	75	90
Proteína quinua-quitosano	1:5	1:10
Transglutaminasa	presencia	ausencia

En el Tabla 4 se pueden observar los tratamientos a utilizar en este proyecto.

Tabla 4. Diseño experimental de las soluciones filmogénicas

<b>Tratamiento</b>	<b>PQ-Q</b>	<b>% Des-acetilación quitosano</b>	<b>Transglutaminasa</b>
T1	1:5	75	presencia
T2	1:5	90	presencia
T3	1:5	75	ausencia
T4	1:5	90	ausencia
T5	1:10	75	presencia
T6	1:10	90	presencia
T7	1:10	75	ausencia
T8	1:10	90	ausencia

Las variables respuesta a evaluar en las suspensiones filmogénicas obtenidas fueron: potencial  $\zeta$ , tamaño de partícula, índice de polidispersión, así como las propiedades fisicoquímicas, de permeabilidad y mecánicas.

#### 5.2.2. Extracción de la proteína de quinua

Para realizar la extracción de proteína se trituraron las semillas de quinua con un molino de café Krups (CDMX, México) y se colocaron en agua destilada en proporción 1:10 (PQ-agua). La suspensión se ajustó a pH 11 durante 1 h para solubilizar las proteínas presentes y posteriormente se centrifugó a 3,200 rpm durante 20 min a 4 °C en una centrifuga Avanti J 301 (Beckman, IN, EUA). Se procedió a recuperar el sobrenadante y posteriormente se ajustó a pH 4.5 con una solución de HCl 1 N para precipitar la proteína, se mantuvo en agitación por 30 min y la suspensión se centrifugó nuevamente (3,200 rpm, 20 min 4 °C). El precipitado se recuperó y se colocó a 50 °C en un horno (Binder, Herrenberg, Alemania) para su secado. Este procedimiento fue repetido dos veces más para obtener la mayor concentración de proteína posible. Mediante el método de Kjeldahl se determinó la cantidad de proteína total (AOAC, 1984).

### 5.2.3. Preparación de las soluciones filmogénicas

La preparación de las soluciones filmogénicas de proteína de quinua (PQ) con quitosano (QT) se realizó en una proporción (PQ:QT) de 5:1 y 10:1. Se preparó una solución de quitosano al 2 % se ajustó a pH 2 con ácido cítrico al 15 % y se mantuvo en agitación durante 12 h a temperatura ambiente. La solución de proteína de quinua se preparó con agua destilada, se ajustó el pH a 11 para lograr la solubilización de la proteína y se mantuvo en agitación por 1 h. Se incorporó la solución de quitosano previamente preparada a la solución de proteína de quinua y se ajustó el pH a 4. Posteriormente se adicionó el 80 % (p/p) de sorbitol con respecto a la cantidad de proteína. Todas las SF se homogenizaron durante 2 min a 9,500 rpm y 1 min a 6,500 rpm en un homogenizador de alta velocidad IKA T25-Ultra-Turrax (Wilmington, Delaware, EUA). Después de la homogeneización se redujo el tamaño de partícula, se utilizó un sonicador de alta intensidad Sonics (Connecticut, EUA), con una sonda de 3 mm de diámetro Vibra-Cell VCX 500 (Newtown, CT, EUA). Se usaron dos períodos de 1.5 min. a una amplitud de 70 % con un tiempo de reposo entre períodos de 5 min, utilizando un baño de hielo para evitar el aumento de temperatura de la SF y evitar la desnaturalización de la PQ.

Para la adición de la enzima transglutaminasa, cada solución filmogénica se ajustó a pH 6, se agitó durante 1 h a 37 °C en presencia de la enzima (2 UI/mg de PQ) y al final de la incubación se ajustó a pH 4 para la inactivación de la enzima.

Por último, en la formación de las PC se utilizó el método de vertido (casting) ya que este es el método más utilizado para la formación de PC a escala de laboratorio y piloto. Este método implica la solubilización de los biopolímeros en un solvente adecuado, para después vaciar la solución en un molde y por último proceder a su secado (Suhag et al., 2020). Una vez realizado el vertido de la suspensión filmogénica (SF) en el molde se procedió a rociar alcohol al 70 % (v/v) sobre la PC y el horno de secado (v/v) con la finalidad de eliminar burbujas presentes en la PC y así evitar la formación de poros cuando la PC y en el horno para reducir la concentración microbiana en la superficie. El secado de las PC se realizó por un tiempo de 12 h a 30°C; el tiempo de secado es importante debido a que diversos autores han mostrado efectos negativos sobre las propiedades físicas

y estructurales de las PC cuando se hace uso de métodos de secado rápido (Velaga et al., 2018). La baja temperatura durante las etapas de procesamiento también suele ser una ventaja, ya que la mayoría de los materiales de procesamiento de alimentos no se pueden moldear a temperaturas más altas sin inducir un cambio estructural irreversible en el material (Suhag et al., 2020).

#### 5.2.4. Determinación de las propiedades del recubrimiento

##### 5.2.4.1. Potencial $\zeta$ , tamaño de partícula e índice de polidispersión

El potencial  $\zeta$ , tamaño de partícula y el índice de polidispersión de las PC elaboradas se midieron con un Zetasizer Nano ZS (ZEN 3600 Malvern Instruments, Worcestershire, Reino Unido) con longitud de onda a 633 nm con detector de retrodispersión a 173°. Las mediciones del potencial  $\zeta$  se realizaron por triplicado en cada muestra de solución filmogénica (1 mL). El análisis se realizó a 25 °C aplicando un voltaje de 200 mV. El potencial  $\zeta$  se calculó por medio de la movilidad electroforética utilizando la ecuación de Henry y la aproximación de Smoluchowski (Porta et al., 2016). Se calculó el tamaño promedio de las partículas en la solución por medio de dispersión dinámica de luz. El índice de polidispersión es representado por la varianza relativa en la distribución del tamaño de partícula.

##### 5.2.4.2. Espesor

Se elaboraron películas comestibles (PC) con las soluciones filmogénicas mediante el método de vertido y se secaron a 30 °C y 45 % HR por 12 h. Posteriormente, el espesor se midió con un micrómetro digital Mitutoyo (Kanagawa, Japón.) Se realizaron 10 mediciones en posiciones aleatorias de la película y se calculó el promedio de las mediciones tomadas para calcular el espesor de la película. (Giosafatto et al., 2014).

##### 5.2.4.3. Solubilidad

La solubilidad en agua de la PC se define como el porcentaje de materia seca solubilizada en agua después de 24 h de inmersión. El peso de materia seca inicial de las muestras se determinó colocando las PC en un desecador a 25 °C durante

24 h. Luego, cada PC se pesó y se colocaron en tubos Falcon junto con 50 mL de agua destilada en cada tubo. Después se colocaron en una incubadora con agitador orbital a 25 °C y se agitaron durante 24 ha 180 rpm. Posteriormente las PC se filtraron con papel filtro de 90 mm, se secaron a 60 °C por 24 h (Vahedikia et al., 2019).

La solubilidad de la película (%) se calculó usando la ecuación (1):

$$\text{Solubilidad (\%)} = \frac{(\text{Peso seco inicial de la PC (g)} - \text{Peso seco final de la PC(g)})}{\text{Peso seco inicial de la PC (g)}} \times 100 \quad (1)$$

#### 5.2.4.4. Color y opacidad

Se utilizó un colorímetro portátil modelo SP62 Lovibond (Florida, EUA) para evaluar los parámetros L\* (luminosidad, blanco- negro), a\* (verde-rojo) y b\* (amarillo-azul). El equipo se calibró en fondo blanco y fondo negro antes de realizar las mediciones. Se tomó la medición de 10 puntos por cada película.

Para obtener el valor de opacidad de las PC se evaluó el parámetro L\* tanto en un fondo blanco como en un fondo negro. Se realizaron cinco mediciones por cada película y se utilizó la siguiente ecuación (2) (Cecchini et al., 2017).

$$\text{Opacidad} = \frac{L^*(\text{Fondo negro})}{L^*(\text{Fondo blanco})} \times 100 \quad (2)$$

#### 5.2.5. Propiedades mecánicas

La resistencia a la tensión (TS), porcentaje de elongación (EF), y el módulo de Young (EM), se midieron usando un equipo Instron Universal modelo 5543A Instron (MA, EUA). Se elaboraron PC y se cortaron tiras de 10 mm de ancho x 50 mm de largo, estas tiras se equilibraron durante 2 h a 50 % de humedad relativa y 23 °C antes de realizar cada medición.

Para la resistencia a la tensión cada tira de película se colocó entre las sujetadores del equipo Instron, la separación inicial de agarre se programó a 90 mm y las tiras se estiraron a una velocidad de 30 mm/min hasta la ruptura de la muestra

(Giosafatto et al., 2014; Porta et al., 2016). La TS se expresó en MPa y se calculó a partir de la relación entre la fuerza máxima ejercida sobre la película durante la fractura y el área de la sección transversal. En cuanto al EF se determinó dividiendo la extensión en el momento de la rotura por la longitud inicial del medidor de las muestras y multiplicándola por 100. Por último, el módulo elástico (ME) se determinó con el valor de la pendiente de los datos iniciales (zona lineal) de la curva esfuerzo-deformación (Di pierro et al., 2006).

#### 5.2.6. Microestructura de las PC

Las PC fueron recubiertas con una capa fina de oro (EM-ACE200, Leica, Wetzlar, Alemania) y se analizaron en un microscopio electrónico de barrido (SEM) EVO-50, Carl Zeiss UltraPlus (Oberkochen, Alemania) para poder visualizar su microestructura superficial (Arredondo et al., 2016). Se sometieron a SEM las cuatro muestras de películas con mejores propiedades y se tomaron cuatro micrografías de diferentes secciones de la superficie tomando micrografías a 10,000, 5,000, 2,500 y 1,000 aumentos.

#### 5.2.7. Elaboración de los totopos

La elaboración de los totopos se llevó a cabo según lo descrito por Salazar et al., (2014). Se hidrató 0.5 kg de harina de maíz nixtamalizada, suficiente para tener una masa con consistencia apropiada para elaboración de tortillas. Después se formaron discos delgados (11 cm de diámetro y 1.0 mm de grosor) utilizando una máquina de tortillas modelo 311262 CINSA (Coah, México). Luego se cocinaron en un comal metálico por ambos lados durante 15 s a  $270 \pm 10$  °C. Las tortillas resultantes se cortaron en cuatro trozos triangulares (Figura 10).



Figura 10. Proceso de elaboración de los totopos de maíz azul

#### 5.2.8. Aplicación del recubrimiento

Se seleccionaron los cuatro mejores tratamientos de los descritos anteriormente, para ser aplicado en los totopos y evaluar su efecto durante dos procesos de cocción. Se seleccionó un grupo de totopos al cual no se le aplicó ningún RC (control) y un segundo grupo al cual se le aplicó el RC seleccionado. Ambos grupos se sometieron a dos tipos de cocción: freído y horneado. Las variables respuesta fueron contenido de acrilamida, contenido de aceite, contenido de humedad, textura, color, capacidad antioxidante, contenido de fitoquímicos. Se realizó la aplicación de las soluciones filmogénicas por el método de inmersión. Después se colocaron en una rejilla para eliminar el exceso del RC. Luego, se procedió a secar el RC de los totopos recubiertos, así como los totopos control para dar un tratamiento por igual a todos los totopos en un horno de secado a 40 °C por 2 h para disminuir la humedad superficial. Los totopos se sometieron al método de cocción correspondiente.

#### 5.2.9. Freído de los totopos

El proceso de freído de los totopos se realizó en una freidora de inmersión Hamilton beach (mod.35034, VA, EUA) temperatura controlada de 180 °C por 30 s, usando aceite comercial de girasol (CRISTAL®). En estudios preliminares Salazar et al. (2014) determinaron que el tiempo óptimo de freído de totopos es de 30 s. El

aceite utilizado para freír se reemplazó con aceite nuevo para los tratamientos replicados.

#### 5.2.10. Horneado de los totopos

Los totopos se hornearon en un horno eléctrico Black and Decker (Mod. TO3265XSS-LA, MD, EUA), Las temperatura y tiempo de cocción utilizadas fueron 210 °C por 10 min después se colocaron sobre una rejilla para enfriar a temperatura ambiente (Kayacier & Singh, 2001).

#### 5.2.11. Determinación de la fuerza de fractura

La fuerza de fractura de los totopos se realizó en un analizador de textura de frutas (mod.GS25, Quebec, Canadá). La evaluación se llevó a cabo en las muestras recién elaboradas. Se utilizó una sonda de acero inoxidable de 2.03 mm de diámetro y 8 cm de largo con una plataforma de base cilíndrica. La sonda se colocó a una distancia de 6 mm de la muestra y se ajustó a una velocidad de 10 mm/s hasta que la muestra alcanzó su punto de ruptura (Salazar et al. 2014).

#### 5.2.12. Determinación de color

Los valores de color de los totopos fueron evaluados utilizando un espectrofotómetro portátil HunterLab MiniScan (EZ 4500L, Virginia, EUA) obteniendo los valores CIE de L\*, a\* y b\*. El equipo se calibró antes de su uso. Posteriormente se realizaron seis mediciones alrededor del centro del totopo para compensar variaciones de la pigmentación superficial. El maíz azul debe su color a la alta concentración de antocianinas en su composición. Por lo tanto, que se decidió aplicar los diferentes RC con pH distinto (3, 4 y 5) con el fin de evaluar el efecto que tenía en cuanto al color.

#### 5.2.13. Determinación del contenido de humedad

El contenido de humedad de los totopos fritos y horneados se determinó de acuerdo con el método de la termobalanza según la NMX-F-428-1982. La medición se realizó después de haber aplicado y secado el recubrimiento sobre los totopos y después de someterse al método de cocción correspondiente (horneado o freído) la

determinación se realizó tanto en los totopos recubiertos como en los totopos control para cuantificar los porcentajes de contenido de humedad, pérdida de humedad durante la cocción, y la retención de la misma. Los cálculos se realizaron con las ecuaciones (3) a (5):

$$\text{Contenido de humedad (\%)} = \frac{\text{Peso húmedo (g)} - \text{Peso seco (g)}}{\text{Peso húmedo (g)}} \times 100 \quad (3)$$

$$\text{Pérdida de agua durante el freído (\%)} = \frac{\text{Agua inicial} - \text{Agua después del freído}}{\text{Agua inicial}} \times 100 \quad (4)$$

$$\text{Retención de agua (\%)} = \left( \frac{\text{Contenido del alimento recubierto}}{\text{Contenido del alimento antes de recubrir}} - 1 \right) \times 100 \quad (5)$$

#### 5.2.14. Determinación del contenido de lípidos

Después de freír y enfriar los totopos se le determinó el contenido de aceite. Cada una de las muestras fue molida con un mortero de cerámica. Se pesó 1 g de muestra. Se realizó por extracción con solvente n-hexano utilizando el método Soxhlet (AOAC, 1990). El resultado se reporta como el porcentaje en peso de materia seca y porcentaje de reducción de aceite debida al RC. La determinación se realizó por triplicado. Para realizar los cálculos se utilizó la ecuación (6):

$$\text{Reducción de aceite (\%)} = \frac{\text{Contenido de aceite (TC)} - \text{Contenido de aceite (TR)}}{\text{Contenido de aceite (TC)}} \times 100 \quad (6)$$

Donde:

TC = Totopo control

TR = Totopo recubierto

## 5.2.15. Determinación del contenido de acrilamida en totopos

### 5.2.15.1. Extracción de acrilamida de totopos

Se pesaron 50 g de totopos fritos después del enfriamiento. Posteriormente se trituraron con un mortero. Para el proceso de extracción se utilizaron dos tubos Falcon diferentes para cada muestra, uno para detectar la acrilamida formada en la propia muestra y el segundo para llevar a cabo la "prueba de recuperación". En ambos tubos, se colocaron 2.0 g (peso seco) de la muestra y solo en el segundo se añadieron 500 µg/g de acrilamida. Adicionalmente se colocaron en cada tubo, 10 mL de ácido fórmico al 0.1 % (v/v). Las muestras se incubaron en un agitador orbital Thermo Scientific (Mod. MaxQ 6000, MA, EUA) durante 45 min a 25 °C y 180 rpm, luego se procedió a centrifugar a 9,000 x g durante 30 min a 4 °C. El sobrenadante se filtró a través de una jeringa con una unidad de filtración Millex-HV; 0.45 µm, PVDF, 33 mm. Todos los extractos se mantuvieron en viales de vidrio aislados de la luz a 4 °C antes del análisis.

