

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA**



**IDENTIFICACION DE ACRILAMIDA POR ESPECTROSCOPIA
INFRARROJA EN PAN DULCE ARTESANAL**

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR

**CARLOS ENRIQUE HERNANDEZ MARTINEZ
DIANA STEPHANNIE TRUJILLO CISNEROS**

PARA OPTAR AL GRADO DE

LICENCIADO(A) EN QUIMICA Y FARMACIA

JULIO 2019

SAN SALVADOR EL SALVADOR CENTRO AMERICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MAESTRO ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

SECRETARIO GENERAL

MAESTRO CRISTOBAL HERNAN RIOS BENITEZ

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANO

LIC. SALVADOR CASTILLO AREVALO

SECRETARIO

MAE. ROBERTO EDUARDO GARCIA ERAZO

DIRECCION DE PROCESOS DE GRADUACION

DIRECTORA GENERAL

MSc. Cecilia Haydeé Gallardo de Velásquez

TRIBUNAL CALIFICADOR

**ASESORES DE AREA EN CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS
FARMACEUTICOS Y COSMETICOS**

Licda. Zenia Ivonne Arévalo de Márquez

MSc. Eliseo Ernesto Ayala Mejía

DOCENTE ASESOR

Lic. Henry Alfredo Hernández Contreras

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos de manera especial a:

Nuestro Dios por toda su fidelidad y compañía a lo largo del camino de nuestras vidas.

Licenciado Henry Hernández por toda su asesoría durante este trabajo de graduación, por su paciencia como docente y ayudarnos a culminar nuestra formación académica.

Licda. Ariana García por su valiosa ayuda en un momento crucial para la realización de nuestro estudio, por sus palabras de perseverancia y su disposición de ayudar a los estudiantes.

Licda. Zenia Ivonne Arévalo por demostrar ese esfuerzo y entrega como docente, por siempre estar cuando la necesitamos y darnos apoyo para seguir adelante durante todo este proceso de estudiantes a licenciados, por ser más que una docente una amiga.

Directora de trabajos de graduación MSc. Cecilia Gallardo por sus valiosos consejos, por siempre atendernos cuando la necesitamos, por motivarnos a siempre seguir adelante con esa sonrisa amigable que la caracteriza.

MSc. Eliseo Ayala por su ardua labor como docente y su compromiso para con los estudiantes, quien fue una pieza fundamental en el desarrollo de este trabajo de graduación.

Centro Nacional de Investigación Científica de El Salvador y Planta Piloto De Ingeniería Química, por brindar apoyo y dar apertura a sus instalaciones y uso de equipo, para completar la metodología experimental.

Carlos Hernández y Diana Trujillo.

DEDICATORIA

De manera especial dedico mi trabajo de graduación a:

Mis padres Mercedes Martínez y Carlos Hernández por ese apoyo incondicional. A mi padre por su sacrificio y esfuerzo para que lograra terminar mis estudios y tener una mejor vida. A mi madre por ser ese pilar tan importante y la persona que más me llena de orgullo, por ti me he convertido en lo que soy ahora y es gracias a tus enseñanzas que sigo mejorando constantemente, esto es por ti mamá TE AMO.

Mis hermanos Diego y Saori Hernández por ser unos detestables sin los cuales no puedo vivir son mi apoyo más grande, es por ustedes que me esfuerzo en crecer profesionalmente día con día y estoy seguro que cumpliremos todas y cada una de nuestra metas y propósitos en la vida.

Mi compañera de tesis Diana Trujillo, a lo largo de estos 8 años y contando te convertiste en mi mejor amiga, mi hermana, mi confidente, la persona que esta incondicionalmente para mí y la que más me aguanta a pesar de mis tonterías, una vida sin tu amistad no sería la misma (Si se pudo licenciada si se pudo).

LA MANADA, me faltarían palabras y demasiadas paginas si quisiera agradecer individualmente a cada uno de ustedes, pero siempre estarán presentes en mis pensamientos, cada uno de los recuerdos y experiencias vividas juntos entre desveladas incontables, frustraciones por pasar materias, las mejores tonterías y salidas de grupo inigualables, momentos de tristeza, apoyo incondicional y todos los triunfos que obtuvimos juntos desde primer año (La unión hizo la fuerza), si tuviese que repetir mis años universitarios definitivamente seria con ustedes. Cada uno apporto mucho en mi vida y por eso les agradezco: Valeria, Aida, Pachón, Tony, Elena, Sergio, Adry, Charlie.