### 5.2.15.2. Análisis de acrilamida

El análisis de acrilamida se realizó por HPLC utilizando el método de fase inversa. Se utilizó un equipo de Agilent Serie Infinity 1260 (CA, EUA) equipado con un desgasificador en línea y un detector de arreglo de diodos. La columna fue una C18 ODS spheri-5 (220 nm x 4.6 mm, Supelco), un detector de UV/visible (Water 2487) que fue ajustado a una longitud de onda de 195 nm, un sistema de bombeo cuaternario de solventes con controlador (Water 600) y software (Empower Windows XP Professional, Water) para la adquisición y análisis de datos. Para obtener la curva de calibración se prepararon diferentes diluciones de acrilamida pura (1, 2, 3, 4 y 5 mg/L). El volumen de inyección fue de 10 µL, la fase móvil (isocrática) utilizada fue agua con 0.1 % de ácido fórmico, con una velocidad de flujo de 1 mL/min. El método se llevó a cabo a temperatura ambiente. El tiempo de retención fue de aproximadamente 1.7 min. Con estos valores se calculó la concentración de acrilamida (AA) para cada una de las muestras. Los resultados fueron expresados como µg AA/kg de muestra (Sánchez-Otero et al., 2017; Al-Asmar et al., 2018).

#### 5.2.16. Análisis estadístico

Los análisis de la caracterización de las soluciones filmogénicas y la evaluación del RC se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como la media  $\pm$  desviación estándar. Los resultados de la caracterización de los RC se analizaron por comparación de medias mediante la prueba de Tukey. Mientras que los resultados de la evaluación de la aplicación del RC se analizaron por comparación con un control mediante la prueba de Dunnett.

Todos los análisis se realizaron utilizando el paquete estadístico JMP® versión 11.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

## 6. RESULTADOS

### 6.1. Extracción de proteína de quinua

De acuerdo con la cuantificación del contenido de proteína extraída de las semillas de quinua mediante el método Kjeldahl (AOAC, 1984) se obtuvo 71.8 % de proteína total en el extracto final en base seca. Estudios de Abugoch et al. (2008), sobre la proteína de quinua aseguraron que las principales proteínas que conforman las semillas de quinua son 37 % de globulinas llamadas quenoproteínas con una masa molecular entre 20-25 y 30-40 kDa; mientras que un 35 % son albúminas de quinua con una masa molecular menor a 20 kDa, y un 0.5-7.0 % de prolaminas. Las proteínas tienen un papel clave en relación a las propiedades estructurales y funcionales de la quinua, como la solubilidad, la formación de una estructura de gel, propiedades emulsionantes, espumantes y pueden impartir propiedades diferentes a las PC (Abugoch et al., 2008; Elsohaimy et al., 2015).

### 6.2. Obtención de las películas comestibles (PC)

Se obtuvieron ocho PC a partir del diseño experimental con tres factores y sus dos niveles correspondientes de acuerdo al apartado 5.2.1 las cuales se pueden observar en la Figura 11. Posteriormente, se caracterizaron y determinaron los mejores tratamientos para ser aplicados sobre los totopos de maíz. Se probaron dos concentraciones de proteína de quinua (QT:PQ) 1:10 y 1:5, esto con base en lo reportado por Oliver (2018) para PC's basadas en PQ-QT y cera de abeja.

Los plastificantes se utilizan para la formación de una PC fácilmente desmoldable con una buena resistencia mecánica, propiedades de barrera, estabilidad térmica y microestructura uniforme (Fakhouri et al., 2013). La concentración de 80% (p/p) de sorbitol como plastificante se seleccionó después de realizar una prueba preliminar en la cual se probaron diferentes concentraciones de sorbitol (60 %, 70 %, 80 % y 90 % p/p) respecto al contenido de PQ de cada PC. Las concentraciones 60 % y 70 % no formaron PC ya que estas presentaron fracturas por lo cual no lograron desmoldarse. La concentración de 90 % de sorbitol resultó ser elevada lo cual dificultaba el manejo adecuado de la PC debido a su textura pegajosa. Mientras que las PC con una concentración de 80 % de sorbitol

relativo a la concentración de PQ, resultaron compactas, flexibles y no presentaban defectos físicos al ser manipuladas.

Para mejorar o desarrollar nuevas características de los RC y PC basados en proteínas se puede modificar su estructura mediante la reticulación enzimática (Sabbah et al., 2019). Es por lo anterior que la adición de la TG se realizó con el fin de cambiar las interacciones proteína-proteína, Fernández-Bats et al. (2018) y Giosafatto et al. (2018), han reportado la reticulación con TG como un método viable para mejorar la resistencia mecánica y las propiedades de barrera de las PC elaboradas a base de proteínas.

De las ocho PC obtenidas, los tratamientos QT-PQ 1:10 (90 % desacetilación de QT) y QT-PQ 1:10 (90 % desacetilación de QT) TG, se descartaron debido a que las PC resultaron ser quebradizas y frágiles y aunque lograron desmoldarse, su manipulación fue difícil lo que hizo imposible su toda su caracterización (Figura 11).

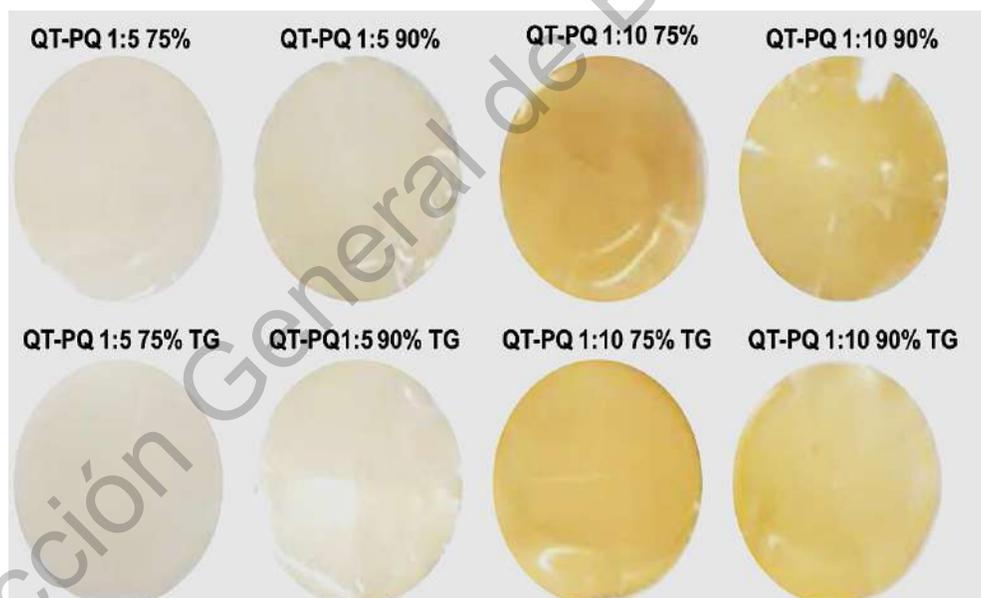


Figura 11. Películas comestibles obtenidas de acuerdo al diseño experimental. Los valores 75% y 90% indican el porcentaje de desacetilación del quitosano. TG indica la incorporación de la enzima transglutaminasa

### 6.3. Determinación de las propiedades de los RC

#### 6.3.1. Potencial $\zeta$ , tamaño de partícula e índice de polidispersión

En la Tabla (5) se muestran los resultados de tamaño de partícula, potencial  $\zeta$  e índice de polidispersión de las seis suspensiones filmogénicas (SF). Los valores más altos de potencial  $\zeta$  los obtuvieron las SF elaboradas con una proporción de QT-PQ 1:5 75 % y QT-PQ 1:5 75 % TG con un valor medio  $18.35 \pm 0.76$  mV y  $17.85 \pm 0.91$  mV, respectivamente. Mientras que las SF elaboradas con la mezcla de QT-PQ 1:10 mostraron valores promedio más bajos entre 14-16 mV.

De acuerdo al análisis estadístico las SF QT-PQ 1:5 75 % tratadas y no con TG no mostraron diferencia significativa en el potencial  $\zeta$ , el mismo comportamiento se observa entre los tratamientos QT-PQ 1:5 90 % y QT-PQ 1:5 90 % TG. Por el contrario, en las SF 1:10 QT-PQ reticuladas con TG la adición de la enzima redujo el potencial  $\zeta$  en un 12% en comparación con la SF 1:10 QT-PQ con ausencia de la enzima. El potencial  $\zeta$  se utiliza para evaluar las interacciones de los biopolímeros en solución o suspensión. La carga de micropartículas es uno de los principales factores que determinan la estabilidad física tanto de las emulsiones como de las suspensiones y se puede cuantificar midiendo potencial  $\zeta$ . Generalmente, cuando el valor absoluto del potencial  $\zeta$  es superior a 25 mV, las partículas se repelen entre sí y en consecuencia la suspensión se mantiene estable. Por el contrario, si el valor está entre -10 mV y 10 mV, la suspensión es altamente inestable y aumenta la tendencia a flocular o precipitar y las propiedades físicas hacen difícil adaptar la SF a aplicaciones específicas. Sin embargo, el potencial  $\zeta$  es una característica de la partícula en su entorno y no de la partícula en sí (Sabbah et al., 2016). Por lo tanto, podemos indicar que los tratamientos QT-PQ 1:5 75 % y QT-PQ 1:5 75 % TG presentaron una mayor estabilidad.

Tabla 5. Potencial  $\zeta$ , tamaño de partícula e índice de polidispersión de las suspensiones filmogénicas.

Tratamiento			Tamaño de partícula ( $\mu\text{m}$ )	Potencial $\zeta$ (mV)	Índice de polidispersión (IP)
Relación QT-PQ	% DA	TG			
1:5	75	+	$1.97 \pm 0.10^c$	$17.85 \pm 0.91^a$	$0.47 \pm 0.06^a$
1.5	75	-	$2.41 \pm 0.51^c$	$18.35 \pm 0.76^a$	$0.59 \pm 0.51^a$
1:5	90	+	$6.48 \pm 0.53^b$	$15.53 \pm 0.70^{bc}$	$0.70 \pm 0.91^a$
1:5	90	-	$6.85 \pm 1.47^b$	$15.47 \pm 0.63^{bc}$	$0.39 \pm 0.10^a$
1:10	75	+	$8.70 \pm 0.45^a$	$16.33 \pm 0.50^b$	$0.34 \pm 0.09^a$
1:10	75	-	$6.38 \pm 0.09^b$	$14.43 \pm 0.89^c$	$0.32 \pm 0.19^a$

QT-PQ: Quitosano-Proteína de quinua; % DA: Porcentaje de des-acetilación del quitosano; TG: Transglutaminasa. Los resultados se reportan como la media  $\pm$  la desviación estándar (n=3). Letras iguales indican que no existe diferencia significativa por la prueba Tukey ( $\alpha=0.05$ )

El tamaño de partícula se reporta como el valor promedio de todas las partículas presentes en la suspensión. Las SF con proporción de 1:5 QT-PQ 75 % con ausencia y presencia de TG mostraron los tamaños de partícula menores, formando una PC más homogénea y translúcida con mejores propiedades macroscópicas. Por el contrario, en los tratamientos QT-PQ 1:5 90 % aumentó significativamente el tamaño de partícula al igual que los tratamientos con 1:10 QT-PQ 75 %. Esto podría atribuirse a la compleja estructura macromolecular de la PQ, caracterizada por un sistema de composición química heterogénea con una amplia distribución de peso molecular (Cecchini et al., 2017). El tamaño de las partículas de las emulsiones influye en las propiedades ópticas, reológicas y la estabilidad (Sánchez-Ortega et al., 2016). Cuanto más pequeño sea el tamaño de partícula se producirá una emulsión más clara o ligeramente turbia, por el contrario, mientras más grande sea el tamaño de partícula de las suspensiones serán turbias u opacas con baja estabilidad y tendencia a romperse (McClements & Rao, 2011).

De acuerdo con el análisis estadístico no hubo una diferencia significativa entre los diferentes tratamientos ya que todas las SF mostraron un comportamiento polidisperso esto debido a la diferencia de tamaño de partícula de los diferentes

componentes de las SF. El índice de polidispersión (IP) representa la variación relativa en la distribución de tamaños de partículas dentro de una suspensión, es un valor entre 0 y 1 (Porta et al., 2016). Cuando el valor se aproxima más a 0 se habla de una suspensión monodispersa, es decir, con una distribución de tamaños más uniforme. Mientras que si el valor es más próximo a 1 se trata de una suspensión polidispersa.

### 6.3.2. Espesor

De acuerdo con los resultados de los promedios del espesor (Figura 12), las PC de QT-PQ 1:5 se encuentran en un rango de espesor entre 80 - 83  $\mu\text{m}$  y las PC de QT-PQ 1:10 oscilan entre 140 - 152  $\mu\text{m}$ . El análisis estadístico mostró una diferencia significativa entre las dos concentraciones de proteína (1:5 y 1:10, QT-PQ). Sin embargo, no se mostró una interacción significativa entre las PC con relación 1:5 (QT-PQ) con los dos tipos de quitosano (75 % y 90 % DA). Se puede observar una relación entre el espesor de la PC y el contenido de PQ. Cuanto mayor es el porcentaje de PQ añadida mayor es el espesor de la PC, esto debido a que la PQ aumenta la cantidad de sólidos en la SF formando una PC más gruesa una vez que la solución se seca. Las PC con presencia de TG no mostraron diferencia significativa respecto a aquellas sin TG. Los resultados de las PC obtenidas con una relación QT-PQ 1:5 75 % son significativamente menores con los reportados por Abugoch et al., (2011), quienes obtuvieron valores alrededor de 142  $\mu\text{m}$  de espesor para PC a base de 1:4 QT-PQ, mientras que las PC con una relación QT-PQ 1:10 75 % se mantuvieron dentro de ese mismo rango. El espesor de la PC depende de la naturaleza y contenido de los polímeros que la conforman (Di Pierro et al., 2006; Sebti et al., 2007). El control del espesor es importante ya que permite obtener películas más uniformes, además de brindar información importante para el análisis de resistencias mecánicas y la variación de las propiedades de barrera (Park et al., 2014).