“ Se siempre tú mismo pero cada día mejor ”

Enrique Hernández.

DEDICATORIA

Agradecida primeramente con Dios por permitirme culminar mis estudios y por siempre brindarme la fuerza para superar cualquier obstáculo en la vida.

Agradezco todo lo que soy y hasta donde he llegado a mis padres Vilma Cisneros y Carlos Trujillo, que gracias a ellos he podido en esta ocasión escribir estos agradecimientos, han sido el motor de mi vida, agradezco cada día de esfuerzo, sacrificio y entrega para poder decir con mucho orgullo que tienen una hija Licenciada en Química y Farmacia sin duda la mejor facultad de todas. Este título es de ustedes LOS AMO nos graduamos siiii.

También este título va para ti abuelita querida aunque ya no estés conmigo sé que recibes este título con mucha alegría y orgullo de tu nieta preferida jamás podré olvidarte, gracias por cada día que dedicaste a cuidarme y ahora llegar a ser lo que soy.

A ti querido hermanito por ser mi inspiración a terminar mis estudios, mi amada abuela Inés , tía Ana, tía Paty y mis primos por siempre estar pendiente en cada etapa de mi formación académica por darme palabras de aliento y siempre tener una mente positiva y nunca darme por vencida.

Te agradezco tu amistad y apoyo incondicional, por haberme aguantado tanto, te convertiste más que un amigo en estos años de conocerte ahora eres mi hermano Enrique Hernández.

Sin duda alguna a mis amigos LA MANADA cada uno de ellos formo parte de mi carrera, fueron más que compañeros, se convirtieron en amigos de por vida.

Diana Trujillo.

INDICE GENERAL

RESUMEN	
CAPITULO I	
1.0 INTRODUCCION	xii
CAPITULO II	
2.0 OBJETIVOS	
CAPITULO III	
3.0 MARCO TEORICO	17
3.1 ¿Qué es la acrilamida?.	17
3.2 REACCIÓN DE MAILLARD.	18
3.2.1 Física y química de la reacción de Maillard.	18
3.3 FORMACIÓN DE ACRILAMIDA EN LOS ALIMENTOS.	23
3.3.1 Química de la formación.	23
3.3.2 Destino en los alimentos.	24
3.3.3 Factores que afectan a la formación de Acrilamida.	26
3.3.4 Medios disponibles para la reducción de acrilamida en alimentos.	27
3.3.5 Productos a base de cereales:	28
3.4 ABSORCIÓN, METABOLISMO, DISTRIBUCIÓN Y EXCRECIÓN.	29
3.5 TOXICIDAD.	30
3.6 IMPACTO EN LA SALUD HUMANA.	31
3.6.1 Exposición humana a acrilamida.	32
3.7 CARCINOGENICIDAD (INCLUYENDO GENOTOXICIDAD Y MECANISMOS DE CARCINOGENICIDAD).	33
3.8 PAN DULCE.	36
3.8.1 Historia de la panificación en El Salvador y su evolución.	36
3.8.2 Normativas salvadoreñas obligatorias para el pan dulce y etiquetado nutricional.	37
3.8.3 Materias primas para elaboración de pan dulce.	38
3.8.4 Proceso de panificación.	42
3.9 MÉTODOS INSTRUMENTALES DE IDENTIFICACIÓN.	45
3.9.1 Espectroscopia Infrarroja.	46

3.9.2 Espectrómetro infrarrojo por transformada de Fourier.	46
3.9.4 Análisis Cualitativo.	48
CAPITULO IV	
4.0 DISEÑO METODOLOGICO	50
4.1 TIPO DE ESTUDIO	50
4.2 INVESTIGACION BIBLIOGRAFICA	51
4.3 INVESTIGACIÓN DE CAMPO	51
4.3.1 Universo:	52
4.3.2 Muestra:	52
4.3.3 Toma de muestra	53
4.4 PARTE EXPERIMENTAL.	54
4.4.1 Preparación de solución estándar de acrilamida al 2%.	54
4.4.2 Procedimiento de preparación de la muestra y obtención de espectro infrarrojo:	54
4.4.3 Procedimiento de obtención de espectros infrarrojos para la identificación de acrilamida para muestra (Pan Dulce Artesanal) y Estándar.	55
CAPITULO V	
5.0 RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS	58
5.1 PRIMERA ETAPA.	58
5.2 SEGUNDA ETAPA.	76
CAPITULO VI	
6.0 CONCLUSIONES	83
CAPITULO VII	
7.0 RECOMENDACIONES	85
BIBLIOGRAFIA	
GLOSARIO	
ANEXOS	

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación es la identificación de Acrilamida en pan dulce artesanal que es comercializado en la zona del área urbana del municipio de Santa Ana, departamento de Santa Ana, El Salvador, seleccionando cuatro colonias específicas y en cada una se seleccionó una panadería de mayor consumo por los residentes.