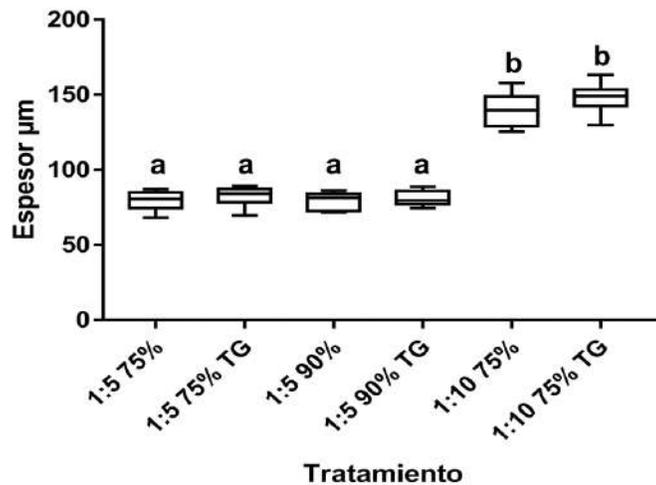


Figura 12. Espesor de las PC.

QT-PQ: Quitosano-Proteína de quinua; %: Porcentaje de DA del quitosano; TG: Transglutaminasa. Se muestran las medias  $\pm$  la desviación estándar (n=10). Letras iguales indican que no existe diferencia significativa por la prueba Tukey ( $\alpha=0.05$ ).

### 6.3.3. Solubilidad

Como se puede ver en la Figura 13, las películas con proporción 1:5 QT-PQ (75 % y 90 % DA) mostraron valores de solubilidad que oscilaban entre el 64 % y 67 % lo que representa una solubilidad parcial y mantuvieron su integridad durante la inmersión, lo que indica una estabilidad intermedia en la red interna de la película. Se observó que cuando aumentaba la concentración de PQ en las PC la solubilidad disminuía ligeramente. Referente a las PC 1:10 QT-PQ 75 % DA obtuvieron una solubilidad de 51.80 %; la TG contribuyó a una mayor solubilidad en la PC 1:10 QT-PQ 75 % DA (61.39 %) en comparación con la que no fue tratada con la enzima. Este comportamiento puede atribuirse a que las PC se disolvieron en agua destilada con un valor de pH de aproximadamente 7, lo cual favorece la solubilidad de la PQ. Debido a la baja solubilidad a pH ácido (alrededor de 5 % a pH 4.6), ya que está cerca de su punto isoeléctrico 4.5 (Elsohaimy et al., 2015); mientras que a pH >5, la solubilidad de la PQ aumenta significativamente, donde sus albúminas (solubilidad máxima del 90 % a pH 11.0) son más solubles que sus globulinas (solubilidad máxima alrededor del 50 % a pH 11). Además, se observó una solubilidad máxima

(aproximadamente 100 %) a valores de pH = 10, lo cual concuerda con el reporte de Alshaimy et al. (2007).

La solubilidad en agua es una propiedad importante que debe tenerse en cuenta en la caracterización de la película; ya que determina en primer lugar si la aplicación de la PC sobre un alimento en específico será adecuada. Dependiendo de la aplicación, en algunos casos, puede requerir insolubilidad en agua para mantener la integridad del producto, y en otros casos puede ser necesaria la solubilidad total de la PC (Cecchini et al., 2017). La solubilidad involucra la penetración de las moléculas de agua en la matriz polimérica, esto es seguido por la disrupción de las fuerzas de Van der Waals entre las cadenas poliméricas (Turhan & Sahbaz, 2004).

En cuanto al QT existen diversos factores que pueden afectar sus propiedades como: la fuente de quitina, la temperatura y el porcentaje de desacetilación. El quitosano se disuelve fácilmente en soluciones ácidas diluidas, es decir, cuando sus grupos amino libres están completamente protonados. Su solubilidad disminuye a medida que el pH de la solución acuosa se eleva por encima del pH 6.5, es decir, más alto que el valor pKa del quitosano (pKa= 6.3) (Guillén et al., 2010; Zareie et al., 2020).

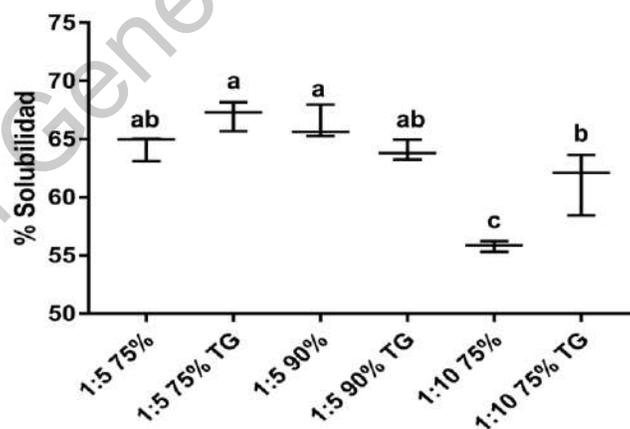


Figura 13. Porcentaje de solubilidad de las películas comestibles.

QT-PQ: Quitosano-Proteína de quinua; %: Porcentaje de DA del quitosano; TG: Transglutaminasa. Se muestran las medias  $\pm$  la desviación estándar (n=3). Letras iguales indican que no existe diferencia significativa usando la prueba Tukey ( $\alpha=0.05$ ).

#### 6.3.4. Color y opacidad

La determinación de color se obtuvo mediante la escala de color CIE  $L^* a^* b^*$ . Donde el valor  $L^*$  indica la luminosidad, que es el atributo de la sensación visual según la cual una superficie emite más o menos luz. Las coordenadas cromáticas  $a^*$  indica las coordenadas rojo-verde (+a indica rojo, -a indica verde) y  $b^*$  coordenadas amarillo-azul (+b indica amarillo, -b indica azul) como se indica en la Figura (14).

Como se muestra en la Tabla 6, los índices de color de las PC cambiaron significativamente en función de la concentración de PQ. Las PC 1:5 75 % QT-PQ mostraron valores mayores de luminosidad y este parámetro se refiere a la cantidad de luz emitida o reflejada por un objeto. De igual forma los valores  $a^*$  y  $b^*$  también fueron más bajos en comparación con las PC con mayor concentración de PQ. En cuanto las PC 1:10 QT-PQ hubo una disminución significativa en la claridad o luminosidad ( $L^*$ ). Conforme aumentaba la cantidad de proteína que contenían las PC, el valor de  $a^*$  y  $b^*$  aumentaba lo que se traduce en un incremento del color amarillo, mientras que la luminosidad ( $L^*$ ) disminuyó. La reducción de la luminosidad, así como el aumento de la tonalidad amarilla se puede atribuir a la mayor concentración de sólidos dentro de las PC ya que estos bloquean el paso de la luz a través de la película. Respecto al color amarillo esto es atribuido a la naturaleza del color de la PQ. Estos datos concuerdan con lo reportado por diversos autores como Velickova et al. (2013), quienes elaboraron PC de quitosano y cera de abeja para su aplicación en fresas frescas y obtuvieron PC con una luminosidad mayor conforme incrementaba la cantidad de componentes en la PC. Por otro lado, Zareie et al. (2020), formularon PC con QT y proteína de soya que mostraron índices de color distintos en función de la cantidad de proteína, y las PC formuladas tuvieron una tendencia al color amarillo. El color exacto de las PC de acuerdo con el espacio de color CIE  $L^* a^* b^*$  se puede observar en la Figura (15).

Las propiedades ópticas de las PC también son importantes para la aceptabilidad del producto por parte del consumidor. Además, es menos probable que las películas transparentes cambien la apariencia del alimento (Velickova et al., 2013).

La opacidad depende del grado de luz que atraviesa un material. Cuando la luz es bloqueada en gran parte, se dice que el material es opaco. Si el caudal de luz que pasa es bastante amplio, el material será calificado como traslúcido, y si la luz atraviesa el material en su totalidad, estamos ante un material transparente. En los datos de la opacidad se puede observar que las PC formuladas 1:5 QT-PQ presentaron un porcentaje más bajo de opacidad, entre el 42 % - 44 %. Se encontró diferencia significativa con las PC 1:10 QT-PQ ya que el porcentaje de opacidad osciló entre 46 % - 48 % (Tabla 6). La presencia de TG incrementó ligeramente el porcentaje de opacidad en las PC.

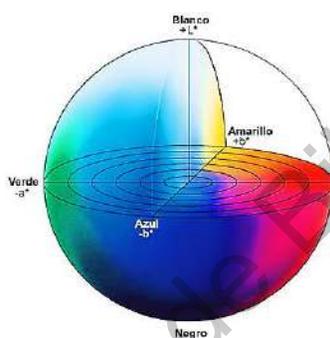


Figura 14: Espacio de color CIE L\* a\* y b\*

Tabla 6. Parámetros de color L\* a\* y b\* y porcentaje (%) de opacidad de las películas comestibles.

Muestra	Color			% Opacidad
	L*	a*	b*	
Q-PQ 1:5 75%	84.73 ± 0.18 <sup>a</sup>	-0.54 ± 0.18 <sup>e</sup>	19.80 ± 1.63 <sup>cd</sup>	43.62 ± 0.43 <sup>b</sup>
Q-PQ 1:5 75% TG	84.97 ± 0.17 <sup>a</sup>	-0.47 ± 0.15 <sup>de</sup>	18.56 ± 0.56 <sup>d</sup>	42.43 ± 1.09 <sup>b</sup>
Q-PQ 1:5 90%	83.97 ± 1.6 <sup>a</sup>	-0.18 ± 0.35 <sup>cd</sup>	20.06 ± 2.88 <sup>cd</sup>	43.61 ± 0.58 <sup>b</sup>
Q-PQ 1:5 90% TG	82.78 ± 1.32 <sup>b</sup>	0.08 ± 0.45 <sup>c</sup>	21.86 ± 2.83 <sup>c</sup>	44.58 ± 1.09 <sup>b</sup>
Q-PQ 1:10 75%	80.22 ± 0.11 <sup>c</sup>	1.00 ± 0.01 <sup>a</sup>	27.92 ± 0.14 <sup>a</sup>	47.46 ± 1.14 <sup>a</sup>
Q-PQ 1:10 75% TG	80.67 ± 1.07 <sup>b</sup>	0.99 ± 0.43 <sup>b</sup>	27.85 ± 1.87 <sup>b</sup>	48.18 ± 1.01 <sup>a</sup>

QT-PQ: Quitosano-Proteína de quinua; %: Porcentaje de desacetilación del quitosano; TG: transglutaminasa. Los resultados se reportan como la media ± la desviación estándar (n=3). Letras iguales indican que no existe diferencia significativa por la prueba Tukey ( $\alpha=0.05$ ).



Figura 15. Color de las PC de acuerdo al espacio de color CIE  $L^* a^* y b^*$ . Los valores de 75% y 90% indican el porcentaje de desacetilación del QT, mientras que TG indica la incorporación de transglutaminasa.

#### 6.3.5. Propiedades mecánicas

Los valores medios de las PC de QT-PQ reticuladas o no por TG, se muestran en la Tabla 7. A partir del análisis de las propiedades mecánicas se comprobó que los 6 tratamientos dieron como resultado películas con diferentes propiedades. Los valores de resistencia a la tensión (RT) oscilaron entre 0.90 – 1.10 MPa, el análisis estadístico no reveló diferencia significativa en la mayoría de los tratamientos. Durante la formación de la película de QT tiene lugar la formación de puentes de hidrógeno y cuando la PQ se mezcla con QT, se establecen diferentes interacciones moleculares tales como interacciones iónicas e hidrófobas. Además, las proteínas pueden interactuar a través de enlaces disulfuro cuando se desnaturalizan (Mauri & Añón, 2008).

La PC 1:5 QT-PQ 75 % DA, resultó tener el porcentaje de elongación (% E) más alto de todas las PC con un 111.99 % lo que significa que la PC puede estirarse dos veces su tamaño en comparación con los demás tratamientos que solo pueden elongarse aproximadamente una tercera parte de su tamaño (30-37% aprox.). El análisis estadístico no mostró diferencia significativa entre estos tratamientos.

Se observó una diferencia significativa en los valores del módulo de Young (MY) de todas las PC siendo la reticulación de las películas con TG lo que produjo una PC considerablemente más rígida. Para las PC 1:5 QT-PQ 75 % DA TG el valor de MY fue de 25.00 MPa el doble del valor obtenido para la misma PC sin presencia

de la enzima (9.12 MPa), Mientras que en las PC 1:10 QT-QP 75 % DA su valor fue de 18.34 MPa y para las PC reticuladas con TG un valor de 32.18 MPa. Porta et al. (2016), elaboraron PC de proteína de arveja, pectina y transglutaminasa y reportaron que un aumento de la rigidez de la película está determinado por las reticulaciones de la proteína catalizada por TG.

La resistencia a la tensión (RT) es el parámetro que proporciona la máxima resistencia que puede soportar un material sometido a una carga de estiramiento sin romperse, y se expresa en MPa. Por otro lado, el % E es la capacidad que tiene un material de alargamiento para romperse, es un indicador de capacidad de elongación de los materiales antes de llegar a la ruptura. El módulo de Young (MY) determina la rigidez de un material, la cual define la capacidad de resistencia a la deformación. Cuanto más se incrementa el valor de MY mayor será la rigidez de la PC, mientras que valores bajos de este parámetro indican un material elástico. El diseño adecuado de PC depende en gran medida de sus favorables propiedades mecánicas. Es importante conocer estos parámetros ya que son indicadores de la flexibilidad y resistencia de las PC (Giosafatto et al., 2014).

Cabe destacar que debido a que las PC formadas con una proporción de QT-PQ 1:5 90 % y QT-PQ 1:5 90 % TG mostraron los valores de potencial  $\zeta$  más bajos y no se logró evaluar sus propiedades mecánicas debido a su estructura frágil y quebradiza. Por lo tanto, se decidió continuar únicamente con las PC formuladas con quitosano de 75 % DA para ser aplicados y evaluados sobre los totopos de maíz azul.

Tabla 7: Propiedades mecánicas de las películas comestibles.

<b>Tratamiento</b>	<b>Resistencia a la tensión (MPa)</b>	<b>Elongación (%)</b>	<b>Módulo de Young (Mpa)</b>
QT-PQ 1:5 75%	1.06 ± 0.11 <sup>b</sup>	111.99 ± 17.96 <sup>a</sup>	9.12 ± 2.45 <sup>d</sup>
QT-PQ 1:5 75% TG	1.03 ± 0.15 <sup>b</sup>	31.22 ± 9.39 <sup>b</sup>	25.00 ± 6.03 <sup>b</sup>
QT-PQ 1:5 90%	--	--	--
QT-PQ 1:5 90% TG	--	--	--

QTP-Q 1:10 75%	1.66 ± 0.16 <sup>a</sup>	36.70 ± 3.24 <sup>b</sup>	18.34 ± 0.90 <sup>a</sup>
QT-PQ 1:10 75% TG	0.92 ± 0.20 <sup>b</sup>	30.92 ± 8.35 <sup>b</sup>	32.18 ± 1.37 <sup>c</sup>

QT-PQ: Quitosano-Proteína de quinua; %: Porcentaje de des-acetilación del quitosano; TG: Transglutaminasa. Los resultados se reportan como la media ± la desviación estándar (n=3). Letras iguales indican que no existe diferencia significativa por la prueba Tukey ( $\alpha=0.05$ ).

### 6.3.6. Microestructura de las PC

La Figura 16 muestra las micrografías obtenidas del análisis de Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) de las cuatro películas seleccionadas, tratadas con TG y sin tratar. Como se puede ver en las Figuras 16A y 16C las PC que no fueron tratadas con TG parecen macroscópicamente más rugosas con una estructura más heterogénea. En contraste, las PC que fueron tratadas con TG (Figuras 16B y 16D) mostraron un incremento en la compactación de la estructura; por lo tanto, tiene una superficie más uniforme y lisa con zonas más continuas. La presencia de la enzima TG sugiere la existencia de enlaces peptídicos, catalizados por la enzima; esto influyó para que las PC mostraran una red de proteínas más rígida y con poros más reducidos que los poros de las PC no tratados con TG (Porta et al., 2016). Las micrografías muestran diferencias significativas en la estructura de las PC.

Estos resultados pueden ser comparados con los obtenidos por Mariniello et al. (2007); Giosafatto et al. (2014); Porta et al., (2016) y Giosafatto et al. (2018); que afirman que el tratamiento con TG confiere una estructura más compacta y homogénea en las PC.

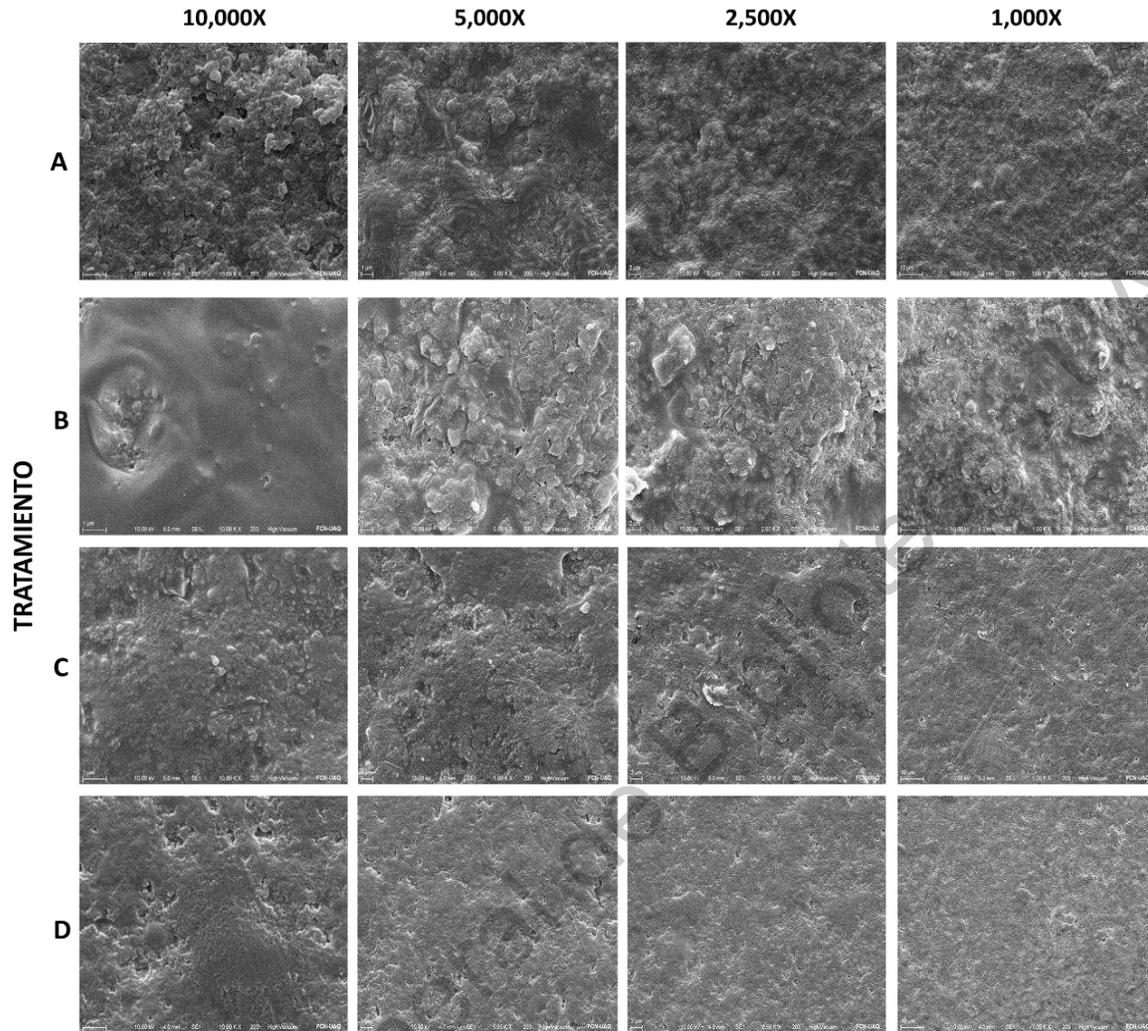


Figura 16. Microestructura de las PC 10,000x, 5,000x, 2,500x y 1,000x. A) QT-PQ 1:5 75 %; B) QT-PQ 1:5 75 % TG; C) QT-PQ 1:10 75 % y D) QT-PQ 1:10 75 % TG;

#### 6.4. Evaluación de la aplicación del RC en los totopos fritos y horneados.

##### 6.4.1. Aplicación del RC

Para realizar la evaluación del efecto de las PC sobre totopos de maíz azul utilizando dos métodos de cocción (freído y horneado) se eligieron las cuatro SF con las mejores propiedades fisicoquímicas y mecánicas: 1) QT-PQ 1:5 75 %, 2) QT-PQ 1:5 75 % TG, 3) QT-PQ 1:10 75 % y 4) QT-PQ 1:10 75 %. La aplicación del recubrimiento se realizó por el método de inmersión como se muestra en las Figuras 17 y 18A. Posteriormente se sometieron a la cocción correspondiente para cada tratamiento.

La absorción de aceite, la textura y el color son considerados los parámetros más importantes de calidad y aceptabilidad de los alimentos fritos (Salazar et al., 2014). Mientras que en los alimentos horneados los parámetros de interés son la textura, el color y el contenido de humedad (Agrahar-Murugkar et al., 2018). Después de ser aplicados los RC (Figura 17), todos los totopos control y recubiertos se caracterizaron y se evaluaron los parámetros de calidad como: color y fuerza de fractura, así como humedad y absorción de aceite en el caso de los totopos fritos. Finalmente, para ambos tipos de cocción se cuantificó el contenido de acrilamida.

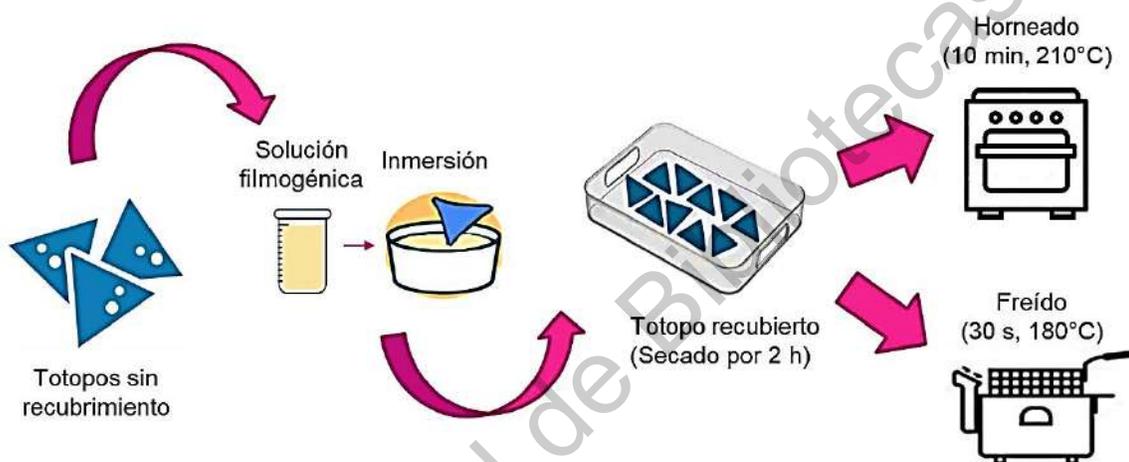


Figura 17. Aplicación de los recubrimientos comestibles sobre los totopos de maíz azul por el método de inmersión.

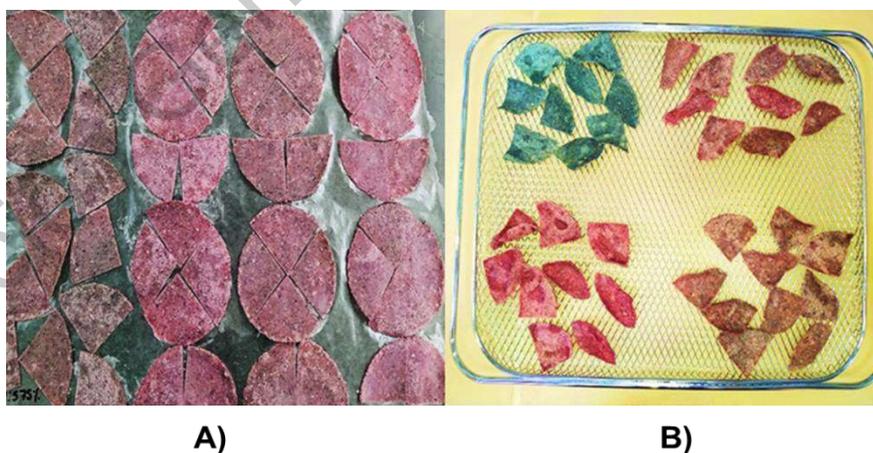


Figura 18. Totopos de maíz azul. A) Totopos recubiertos antes del secado del RC. B) Totopos recubiertos después del secado del RC.

#### 6.4.2. Determinación de la fuerza de fractura

El freído modifica el perfil de textura de los productos, lo cual se puede evaluar observando los datos de la fuerza de fractura de los alimentos fritos (Figura 19), en donde los resultados están en un rango de 6.0 – 12.0 N. De acuerdo con el análisis estadístico se observó una diferencia significativa respecto al control. Los totopos horneados (Figura 20) mostraron una menor fuerza de fractura en comparación con los totopos fritos reportando valores entre 5.0 – 9.0 N lo que indica que los totopos horneados tienden a ser más quebradizos. Esto puede atribuirse a que durante el freído el aceite actúa como un medio de transferencia de calor y produce cambios físicos y químicos que contribuye a la textura y el sabor de los alimentos fritos (Choe & Min, 2007).

La evaluación de la fuerza de fractura de los alimentos se usa para medir el crujido de un producto frito (Quintero et al., 2012). La textura que se obtiene tras el proceso de fritura es consecuencia de los cambios producidos en la composición de los alimentos, principalmente en las proteínas y carbohidratos que se modifican por efecto del calor transferido al alimento, así como por la eliminación del agua del mismo. Todo ello origina la formación de una costra que proporciona el atributo característico de crujiente al alimento (Pedreschi & Moyano, 2005). La fuerza de fractura es una característica muy importante en los alimentos fritos ya que indica que tan crujiente es el producto.

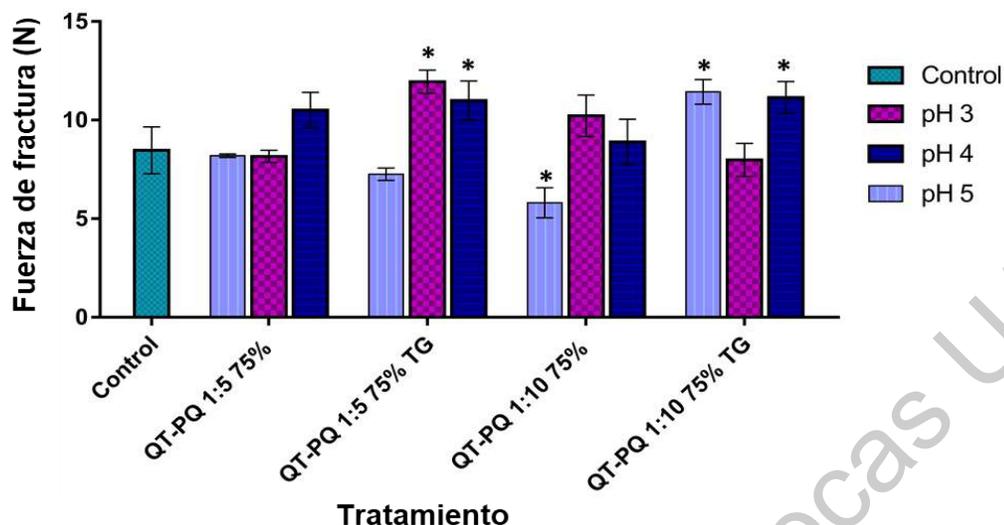


Figura 19. Totopos de maíz azul fritos recubiertos. QT-PQ: Quitosano-Proteína de quinua; %: Porcentaje de desacetilación del quitosano; TG: Transglutaminasa. Los resultados se reportan como la media  $\pm$  la desviación estándar (n=5). (\*) Indica que existe diferencia significativa respecto al control por la prueba Dunnett ( $\alpha=0.05$ ).

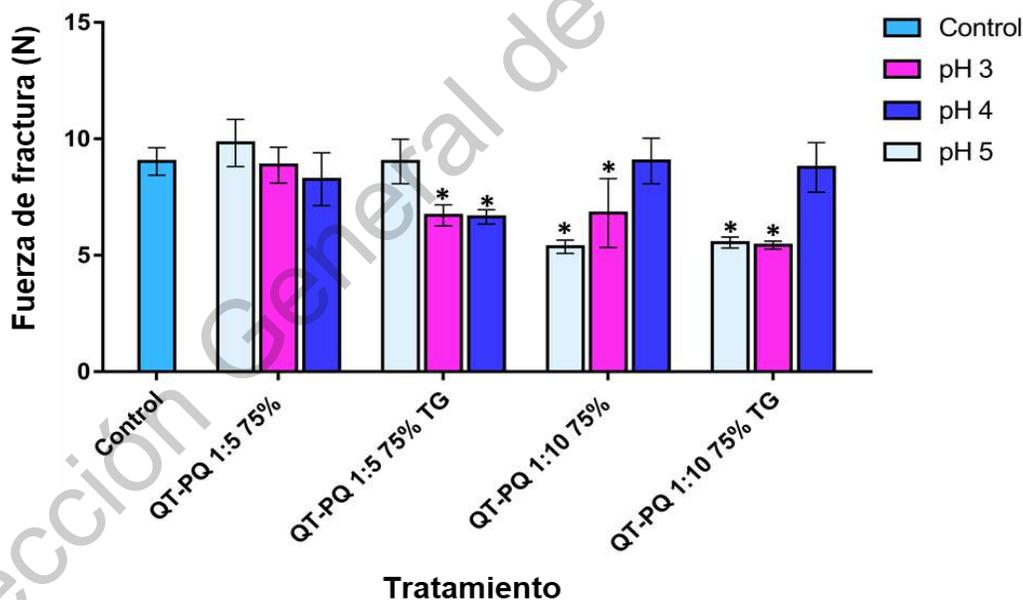


Figura 20. Totopos de maíz azul horneados recubiertos. QT-PQ: Quitosano-Proteína de quinua; %: Porcentaje de des-acetilación del quitosano; TG: Transglutaminasa. Los resultados se reportan como la media  $\pm$  la desviación estándar (n=5). (\*) Indica que existe diferencia significativa respecto al control dentro de cada pH? por la prueba Dunnett ( $\alpha=0.05$ ).