Se determinó cuáles eran las 10 variedades de pan dulce artesanal más comercializadas en dichas panaderías, se realizó un muestreo obteniendo un total de 90 muestras analizadas divididas en 2 etapas. La primera etapa realizada en el periodo de junio – agosto de 2018 y la segunda etapa realizada en enero de 2019.

En ambos estudios se utilizó el método de espectroscopia infrarroja con sistema de reflectancia total atenuada (ATR) y se siguió la misma metodología de recolección y tratamiento de las muestras en el Laboratorio Fisicoquímico de Aguas de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.

Para identificar la presencia de Acrilamida en pan dulce artesanal se obtuvo el espectro de una solución de estándar de acrilamida al 2%, el cual se contrastó con el espectro del Agua ultrapura y una solución de sacarosa con el objetivo de discriminar bandas que pueden interferir con el análisis y obtener las regiones y picos característicos para la identificación del analíto en las muestras.

Luego se acoplo cada uno de los espectros obtenidos de las muestras de pan contra el espectro de solución de estándar de acrilamida al 2%, obteniendo del 100 % de las muestras analizadas durante las dos etapas 1.11% como resultado positivo.

Esta investigación sirve como fuente información, debido al consumo de pan dulce elaborado de forma artesanal en El Salvador y ser de referencia para otros

tipos de alimentos que pueden generar tóxicos perjudiciales a la salud como lo es el café, los cereales entre otros y para que las instituciones de salud den una mayor educación sobre estos temas a los productores, para estandarizar o tener un mayor control en los procesos de elaboración.

CAPITULO I
INTRODUCCION

1.0 INTRODUCCION

La acrilamida es un compuesto con un amplio espectro de efectos tóxicos, que provoca cambios en el sistema nervioso central, neuropatías periféricas y está clasificado según la Agencia Internacional para la Investigación sobre el cáncer (IARC), en el grupo 2A “como probablemente cancerígeno para los seres humanos”. Se forma principalmente por medio de la reacción de Maillard en los alimentos que se desarrolla entre el grupo amino de un aminoácido y un grupo carbonilo de un azúcar reductor a partir de los 120°C.

Los alimentos que sufren procesos térmicos como lo son el tostado, el horneado y la fritura, desarrollan características fisicoquímicas y organolépticas que hacen que estos productos sean muy apetecidos con un alto consumo global, según el perfil sensorial del producto presentado al consumidor, dichos procesos se llevan a cabo a temperaturas entre los 150-250°C, rango óptimo para la formación de acrilamida.

Según estudios del Instituto de Nutrición de Centroamérica Y Panamá (INCAP) en El Salvador más del 85% de todas las regiones del país consumen las diferentes variedades y presentaciones de Pan Dulce Artesanal, los cuales tienen una gran demanda entre la población salvadoreña y están al alcance para la población en general, es por ello que se vuelve importante realizar estudios atribuidos a problemas tóxicos que pueden llegar a causar daños a la salud, ya que a la fecha en el país no existen estudios o investigaciones relevantes sobre este tema.

Por lo que en el presente trabajo se realizó la identificación de acrilamida en pan dulce artesanal utilizando el método de espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier con Sistema de Reflectancia Total Atenuada (ATR).

Las muestras fueron recolectadas en el área urbana del municipio de Santa Ana, departamento de Santa Ana, El Salvador y la toma de muestras se realizó en cuatro colonias específicas ubicadas en diferentes puntos de la ciudad (Ivu, Lamatepec, Barrio Nuevo y Altos del Palmar), donde se seleccionó una panadería de mayor demanda por los residentes en cada una de las colonias.

Mediante una guía de observación se determinó cuáles eran las 10 variedades de pan dulce artesanal más comercializadas en dichas panaderías, se realizó un muestreo teniendo un total de 90 muestras analizadas divididas en dos etapas. La primera etapa realizada a 70 muestras en el periodo de Junio-Agosto de 2018 y la segunda etapa realizada a 20 muestras en Enero de 2019.