Los resultados que se obtuvieron de los totopos de maíz fritos son semejantes a los descritos por Salazar et al. (2014), quienes analizaron la influencia de la concentración de cal  $\text{Ca(OH)}_2$  del proceso de nixtamalización sobre las propiedades fisicoquímicas de las totopos de maíz. Los totopos de maíz que se elaboraron mostraron un rango de fuerza de fractura de 8.0 – 10.0 N. Por otro lado, los valores de los totopos horneados concuerdan con lo reportado por Agrahar-Murugkar et al. (2018), quienes evaluaron si la incorporación de harinas junto con el pretratamiento de cereales mediante nixtamalización generaba una alternativa saludable y de alta calidad para las botanas horneadas a base de maíz. En su evaluación determinaron la fracturabilidad de las botanas multigrano obtenidas y obtuvieron valores alrededor de 5.0 – 7.0 N.

#### 6.4.3. Determinación de color.

Todos los totopos fritos recubiertos obtuvieron valores significativamente distintos del parámetro  $L^*$ , el cual indica la luminosidad del color respecto al control, lo que significa que los totopos recubiertos mostraron una luminosidad mayor (Tabla 8). Por otro lado, en cuanto la coordenada  $a^*$ , el totopo control mostró un valor de 1.02, lo que indica totalidades grises, sin embargo, al aplicar todos los recubrimientos a pH 3, los totopos mostraron valores entre 11-14, lo que indica una tendencia a tonalidades rojizas/rosadas. Para los RC aplicados con pH 4 y 5 se observa una disminución del valor  $a^*$  y un aumento en los valores de  $b^*$  lo que indica una inclinación a tonos amarillos/azulados. Cuando mayor es el pH del RC, mayor es la semejanza con el color del totopo control; esto debido a que el pH de un totopo sin RC se encuentra entre 7.5 y 8.5 ocasionado por el proceso de nixtamalización. El mismo comportamiento se observa en los totopos horneados (Tabla 9). Sin embargo, en este caso los totopos horneados presentaron tonalidades más naranjas/café, lo cual se atribuyó a que la temperatura de cocción de los totopos horneados fue de 210 °C por un lapso de tiempo de 10 min por lo que la degradación de antocianinas es mayor en estos totopos. La degradación de estos compuestos está altamente influenciada por factores como temperatura, tiempo de cocción y pH (Gordillo et al., 2018).

Tabla 8. Parámetros de color L\*, a\* y b\* de las de los totopos de maíz azul fritos.

pH	Tratamiento	*L	*a	*b	ΔE
3	Control	32.24 ± 2.07	1.02 ± 0.31	5.11 ± 1.82	16.33
	1:5 75%	41.11 ± 0.66*	13.71 ± 0.52*	10.26 ± 1.36*	
	1:5 75% TG	42.39 ± 1.52*	14.29 ± 1.07*	11.61 ± 2.27*	
	1:10 75%	41.07 ± 1.32*	12.55 ± 1.05*	7.62 ± 0.77*	
	1:10 75% TG	40.15 ± 2.13*	11.34 ± 0.86*	10.15 ± 1.30*	
4	Control	32.24 ± 2.07	1.02 ± 0.31	5.11 ± 1.82	12.62
	1:5 75%	40.93 ± 1.39*	6.91 ± 0.63*	12.11 ± 1.50*	
	1:5 75% TG	40.57 ± 1.70*	8.52 ± 0.82*	11.31 ± 2.27*	
	1:10 75%	38.28 ± 1.72*	6.95 ± 1.01*	8.23 ± 0.89*	
	1:10 75% TG	39.75 ± 1.70*	9.40 ± 0.33*	9.54 ± 1.21*	
5	Control	32.24 ± 2.07	1.02 ± 0.31	5.11 ± 1.82	6.66
	1:5 75%	37.74 ± 2.48*	4.66 ± 0.49*	6.00 ± 1.37	
	1:5 75% TG	39.42 ± 1.68*	4.97 ± 0.61*	8.32 ± 2.32*	
	1:10 75%	38.08 ± 1.41*	4.80 ± 0.49*	6.78 ± 2.46	
	1:10 75% TG	36.85 ± 2.84*	5.40 ± 0.42*	9.89 ± 2.23*	

QT-PQ: Quitosano-Proteína de quinua; %: Porcentaje de des-acetilación del quitosano; TG: Transglutaminasa. Los resultados se reportan como la media ± la desviación estándar (n=12). \* Indica que existe diferencia significativa respecto al control dentro de cada pH por la prueba Dunnett ( $\alpha=0.05$ ).

El color es un atributo importante de la calidad de los totopos. El cambio de color durante la fritura es el resultado de la reacción de Maillard que depende del contenido de azúcares reductores y aminoácidos o proteínas en la superficie del totopo, la temperatura y el tiempo de cocción (Hua et al., 2015). Como se mencionó anteriormente el maíz azul debe su color a la alta concentración de antocianinas en su composición, las cuales son compuestos lábiles. Sus estructuras, estabilidad y color específico dependen de co-pigmentos, azúcares, iones metálicos, oxígeno, temperatura y pH. Es por lo anterior que se decidió aplicar los diferentes RC con pH distinto (3, 4 y 5) con el fin de evaluar el efecto que tenía en cuanto al color ya que se ha reportado que la acilación de antocianinas con ácidos orgánicos mejora el color y la estabilidad del pigmento (Luna-Vital et al., 2017).

Tabla 9. Parámetros de color L\*, a\* y b\* de las de los totopos de maíz azul horneados.

pH	Tratamiento	*L	*a	*b	ΔE
3	Control	39.96 ± 2.13	1.59 ± 0.57	6.97 ± 1.88	8.35
	1:5 75%	35.22 ± 2.74*	8.27 ± 0.95*	8.58 ± 2.03	
	1:5 75% TG	37.10 ± 3.28*	10.13 ± 1.34*	7.64 ± 1.62	
	1:10 75%	37.41 ± 2.55	11.11 ± 0.97*	12.43 ± 1.59*	
	1:10 75% TG	39.51 ± 1.87	11.18 ± 0.81*	12.43 ± 1.44*	
4	Control	39.96 ± 2.13	1.59 ± 0.57	6.97 ± 1.88	6.20
	1:5 75%	40.76 ± 1.79	6.72 ± 1.09*	10.35 ± 2.24*	
	1:5 75% TG	40.71 ± 2.37	8.00 ± 0.77*	10.12 ± 1.77*	
	1:10 75%	42.09 ± 1.72	6.83 ± 1.07*	10.60 ± 2.54*	
	1:10 75% TG	41.35 ± 1.96	8.59 ± 0.75*	9.20 ± 2.25*	
5	Control	39.96 ± 2.13	1.59 ± 0.57	6.97 ± 1.88	6.78
	1:5 75%	35.34 ± 1.77*	5.42 ± 0.62*	10.13 ± 1.11*	
	1:5 75% TG	39.27 ± 2.50	5.21 ± 0.67*	10.31 ± 1.76*	
	1:10 75%	40.07 ± 2.24	4.65 ± 1.45*	10.00 ± 2.88*	
	1:10 75% TG	38.93 ± 1.71	5.15 ± 1.02*	11.98 ± 1.60*	

QT-PQ: Quitosano-Proteína de quinua; %: Porcentaje de des-acetilación del quitosano; TG: Transglutaminasa. Los resultados se reportan como la media ± la desviación estándar (n=12). \* Indica que existe diferencia significativa respecto al control dentro de cada pH por la prueba Dunnett ( $\alpha=0.05$ ).

Por lo general el incremento de la hidroxilación del anillo B (Figura 21) desplaza las antocianinas a tonos más azules, mientras que la presencia de muchos grupos metoxilo cambia el color hacia el rojo. Al mismo tiempo, la inestabilidad tiene relación directa con el número de grupos hidroxilo y de manera indirecta con el número de grupos metoxilo ya que su mayor estabilidad ocurre bajo condiciones ácidas (Flores-Aguilar & Flores-Rivera, 2018; Luna-Vital et al., 2018). La acidez tiene un efecto protector sobre la molécula. A valores de pH menores a 2, prácticamente la totalidad del pigmento se encuentra en su forma más estable o de catión flavilio de color rojo intenso. A valores de pH superiores a 7 se presentan las formas quinoidales de color púrpura que se degradan rápidamente por oxidación con el aire (Garzón, 2008). El color de los alimentos ricos en pelargonidina, cianidina o delphinidina es menos estable que el de los alimentos que contienen agliconas de petunidina o malvidina.

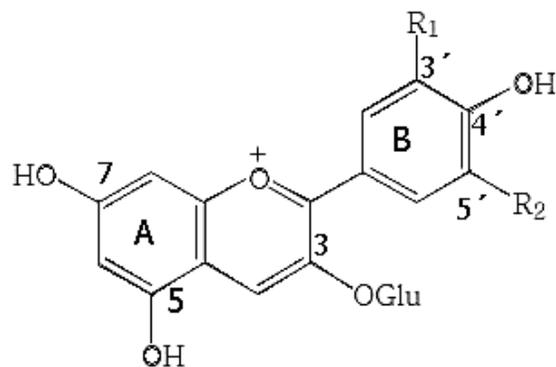


Figura 21. Estructura de las antocianinas

De hecho, un problema importante para la industria alimentaria es la degradación térmica de las antocianinas, la cual depende tanto de la composición específica de las antocianinas como de las características de la matriz alimentaria. Dado que los alimentos a base de maíz deben procesarse térmicamente antes de su consumo, la degradación térmica de las antocianinas y otros compuestos fenólicos es un problema importante en el uso de maíz pigmentado como materia prima en la industria de alimentos (Žilić et al., 2016)

Por otra parte, se puede observar tanto en totopos fritos como horneados que el valor de  $\Delta E$  respecto al control se encuentra en un rango de 4 – 17 lo que significa que la diferencia de color entre los totopos recubiertos y no recubiertos es elevada, según la norma ISO 12647-2 relativa a los estándares de impresión. Esta norma aborda los umbrales de tolerancia para  $\Delta E$  y expresa que una diferencia  $\leq 1$  significa una calidad excelente debido a que la diferencia de color entre tratamientos y control no es percibida por el ojo del consumidor. Cuando se observan incrementos mayores en el valor de  $\Delta E$ , la diferencia de color es cada vez más evidente para el consumidor siendo un valor  $> 5$  una diferencia de color inaceptable en cuanto a calidad visual. El valor de  $\Delta E$  va disminuyendo conforme incrementa el pH de los RC esto es debido a que los totopos recubiertos con RC a pH 5 tiende a acercarse más al pH de los totopos control. La determinación de color se obtuvo mediante la escala de color CIE  $L^* a^* b^*$  que ya ha sido descrita en el apartado 6.3.4. En la Figura 22 se puede observar el color de cada uno de los tratamientos. Como ya se ha mencionado anteriormente el color es un componente de suma importancia en

los alimentos ya que contribuye a que tengan mejor aspecto físico y sean apetecibles al consumidor. Por lo que se considera que en la mayoría de ocasiones las personas tienden a relacionar el color del alimento con la calidad del mismo. En la figura 22 se puede visualizar el color de los totopos con cada uno de los RC aplicados a diferentes pH. Se puede observar que los colores de los totopos tanto fritos como horneados son más llamativos ya que obtienen tonalidades rojas, rosas, y moradas cuanto menor es el pH del RC. En este sentido, se puede considerar que el producto podría ser más llamativo a la vista del consumidor que el color gris oscuro de los totopos control.

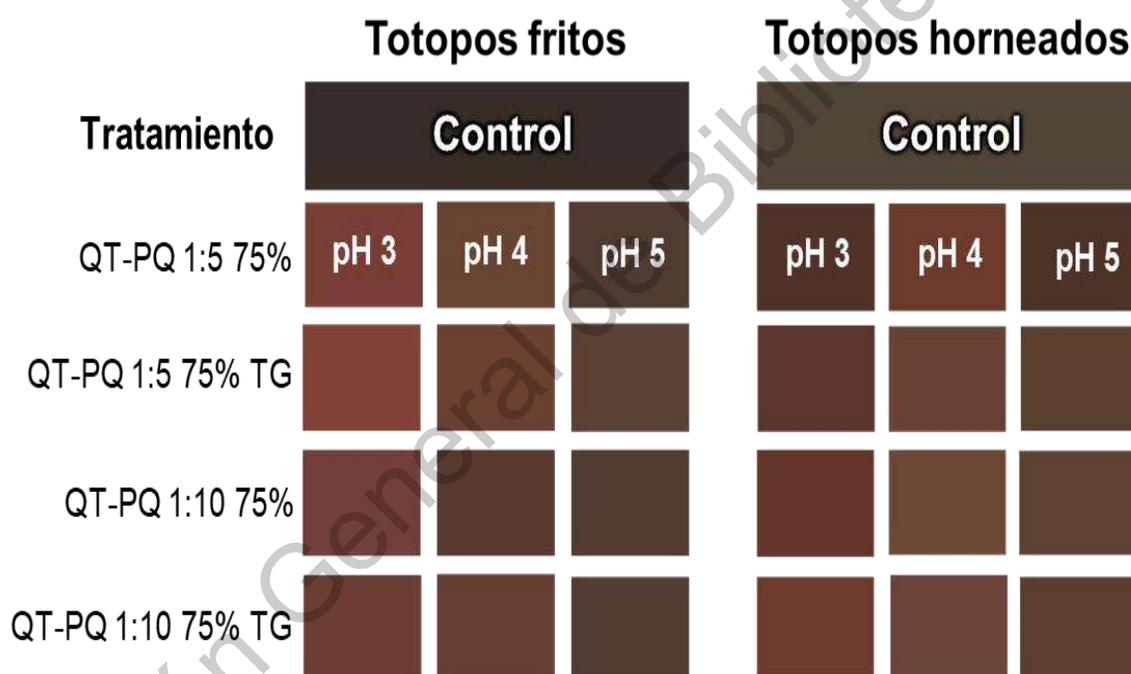


Figura 22. Color de los totopos fritos y horneados de acuerdo al espacio de color CIE L\* a\* y b\*. QT-PQ: Quitosano-Proteína de quinua; %: Porcentaje de desacetilación del quitosano; TG: Transglutaminasa.

#### 6.4.4. Determinación de humedad

El análisis del contenido de humedad de los totopos fritos indicó que existe diferencia significativa entre los totopos fritos recubiertos (TFR) y los totopos fritos control (TFS). Todos los TFR mostraron un mayor contenido de humedad después del freído osciló entre 0.70 % - 1.80 % (Tabla 10). El rango de retención de humedad

aumentó entre 34 % – 73 % respecto al control siendo los TFR con el tratamiento QT-PQ 1:10 75% TG los que obtuvieron el mayor porcentaje de retención de humedad.

En el caso de los totopos horneados recubiertos (THR) se puede observar el mismo comportamiento en cuanto al efecto de los RC respecto al control, los valores de humedad se encontraron alrededor de 0.6 % – 2.0 % (Tabla 11). En cuanto al porcentaje de retención de humedad los THR estuvieron en un rango de 63 % – 70 %. Mientras que en los totopos horneados sin recubrir (THS) fue tan solo del 23.19 %. Aunque diversos autores han reportado que la reticulación de proteínas es catalizada por la TG genera una mayor reducción de la evaporación del agua durante la cocción, este comportamiento no se observó en nuestros resultados. Los totopos que fueron recubiertos con RC's tratados con TG no mostraron el comportamiento esperado. Esto podría explicarse por las propiedades mecánicas ya que éstos mostraron valores significativamente más elevados del módulo de Young lo que significa que estas PC son más rígidas lo que puede generar problemas en la adherencia del RC sobre la superficie irregular del totopo durante el secado, provocando pequeñas fisuras o fracturas y en consecuencia una pérdida mayor de humedad (Mesías & Morales, 2016).

Cabe mencionar que el contenido de humedad del producto y su actividad acuosa juegan un papel importante en la reducción tanto de la absorción de aceite, así como en la producción de acrilamida de los productos fritos y horneados. Dependiendo del contenido de agua en el alimento, el agua puede tener un impacto inhibitorio o acelerador sobre la reacción de Maillard y, por tanto, sobre la formación de acrilamida. Sin embargo, es bien sabido que el contenido de humedad está relacionado con las condiciones de procesamiento térmico y es difícil separar el efecto del contenido de agua del de la temperatura o el tiempo de calentamiento sobre la formación de acrilamida (Ahrné et al., 2007).

Tabla 10. Efecto de los RC sobre el contenido de humedad de los totopos fritos.

<b>totopos fritos</b>				
<b>Tratamiento</b>	<b>Humedad antes de freír (%)</b>	<b>Humedad después de freír (%)</b>	<b>Pérdida de humedad durante freído (%)</b>	<b>Retención de humedad (%)</b>
Control	2.63 ± 0.26 <sup>a</sup>	0.61 ± 0.07 <sup>d</sup>	76.81	23.19
QT-PQ 1:5 75%	2.93 ± 0.27 <sup>a</sup>	1.83 ± 0.03 <sup>a</sup>	37.59	62.41
QT-PQ 1:5 75% TG	2.75 ± 0.40 <sup>a</sup>	0.95 ± 0.02 <sup>c</sup>	65.58	34.42
QT-PQ 1:10 75%	2.90 ± 0.24 <sup>a</sup>	1.63 ± 0.07 <sup>b</sup>	43.79	56.21
QT-PQ 1:10 75% TG	1.01 ± 0.15 <sup>b</sup>	0.74 ± 0.10 <sup>d</sup>	26.16	73.84

QT-PQ: Quitosano-Proteína de quinua; %: Porcentaje de desacetilación del quitosano; TG: transglutaminasa. Los resultados se reportan como la media ± la desviación estándar (n=3). Letras iguales indican que no existe diferencia significativa por la prueba Tukey ( $\alpha=0.05$ ).

Tabla 11. Efecto de los RC sobre el contenido de humedad de los totopos horneados.

<b>totopos horneados</b>				
<b>Tratamiento</b>	<b>Humedad antes de hornear (%)</b>	<b>Humedad después de hornear (%)</b>	<b>Pérdida de humedad durante horneado (%)</b>	<b>Retención de humedad (%)</b>
Control	2.63 ± 0.26 <sup>a</sup>	1.36 ± 0.12 <sup>ab</sup>	48.16	51.84
QT-PQ 1:5 75%	2.93 ± 0.27 <sup>a</sup>	2.05 ± 0.70 <sup>a</sup>	30.07	69.93
QT-PQ 1:5 75% TG	2.75 ± 0.40 <sup>a</sup>	1.94 ± 0.64 <sup>a</sup>	29.33	70.67
QT-PQ 1:10 75%	2.90 ± 0.24 <sup>a</sup>	1.85 ± 0.04 <sup>ab</sup>	36.71	63.29
QT-PQ 1:10 75% TG	1.01 ± 0.15 <sup>b</sup>	0.65 ± 0.28 <sup>b</sup>	35.43	64.57

QT-PQ: Quitosano-Proteína de quinua; %: Porcentaje de des-acetilación del quitosano; TG: transglutaminasa. Los resultados se reportan como la media ± la desviación estándar (n=3). Letras iguales indican que no existe diferencia significativa por la prueba Tukey ( $\alpha=0.05$ ).

#### 6.4.5. Determinación del contenido de aceite

En este trabajo se evaluó la efectividad de los cuatro diferentes RC a base de QT-PQ. Como se muestra en la Tabla 12, todos los RC fueron efectivos en la reducción del contenido de aceite en comparación con los totopos control (sin recubrimiento). La disminución más significativa se obtuvo con los recubrimientos 1:5 75 % DA y 1:10 75 % DA tratada con TG que obtuvieron porcentajes de reducción de contenido de aceite de 50.71 % (p/p) y (p/p) y de 56.31 % (p/p) respectivamente. De acuerdo con el análisis estadístico no mostraron diferencia significativa entre ellos lo que indica que el RC 1:5 75 % DA podría ser el más efectivo ya que contiene menor cantidad de PQ y ausencia de TG lo que indica un menor costo, así como menor tiempo de producción debido a que no se somete e incubación para lograr la reticulación enzimática.

Estos valores obtenidos fueron similares con lo reportado por Al-Asmar et al. (2018), quienes realizaron diversos RC conformados por diferentes componentes como harina de chícharo, pectina, QT y TG y evaluaron su efecto en papas fritas. Todos los RC mostraron efectividad en la disminución de la absorción de aceite obteniendo porcentajes de reducción alrededor de 9.0 – 30.0 % dependiendo de la composición del RC. Hua et al. (2015), reportaron que un RC elaborado con 1.0 % de pectina de girasol de bajo metoxilo y 0.05 M de  $\text{CaCl}_2$  aplicado sobre chips de papa podía reducir la absorción de aceite en aproximadamente un 30 %. Otros autores, como Rossi et al., (2014) aplicaron RC de proteína de suero, pectina y TG como barrera contra el vapor de agua en alimentos fritos donde se observó una significativa una disminución en la absorción de aceite entre el 30 % y 40 % para.

Durante el proceso de freído, el agua contenida en el alimento se evapora a través de la corteza seca y los poros vacíos son llenados por aceite. Diversos investigadores han reportado que los alimentos fritos pueden tener del 15 al 30 % de su peso total en grasa (Hua et al., 2015). Sin embargo, en la revisión de Kurek et al., (2017) reportaron que este porcentaje puede llegar a ser hasta un 50%. El mecanismo de absorción de aceite se considera un fenómeno complejo ya que se ve afectado por diversos factores como la estructura inicial del producto, las numerosas alternancias entre el producto y el medio de calentamiento, las

diferencias de las propiedades del producto y del aceite (Ziaifar, 2008). También se ha confirmado la influencia del espesor del producto en la absorción de aceite y la pérdida de agua. Un producto de menor espesor también aumenta significativamente la absorción de aceite y la pérdida de agua durante la fritura (Paz-Gamboa et al., 2015).

En el presente trabajo, se demostró la eficacia de los RC aplicados sobre los totopos para reducir la absorción del contenido de aceite. La eficacia de los recubrimientos a base de hidrocoloides para reducir la absorción excesiva de aceite puede referirse a su capacidad para reducir el coeficiente de transferencia de calor (Kurek et al. 2017). Se considera que la corteza del alimento puede actuar como una barrera de difusión que limita la transferencia de masa. Esto ocurre principalmente por un fenómeno asociado con la pérdida de agua resultante de la introducción de aceite a lo largo de los poros de la superficie y la succión hacia la corteza porosa una vez que los alimentos fritos se retiran del aceite y comienzan a enfriarse. La humedad interna convertida en vapor puede encontrar canales selectivos y escapar a través de capilares y poros abiertos, permitiendo que el aceite entre en los huecos que deja el agua.

Tabla 12. Efecto de los RC sobre el contenido y reducción de aceite de los totopos fritos.

<b>Tratamiento</b>	<b>Contenido de aceite (%)</b>	<b>Reducción de aceite (%)</b>
Control	33.04 ± 4.34 <sup>a</sup>	0
QT-PQ 1:5 75%	16.29 ± 0.26 <sup>bc</sup>	50.71 ± 0.79 <sup>a</sup>
QT-PQ 1:5 75% TG	23.49 ± 1.61 <sup>b</sup>	28.90 ± 4.87 <sup>b</sup>
QT-PQ 1:10 75%	18.19 ± 0.33 <sup>bc</sup>	44.95 ± 1.00 <sup>a</sup>
QT-PQ 1:10 75% TG	14.44 ± 0.86 <sup>c</sup>	56.31 ± 2.62 <sup>a</sup>

QT-PQ: Quitosano-Proteína de quinua; %: Porcentaje de des-acetilación del quitosano; TG: Transglutaminasa. Los resultados se reportan como la media ± la desviación estándar (n=3). Letras iguales indican que no existe diferencia significativa por la prueba Tukey.

#### 6.4.6. Determinación del contenido de acrilamida

Los análisis de acrilamida están basados en materia seca sin grasa, se llevaron a cabo mediante RP-HPLC y se reportan en la Tabla 13. La curva de calibración del estándar de acrilamida se puede observar en el Anexo 1. Como se mencionó en el apartado (5.2.8), los totopos se recubrieron sumergiéndolas en cuatro tratamientos diferentes. Mientras que para el control se utilizó una muestra de totopos sin RC. Se determinó el contenido de acrilamida de papas fritas de una marca comercial para ser comparadas con el contenido de los totopos elaborados en este trabajo. El mayor contenido de acrilamida se detectó en la muestra de papas fritas de marca comercial con un valor de 1500.74  $\mu\text{g AA/kg}$ , el cual fue tres veces más que en los totopos de maíz azul sin recubrir (532.84  $\mu\text{ AA/kg}$ ). Los resultados de la Tabla 13 muestran que los cuatro tratamientos lograron disminuir el contenido de acrilamida respecto a los totopos control siendo el RC más efectivo en los totopos fritos el QT-PQ 1:10 75 % DA con un porcentaje de reducción de acrilamida de 16.75 %. Mientras que en los totopos horneados el mayor porcentaje de reducción de acrilamida lo obtuvo el tratamiento QT-PQ 1:10 75 % TG. Se puede observar que el efecto de los RC en los totopos fritos fue menor (4.0 – 16 %) en comparación con los porcentajes de reducción de los totopos horneados (29 – 39 %). Este comportamiento puede atribuirse al tiempo de cocción de los totopos ya que el tiempo de freído fue de 30 s, por lo que la exposición a temperaturas altas es demasiado corta para generar un contenido alto de acrilamida. Por el contrario, el tiempo y la temperatura de cocción de los totopos horneados fue mayor (10 min. a 210 °C) por lo tanto, el contenido de acrilamida. Al aplicar un RC se genera una barrera de difusión más gruesa lo que conduce a un coeficiente de transferencia de calor más reducido, además de una corteza menos permeable y por lo tanto una menor transferencia de masa (Mellema, 2003; Rossi et al., 2014).

Tabla 13. Efecto de los RC sobre el contenido y reducción de acrilamida de los totopos fritos y horneados.

Tratamiento	Totopos fritos		Totopos horneados	
	µg AA/kg	% Reducción de AA	µg AA/kg	% Reducción de AA
Papas comerciales	1504.53 ± 58.20	---	---	---
Control	532.84 ± 20.57 <sup>a</sup>	---	1124.71 ± 43.41 <sup>a</sup>	---
QT-PQ 1:5 75%	480.53 ± 18.55 <sup>ab</sup>	9.82	726.79 ± 28.05 <sup>b</sup>	35.38
QT-PQ 1:5 75% TG	510.07 ± 19.69 <sup>ab</sup>	4.27	789.78 ± 30.49 <sup>b</sup>	29.78
QT-PQ 1:10 75%	443.58 ± 17.12 <sup>b</sup>	16.75	725.81 ± 28.02 <sup>b</sup>	35.47
QT-PQ 1:10 75% TG	508.57 ± 19.63 <sup>ab</sup>	4.56	678.07 ± 26.17 <sup>b</sup>	39.71

QT-PQ: Quitosano-Proteína de quinua; %: Porcentaje de des-acetilación del quitosano; TG: Transglutaminasa. Los resultados se reportan como la media ± la desviación estándar (n=3). Letras iguales indican que no existe diferencia significativa por la prueba Tukey.

Como se ha mencionado anteriormente la formación de este compuesto está directamente relacionada con diversos factores, principalmente temperatura y tiempo de procesamiento (Matthäus & Haase, 2016).

Sansano et al. (2016), investigaron el efecto del QT en la reducción de acrilamida en masa frita, demostrando que la influencia de los polisacáridos fue mayor que la realizada por azúcares reductores como la fructosa añadida al sistema modelo. Por lo tanto, los autores sugirieron que los grupos amino del QT podrían competir con los grupos amino de la asparagina libre para unirse a los azúcares reductores, que es el primer paso de las reacciones que termina con la formación de acrilamida. Al-Asmar et al., (2018) elaboraron diferentes RC a base de harina de guisante, TG, QT y pectina sobre papas fritas y mostraron que todas las soluciones redujeron el contenido de acrilamida. La solución más efectiva fue la solución de pectina, reduciendo 50 % p / p de acrilamida en comparación con las no recubiertas. En otro estudio más Al-Asmar et al., (2019) recubrieron muestras de falafel con pectina, la reducción de ACR fue igual al 59.3 %, 65.3 % y 84.5 %, en bolas de falafel preparadas sin TGasa o que contenían 5 U o 20 U de la enzima, respectivamente. Mientras que Zeng et al., (2010) probaron soluciones

hidrocoloides basadas en pectina y demostraron su eficacia para reducir la acrilamida tanto en los sistemas modelo como en las papas y obtuvieron una reducción del 50 % en el contenido de acrilamida. No se pudo realizar alguna comparación con los resultados obtenidos con RC con proteína de quinua, ya que el presente trabajo es el primer estudio en utilizar PQ, QT y TG como recubrimientos para la reducción del contenido de acrilamida.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

## 7. CONCLUSIONES

La mezcla de quitosano con 75 % de desacetilación, proteína de quinoa y la transglutaminasa como componentes principales en el diseño del recubrimiento comestible de este estudio, lograron formar una PC con buenas propiedades mecánicas y de estabilidad fisicoquímica.

Los recubrimientos comestibles 1:5 QT-PQ 75 % DA se caracterizaron por generar las suspensiones filmogénicas con mayor estabilidad así como películas comestibles con propiedades mecánicas más flexibles y mejores características visuales.

La aplicación del recubrimiento comestible 1:5 QT-PQ 75 % puede disminuir hasta en un 56 % la absorción de aceite en totopos fritos por lo que son más saludables en cuanto al contenido de aceite.

La aplicación del recubrimiento comestible 1:10 QT-PQ 75 % TG, reduce hasta en un 39 % el contenido de acrilamida en totopos horneados. Sin embargo, las muestras aún superan el nivel de referencia (500 µg / kg) establecido por la Comisión Europea para las patatas fritas listas para el consumo (Reglamento de la UE 2158/2017).

El recubrimiento aplicado en totopos antes del proceso de freído disminuyó significativamente el porcentaje de absorción de aceite. Mientras que en los totopos horneados logró disminuir significativamente la producción de acrilamida durante el horneado. Por lo tanto, el recubrimiento a base de una mezcla de proteína de quinoa, quitosano y transglutaminasa puede ser una buena alternativa para la elaboración de botanas fritas y horneadas más saludables.

## 8. REFERENCIAS

- Abugoch, L. E., Tapia, C., Villamán, M. C., Yazdani-Pedram, M., & Díaz-Dosque, M. (2011). Characterization of quinoa protein–chitosan blend edible films. *Food Hydrocolloids*, 25(5), 879-886.
- Agrahar-Murugkar, D., Zaidi, A., & Dwivedi, S. (2018). Quality of nixtamalized, sprouted and baked multigrain chips. *Nutrition & Food Science*, 48(3), 453-467.
- Ahrné, L., Andersson, C. G., Floberg, P., Rosén, J., & Lingnert, H. (2007). Effect of crust temperature and water content on acrylamide formation during baking of white bread: steam and falling temperature baking. *LWT-Food Science and Technology*, 40(10), 1708-1715.
- Al-Asmar, A., Naviglio, D., Giosafatto, C. & Mariniello, L. (2018). Hydrocolloid-based coatings are effective at reducing acrylamide and oil content of french fries. *Coatings*, 8(4), 147.
- Al-Asmar, A., Giosafatto, C. V. L., Panzella, L., & Mariniello, L. (2019). The effect of transglutaminase to improve the quality of either traditional or pectin-coated falafel (fried middle east Food). *Coatings*, 9(5), 331.
- Alsohaimy, S. A., Sitohy, M. Z., & El-Masry, R. A. (2007). Isolation and partial characterization of chickpea, lupine and lentil seed proteins. *World Journal of Agricultural Sciences*, 3(1), 123-129.
- Ananey-Obiri, D., Matthews, L., Azahrani, M. H., Ibrahim, S. A., Galanakis, C. M. & Tahergorabi, R. (2018). Application of protein-based edible coatings for fat uptake reduction in deep-fat fried foods with an emphasis on muscle food proteins. *Trends in Food Science & Technology*, 80, 167-174.
- AOAC (Association of Official Agricultural Chemists), 1984. Official Methods of Analysis. *Kjeldahl Method (2.062)*. 14th edition. Washington D.C., USA.
- AOAC (Association of Official Agricultural Chemists), 1990. Official Methods of Analysis. *Association of Official Analytical Chemists*. Rockville, EUA.
- Arredondo-Ochoa, T., García-Almendárez, B., Escamilla-García, M., Martín-Belloso, O., Rossi-Márquez, G., Medina-Torres, L. & Regalado-González, C. (2017). Physicochemical and antimicrobial characterization of beeswax–starch food-

- grade nanoemulsions incorporating natural antimicrobials. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(12), 2712.
- Balti, R., Mansour, M. B., Sayari, N., Yacoubi, L., Rabaoui, L., Brodu, N. & Massé, A. (2017). Development and characterization of bioactive edible films from spider crab (*Maja crispata*) chitosan incorporated with Spirulina extract. *International Journal of Biological Macromolecules*, 105, 1464-1472.
- Bhargava, A., Shukla, S., & Ohri, D. (2003). Genetic variability and heritability of selected traits during different cuttings of vegetable *Chenopodium*. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 63(4), 359-360.
- Bhat, K. K., & Bhattacharya, S. (2001). Deep fat frying characteristics of chickpea flour suspensions. *International Journal of Food Science & Technology*, 36(5), 499-507.
- Bouaziz, F., Koubaa, M., Neifar, M., Zouari-Ellouzi, S., Besbes, S., Chaari, F. & Ghorbel, R. E. (2016). Feasibility of using almond gum as coating agent to improve the quality of fried potato chips: Evaluation of sensorial properties. *LWT-Food Science and Technology*, 65, 800-807.
- Bourtoom, T. (2008). Edible films and coatings: characteristics and properties. *International Food Research Journal*, 15(3), 237-248.
- Bravin, B., Peressini, D., & Sensidoni, A. (2006). Development and application of polysaccharide–lipid edible coating to extend shelf-life of dry bakery products. *Journal of Food Engineering*, 76(3), 280-290.
- Brannan, R. G., & Pettit, K. (2015). Reducing the oil content in coated and deep-fried chicken using whey protein. *Lipid Technology*, 27(6), 131-133.
- CANACINTRA (2014). Mitos y realidades de las botanas en México. [http://www.enfasis.com/Presentaciones/FTSMX/2014/Gratis/Snacks\\_BLimónALeón.pdf](http://www.enfasis.com/Presentaciones/FTSMX/2014/Gratis/Snacks_BLimónALeón.pdf) Fecha de consulta: 27 de marzo del 2019.
- Capuano, E., Oliviero, T., Açar, Ö. Ç., Gökmen, V. & Fogliano, V. (2010). Lipid oxidation promotes acrylamide formation in fat-rich model systems. *Food Research International*, 43(4), 1021-1026.
- Castañeda-Sánchez, A. (2011). Propiedades nutricionales y antioxidantes del maíz azul (*Zea mays* L.). *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 5(2), 75-83.

- Cecchini, J. P., Spotti, M. J., Piagentini, A. M., Milt, V. G., & Carrara, C. R. (2017). Development of edible films obtained from submicron emulsions based on whey protein concentrate, oil/beeswax and brea gum. *Food Science and Technology International*, 23(4), 371-381.
- CEDRRSSA, Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria. (2014). Cámara de diputados. LXII legislatura.
- Choe, E., & Min, D. B. (2007). Chemistry of deep-fat frying oils. *Journal of Food Science*, 72(5), R77-R86.
- Dehghani, S., Hosseini, S. V. & Regenstein, J. M. (2018). Edible films and coatings in seafood preservation: A review. *Food Chemistry*, 240, 505-513.
- Del Pozo-Insfran, D., Brenes, C. H., Saldivar, S. O. S. & Talcott, S. T. (2006). Polyphenolic and antioxidant content of white and blue corn (*Zea mays* L.) products. *Food Research International*, 39(6), 696-703.
- De la Parra, C., Serna Saldivar, S. O., & Liu, R. H. (2007). Effect of processing on the phytochemical profiles and antioxidant activity of corn for production of masa, tortillas, and tortilla chips. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(10), 4177-4183.
- De Pilli, T. (2020). Development of a vegetable oil and egg proteins edible film to replace preservatives and primary packaging of sweet baked goods. *Food Control*, 107273.
- Di Pierro, P., Chico, B., Villalonga, R., Mariniello, L., Damiao, A. E., Masi, P. & Porta, R. (2006). Chitosan-whey protein edible films produced in the absence or presence of transglutaminase: analysis of their mechanical and barrier properties. *Biomacromolecules*, 7(3), 744-749.
- Donhowe, I. G. & Fennema, O. (1994). Edible films and coatings: characteristics, formation, definitions, and testing methods. *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*, 1-24.
- EFSA. (2015). Scientific Opinion on acrylamide in food. EFSA panel on contaminants in the food chain (CONTAM). *EFSA Journal*, 13(6), 4104.

- Elsouhaimy, S. A., Refaay, T. M., & Zaytoun, M. A. M. (2015). Physicochemical and functional properties of quinoa protein isolate. *Annals of Agricultural Sciences*, 60(2), 297-305.
- Escamilla-García, M., Reyes-Basurto, A., García-Almendárez, B., Hernández-Hernández, E., Calderón-Domínguez, G., Rossi-Márquez, G. & Regalado-González, C. (2017). Modified starch-chitosan edible films: Physicochemical and mechanical characterization. *Coatings*, 7(12), 224.
- Fakhouri, F. M., Costa, D., Yamashita, F., Martelli, S. M., Jesus, R. C., Alganer, K., & Innocentini-Mei, L. H. (2013). Comparative study of processing methods for starch/gelatin films. *Carbohydrate Polymers*, 95(2), 681-689.
- Falguera, V., Quintero, J. P., Jiménez, A., Muñoz, J. A., & Ibarz, A. (2011). Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. *Trends in Food Science & Technology*, 22(6), 292-303.
- FAO/WHO, 2011. Joint FAO/WHO Food Standards Programme Codex Committee on Contaminants in Foods. *Fifth Session*, 64–89.
- Fernandez-Bats, I., Di Pierro, P., Villalonga-Santana, R., García-Almendarez, B. & Porta, R. (2018). Bioactive mesoporous silica nanocomposite films obtained from native and transglutaminase-crosslinked bitter vetch proteins. *Food Hydrocolloids*, 82, 106-115.
- FIRA. (2016). Panorama Agroalimentario. Dirección de investigación y Evaluación Económica y Sectorial. Maíz. [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/200637/Panorama\\_Agroalimentario\\_Ma\\_z\\_2016.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/200637/Panorama_Agroalimentario_Ma_z_2016.pdf) Fecha de consulta: 25 de febrero de 2019.
- Flores-Aguilar, E., & Flores-Rivera, E. D. P. (2018). Estabilidad de antocianinas, fenoles totales y capacidad antioxidante de bebidas de maíz morado (*Zea mays L.*) y uña de gato (*Uncaria tomentosa sp.*). *Información Tecnológica*, 29(2), 175-184.
- Future Market Insights. (2018). New Food Innovations, Increasing Demand for On-The-Go Formats to Add Mobility to Global Tortilla Market Through 2028. <https://www.futuremarketinsights.com/reports/food-and-beverage> Fecha de consulta: 23 de febrero de 2019.

- Ganiari, S., Choulitoudi, E., & Oreopoulou, V. (2017). Edible and active films and coatings as carriers of natural antioxidants for lipid food. *Trends in Food Science & Technology*, 68, 70-82.
- Garzón, G. A. (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. *Acta Biológica Colombiana*, 13(3), 27-36.
- Giosafatto, C. V. L., Di Pierro, P., Gunning, P., Mackie, A., Porta, R., & Mariniello, L. (2014). Characterization of Citrus pectin edible films containing transglutaminase-modified phaseolin. *Carbohydrate Polymers*, 106, 200-208.
- Giosafatto, C., Al-Asmar, A., D'Angelo, A., Roviello, V., Esposito, M. & Mariniello, L. (2018). Preparation and characterization of bioplastics from grass pea flour cast in the presence of microbial transglutaminase. *Coatings*, 8(12), 435.
- Guillén, G., López Caballero, M. E., Alemán, A., López de Lacey, A., Giménez, B., & Montero García, P. (2010). Antioxidant and antimicrobial peptide fractions from squid and tuna skin gelatin. *Transworld Research Network*. 97-115.
- Gwitz, J. A. & Garcia-Casal, M. N. (2014). Processing maize flour and corn meal food products. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1312(1), 66-75.
- Hagmar, L., Törnqvist, M., Nordander, C., Rosén, I., Bruze, M., Kautiainen, A., & Axmon, A. (2001). Health effects of occupational exposure to acrylamide using hemoglobin adducts as biomarkers of internal dose. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, 219-226.
- Han, J. H. (2014). Edible films and coatings: a review. In: *Innovations In Food Packaging*. In Steve L. Taylor (ed.). *Academic Press*. (pp.213-255) Boston, MA.
- Hariri, E., Abboud, M. I., Demirdjian, S., Korfali, S., Mroueh, M., & Taleb, R. I. (2015). Carcinogenic and neurotoxic risks of acrylamide and heavy metals from potato and corn chips consumed by the Lebanese population. *Journal of Food Composition and Analysis*, 42, 91-97.
- Harnkarnsujarit N (2017) Glass-transition and non-equilibrium states of edible films and barriers. Chapter 15. In: Bhandari B, Roos YH (eds) "Non-equilibrium states and glass transitions in foods processing effects and product-specific implications", a volume in *Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition*. Elsevier, Amsterdam ISBN: 978-0-08-100309-1.

- Hassan, B., Chatha, S. A. S., Hussain, A. I., Zia, K. M., & Akhtar, N. (2018). Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 109, 1095-1107.
- Houhoula, D. P., Oreopoulou, V. & Tzia, C. (2003). The effect of process time and temperature on the accumulation of polar compounds in cottonseed oil during deep-fat frying. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(4), 314-319.
- Hu, F. B., Manson, J. E. & Willett, W. C. (2001). Types of dietary fat and risk of coronary heart disease: a critical review. *Journal of the American College of Nutrition*, 20(1), 5-19.
- Hua, X., Wang, K., Yang, R., Kang, J., & Yang, H. (2015). Edible coatings from sunflower head pectin to reduce lipid uptake in fried potato chips. *LWT-Food Science and Technology*, 62(2), 1220-1225.
- INIFAP (2020). Maíz azul: coloreando nuestras tradiciones. <https://cienciasforestales.inifap.gob.mx/index.php/noticias/326-maiz-azul-coloreando-nuestras-tradiciones> Fecha de consulta: 09 de septiembre del 2020.
- Jost, V., Kobsik, K., Schmid, M. & Noller, K. (2014). Influence of plasticiser on the barrier, mechanical and grease resistance properties of alginate cast films. *Carbohydrate Polymers*, 110, 309-319.
- Juárez, M. D. & Sammán, N. (2007). El deterioro de los aceites durante la fritura. *Spanish Journal of Community Nutrition*, 13(2), 82-94.
- Kanatt, S. R., Chander, R. & Sharma, A. (2008). Chitosan and mint mixture: A new preservative for meat and meat products. *Food Chemistry*, 107(2), 845-852.
- Khampas, S., Lertrat, K., Lomthaisong, K., Simla, S. & Suriharn, B. (2015). Effect of location, genotype and their interactions for anthocyanins and antioxidant activities of purple waxy corn cobs. *Turkish Journal of Field Crops*, 20(1), 15-23.
- Keramat, J., LeBail, A., Prost, C., & Soltanizadeh, N. (2011). Acrylamide in foods: chemistry and analysis. A review. *Food and Bioprocess Technology*, 4(3), 340-363.
- Krokida, M. K., Oreopoulou, V., & Maroulis, Z. B. (2000). Water loss and oil uptake as a function of frying time. *Journal of Food Engineering*, 44(1), 39-46.

- Kumar, N. (2019). Polysaccharide-based component and their relevance in edible film/coating: a review. *Nutrition & Food Science*, 49(5), 793-823.
- Kurek, M., Ščetar, M., & Galić, K. (2017). Edible coatings minimize fat uptake in deep fat fried products: A review. *Food Hydrocolloids*, 71, 225-235.
- Li, G., Huang, J., Chen, T., Wang, X., Zhang, H. & Chen, Q. (2017). Insight into the interaction between chitosan and bovine serum albumin. *Carbohydrate Polymers*, 176, 75-82.
- Longares, A., Monahan, F. J., O'riordan, E. D., & O'sullivan, M. (2004). Physical properties and sensory evaluation of WPI films of varying thickness. *LWT-Food Science and Technology*, 37(5), 545-550.
- Luna-Vital, D., Cortez, R., Ongkowijoyo, P., & de Mejia, E. G. (2018). Protection of color and chemical degradation of anthocyanin from purple corn (*Zea mays* L.) by zinc ions and alginate through chemical interaction in a beverage model. *Food Research International*, 105, 169-177.
- Ma, Z., Garrido-Maestu, A. & Jeong, K. C. (2017). Application, mode of action, and in vivo activity of chitosan and its micro-and nanoparticles as antimicrobial agents: A review. *Carbohydrate Polymers*, 176, 257-265.
- Maan, A. A., Anjum, M. A., Khan, M. K. I., Nazir, A., Saeed, F., Afzaal, M., & Aadil, R. M. (2020). Acrylamide Formation and Different Mitigation Strategies during Food Processing—A Review. *Food Reviews International*, 1-18.
- Mariniello, L., Giosafatto, C. V. L., Di Pierro, P., Sorrentino, A., & Porta, R. (2007). Synthesis and resistance to in vitro proteolysis of transglutaminase cross-linked phaseolin, the major storage protein from *Phaseolus vulgaris*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(12), 4717-4721.
- Marquez, G. R., Di Pierro, P., Esposito, M., Mariniello, L., & Porta, R. (2014). Application of transglutaminase-crosslinked whey protein/pectin films as water barrier coatings in fried and baked foods. *Food and Bioprocess Technology*, 7(2), 447-455.
- Matthäus, B., & Haase, N. U. (2016). Acrylamide in ready-to-eat foods. In: Parthena Kotzekidou (ed.). *Food Hygiene and Toxicology in Ready-to-Eat Foods* (pp. 353-382). Academic Press.

- McClements, D. J., & Rao, J. (2011). Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(4), 285-330.
- McHugh, T. H. (2000). Protein-lipid interactions in edible films and coatings. *Food / Nahrung*, 44(3), 148-151.
- Mesias, M., & Morales, F. J. (2016). Acrylamide in bakery products. In: Vural Gökmen (ed.) *Acrylamide in food: Analysis, content and potential health effects*. 131-157.
- Mencin, M., Abramovič, H., Vidrih, R., & Schreiner, M. (2020). Acrylamide levels in food products on the Slovenian market. In: G. Campbell-Platt. *Food Control*, 114, 107-267.
- Naruszewicz, M., Zapolska-Downar, D., Kośmider, A., Nowicka, G., Kozłowska-Wojciechowska, M., Vikström, A. S., & Törnqvist, M. (2009). Chronic intake of potato chips in humans increases the production of reactive oxygen radicals by leukocytes and increases plasma C-reactive protein: a pilot study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 89(3), 773-777.
- Nuss, E. T., & Tanumihardjo, S. A. (2010). Maize: a paramount staple crop in the context of global nutrition. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(4), 417-436.
- Oliver, M. (2018). Diseño de un recubrimiento activo comestible usando cera de abeja y mezcla de proteína de quinua-quitosano entrecruzada con transglutaminasa y su aplicación en tuna (*Opuntia ficus-indica*). (Tesis de maestría). Universidad Autónoma de Querétaro, Qro., México. 57-62.
- OMS Organización mundial de la Salud 2017. Obesity and overweight fact sheet. <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
- Fecha de consulta 01 de marzo del 2019.
- Park, H. J., Byun, Y. J., Kim, Y. T., Whiteside, W. S. & Bae, H. J. (2014). Processes and applications for edible coating and film materials from agropolymers. Capítulo 10. *Innovation in Food Packaging*. 257-275.
- Paz-Gamboa, E., Ramírez-Figueroa, E., Vivar-Vera, M. A., Bravo-Delgado, H. R., Cortés-Zavaleta, O., Ruiz-Espinosa, H., & Ruiz-López, I. I. (2015). Study of oil

- uptake during deep-fat frying of Taro (*Colocasia esculenta*) chips. *CyTA-Journal of Food*, 13(4), 506-511.
- Pedreschi, F., & Moyano, P. (2005). Effect of pre-drying on texture and oil uptake of potato chips. *LWT-Food Science And Technology*, 38(6), 599-604.
- Porta, R., Mariniello, L., Di Pierro, P., Sorrentino, A., & Giosafatto, C. V. L. (2011). Transglutaminase crosslinked pectin-and chitosan-based edible films: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(3), 223-238.
- Porta, R., Di Pierro, P., Rossi-Marquez, G., Mariniello, L., Kadivar, M. & Arabestani, A. (2015). Microstructure and properties of bitter vetch (*Vicia ervilia*) protein films reinforced by microbial transglutaminase. *Food Hydrocolloids*, 50, 102-107.
- Porta, R., Di Pierro, P., Sabbah, M., Regalado-Gonzales, C., Mariniello, L., Kadivar, M., & Arabestani, A. (2016). Blend films of pectin and bitter vetch (*Vicia ervilia*) proteins: Properties and effect of transglutaminase. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 36, 245-251.
- Ranhotra, G. S., Gelroth, J. A., Glaser, B. K., Lorenz, K. J., & Johnson, D. L. (1993). Composition and protein nutritional quality of quinoa. *Cereal Chemistry*, 70, 303-303.
- Ranum, P., Peña-Rosas, J. P. & Garcia-Casal, M. N. (2014). Global maize production, utilization, and consumption. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1312(1), 105-112.
- Repo-Carrasco, R., Espinoza, C., & Jacobsen, S. E. (2003). Nutritional value and use of the Andean crops quinoa (*Chenopodium quinoa*) and kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*). *Food Reviews International*, 19(1-2), 179-189.
- Repo-Carrasco-Valencia, R., Hellström, J. K., Pihlava, J. M., & Mattila, P. H. (2010). Flavonoids and other phenolic compounds in Andean indigenous grains: Quinoa (*Chenopodium quinoa*), kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) and kiwicha (*Amaranthus caudatus*). *Food Chemistry*, 120(1), 128-133.
- Riaz, M. N. (2016). Snack foods, processing. Encyclopaedia of Food Grains. *Grain-Based Products and Their Processing*, 3, 414-422.

- Roudaut, G., Dacremont, C., Pàmies, B. V., Colas, B., & Le Meste, M. (2002). Crispness: a critical review on sensory and material science approaches. *Trends in Food Science and Technology*, 13(6-7), 217-227.
- Rovira, R. F., Martín, F., de Victoria Muñoz, E. M., Martínez-Larrañaga, M. R., Hernández-Agero, T. O., Segura, C. P., ... & Martínez, A. P. (2013). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre condiciones de uso de determinadas sustancias distintas de vitaminas, minerales y plantas para ser empleadas en complementos alimenticios-1. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, (17), 11-234.
- Sabbah, M., Esposito, M., Pierro, P. D., Giosafatto, C. V., Mariniello, L., & Porta, R. (2016). Insight into zeta potential measurements in biopolymer film preparation. *Journal of Biotechnology & Biomaterials*, 6, e126.
- Sabbah, M., Giosafatto, C. V. L., Esposito, M., Di Pierro, P., Mariniello, L., & Porta, R. (2019). Transglutaminase cross-linked edible films and coatings for food applications. In: Mohammed Kuddus (ed.). *Enzymes in food biotechnology*. Academic Press. 369-388.
- Saguy, I. S. & Dana, D. (2003). Integrated approach to deep fat frying: engineering, nutrition, health and consumer aspects. *Journal of Food Engineering*, 56(2-3), 143-152.
- Salazar, R., Arámbula-Villa, G., Luna-Bárceñas, G., Figueroa-Cárdenas, J. D., Azuara, E. & Vazquez-Landaverde, P. A. (2014). Effect of added calcium hydroxide during corn nixtamalization on acrylamide content in tortilla chips. *LWT-Food Science and Technology*, 56(1), 87-92.
- Sánchez-Ortega, I., García-Almendárez, B. E., Santos-López, E. M., Reyes-González, L. R., & Regalado, C. (2016). Characterization and antimicrobial effect of starch-based edible coating suspensions. *Food Hydrocolloids*, 52, 906-913.
- Sansano, M., Castelló, M. L., Heredia, A., & Andrés, A. (2016). Protective effect of chitosan on acrylamide formation in model and batter systems. *Food Hydrocolloids*, 60, 1-6.

- Sciarini, L. S., Ribotta, P. D., León, A. E. & Pérez, G. T. (2010). Influence of gluten-free flours and their mixtures on batter properties and bread quality. *Food and Bioprocess Technology*, 3(4), 577-585.
- SE (2016). Secretaría de Economía. PRO MEXICO Inversión y Comercio. <https://embamex.sre.gob.mx/rusia/images/stories/Comercio/procesadospromexico.pdf>. Fecha de consulta: 09 de marzo del 2018.
- Sebti, I., Chollet, E., Degraeve, P., Noel, C., & Peyrol, E. (2007). Water sensitivity, antimicrobial, and physicochemical analyses of edible films based on HPMC and/or chitosan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(3), 693-699.
- SIAP. (2012). Situación actual y perspectivas del maíz en México. [http://www.campomexicano.gob.mx/portal\\_siap/Integración/EstadísticaDerivada/ComercioExterior/Estudios/Perspectivas/maiz96-12.pdf](http://www.campomexicano.gob.mx/portal_siap/Integración/EstadísticaDerivada/ComercioExterior/Estudios/Perspectivas/maiz96-12.pdf). Fecha de consulta 21 de febrero de 2018.
- SIAP, A. A. (2018). Servicio de Información Agroalimentaria Pesquera; Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México. Maíz grano. *Atlas Agroalimentario 2012-2018*, 102-104.
- Smith, J. P., Daifas, D. P., El-Khoury, W., Koukoutsis, J., & El-Khoury, A. (2004). Shelf life and safety concerns of bakery products—a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(1), 19-55.
- Song, Y., & Zheng, Q. (2014). Ecomaterials based on food proteins and polysaccharides. *Polymer Reviews*, 54(3), 514-571.
- Suhag, R., Kumar, N., Petkoska, A. T., & Upadhyay, A. (2020). Film formation and deposition methods of edible coating on food products: A review. *Food Research International*, 109582.
- Tapia-Blácido, D. R., do Amaral Sobral, P. J., & Menegalli, F. C. (2013). Effect of drying conditions and plasticizer type on some physical and mechanical properties of amaranth flour films. *LWT-Food Science and Technology*, 50(2), 392-400.
- Tareke, E., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson, S. & Törnqvist, M. (2002). Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(17), 4998-5006.

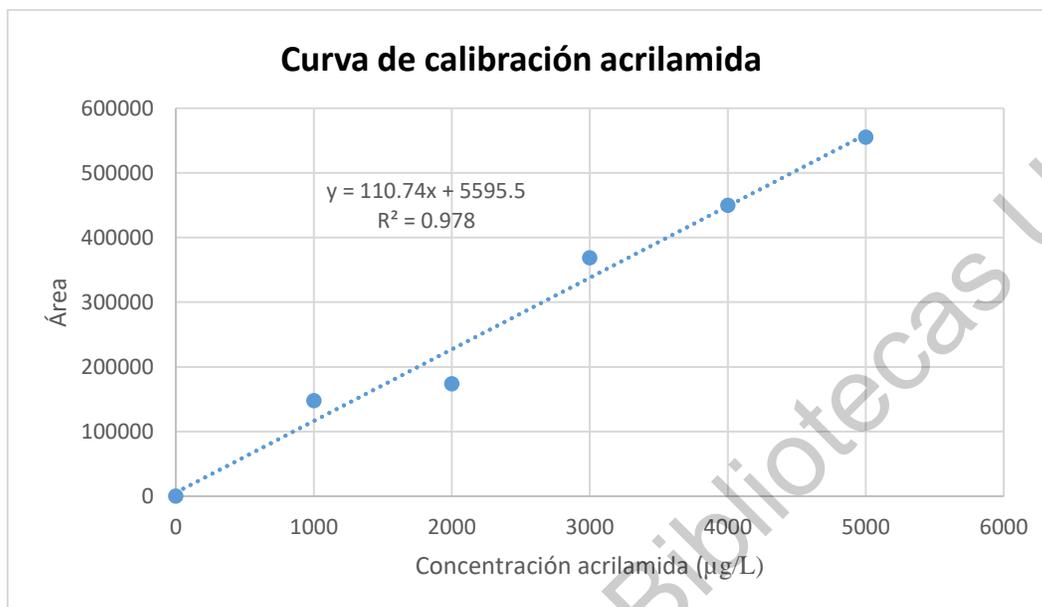
- Tortilla Chips Market Size, Global Industry Trends Report, 2025. (2020). Fecha de consulta 2 September 2020, from <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/tortilla-chips-market>
- Valenzuela, C., Abugoch, L., Tapia, C., & Gamboa, A. (2013). Effect of alkaline extraction on the structure of the protein of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) and its influence on film formation. *International Journal of Food Science & Technology*, 48(4), 843-849.
- Vahedikia, N., Garavand, F., Tajeddin, B., Cacciotti, I., Jafari, S. M., Omid, T., & Zahedi, Z. (2019). Biodegradable zein film composites reinforced with chitosan nanoparticles and cinnamon essential oil: Physical, mechanical, structural and antimicrobial attributes. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 177, 25-32.
- Velaga, S. P., Nikjoo, D., & Vuddanda, P. R. (2018). Experimental studies and modeling of the drying kinetics of multicomponent polymer films. *AAPS PharmSciTech*, 19(1), 425-435.
- Wittaya, T. (2012). Protein-based edible films: Characteristics and improvement of properties. *In: Structure and Function of Food Engineering*. (p. 138-156). CRC Press. USA.
- Xu, S. & Kerr, W. L. (2012). Comparative study of physical and sensory properties of corn chips made by continuous vacuum drying and deep fat frying. *LWT-Food Science and Technology*, 48(1), 96-101.
- Yang, J., Yu, J., & Huang, Y. (2011). Recent developments in gelcasting of ceramics. *Journal of the European Ceramic Society*, 31(14), 2569-2591.
- Younes, I. & Rinaudo, M. (2015). Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. *Marine drugs*, 13(3), 1133-1174.
- Zareie, Z., Yazdi, F. T., & Mortazavi, S. A. (2020). Development and characterization of antioxidant and antimicrobial edible films based on chitosan and gamma-aminobutyric acid-rich fermented soy protein. *Carbohydrate Polymers*, 116491.
- Zeng, X., Cheng, K. W., Du, Y., Kong, R., Lo, C., Chu, I. K., & Wang, M. (2010). Activities of hydrocolloids as inhibitors of acrylamide formation in model systems and fried potato strips. *Food Chemistry*, 121(2), 424-428.

- Zink, J., Wyrobnik, T., Prinz, T., & Schmid, M. (2016). Physical, chemical and biochemical modifications of protein-based films and coatings: An extensive review. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(9), 1376.
- Ziaifar, A. M., Achir, N., Courtois, F., Trezzani, I., & Trystram, G. (2008). Review of mechanisms, conditions, and factors involved in the oil uptake phenomenon during the deep-fat frying process. *International Journal of Food Science & Technology*, 43(8), 1410-1423.
- Žilić, S., Kocadağlı, T., Vančetović, J., & Gökmen, V. (2016). Effects of baking conditions and dough formulations on phenolic compound stability, antioxidant capacity and color of cookies made from anthocyanin-rich corn flour. *LWT-Food Science and Technology*, 65, 597-603.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

## 9. ANEXOS

### A1. Curva de calibración del estándar de acrilamida.



Dirección General de Bibliotecas UAQ