Luego de obtener los espectros de las muestras, fueron comparados con el espectro de la solución de estándar de acrilamida al 2% para inferir y concluir sobre los resultados.

Este tipo de investigación será de beneficio para entidades y organismos de salud con la finalidad de servir como aporte para la creación de normativas relacionadas al tema de seguridad alimentaria y que pueden incidir en el análisis de ciertos tóxicos que se encuentran en alimentos de gran consumo inducidos sobre la población en general; además de ser una fuente de información o antecedente en el análisis de esta sustancia en pan dulce u otros alimentos.

El trabajo experimental fue realizado en el periodo de junio del año 2018 a enero de 2019, En el Laboratorio Físicoquímico de aguas de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, pero las lecturas de las muestras se realizaron para la primer etapa en el Centro Nacional de Investigación Científica de El Salvador (CICES), y la segunda etapa en el laboratorio de la Planta Piloto de Ingeniería Química.

CAPITULO II
OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Identificar acrilamida por espectroscopia infrarroja en pan dulce artesanal.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 2.2.1** Seleccionar las variedades de pan dulce artesanal para la identificación de acrilamida, basados en una guía de observación.
- 2.2.2** Analizar por espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier las muestras recolectadas.
- 2.2.3** Obtener los espectros de cada una de las muestras seleccionadas.
- 2.2.4** Comparar los espectros obtenidos por Espectroscopia Infrarroja de las muestras contra el estándar positivo de acrilamida y confirmar su existencia o ausencia en las muestras seleccionadas.

CAPITULO III
MARCO TEORICO

3.0 MARCO TEORICO

3.1 ¿Qué es la acrilamida?. ⁽¹⁵⁾

La acrilamida (2-propenamida) es un producto químico de amplio uso en la industria; se utiliza en la síntesis de poliacrilamidas, del cual se conocen varias características fisicoquímicas se presenta como un polvo blanco cristalino soluble en agua, etanol, metanol, dimetiléter 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 ultravioleta. La acrilamida sólida es estable a temperatura ambiente, pero puede polimerizarse violentamente cuando se mezcla o expone a agentes oxidantes.

La acrilamida se emplea fundamentalmente en el tratamiento del agua potable, en el procesado de la pulpa de papel y también para retirar sólidos en suspensión de las aguas residuales de la industria antes de ser eliminados o para su eventual reutilización. Sin embargo, existe un gran número de otras posibles aplicaciones, como aditivo en cosméticos, acondicionador de suelos, procesado de minerales y en la formulación de agentes selladores para diques, túneles, represas y alcantarillados.

En un comienzo, se pensó que las principales fuentes de exposición a la acrilamida en la población eran el agua potable y el humo del cigarrillo, hasta la publicación del estudio de los investigadores suecos, donde se incluye también a cierto tipo de alimentos como fuente de exposición.

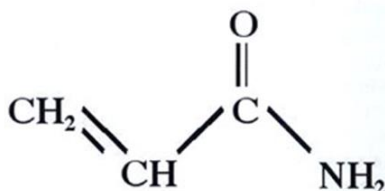


Figura N°1: Estructura Química de la molécula de Acrilamida

3.2 REACCIÓN DE MAILLARD. ⁽⁵⁾

La reacción de Maillard consiste en el conjunto de reacciones químicas que suceden a temperaturas superiores a los 120°C, que traen consigo la producción de melanoïdinas coloreadas que van desde el amarillo claro hasta el café muy oscuro e incluso el negro, además de diferentes compuestos aromáticos.

Se desarrolla fundamentalmente entre el grupo amino de un aminoácido y el grupo carbonilo de un azúcar reductor. Es un proceso en cadena, tiene la particularidad de que no es lineal, sino concomitante (los productos que genera realimentan el proceso).

3.2.1 Física y química de la reacción de Maillard. ⁽⁵⁾

Durante el calentamiento de los alimentos, los azúcares reductores reaccionan con aminoácidos iniciando una cascada de eventos químicos que conducen al pardeamiento de los alimentos a través de la generación de compuestos reactivos como monocarbonilos y dicarbonilos. Esta reacción se constituye como una reacción de pardeamiento no enzimático, donde las condiciones de pH, temperatura y actividad de agua (*aw*), son específicas para la producción de los distintos compuestos coloreados.

Para que esta reacción ocurra es necesario que se cuente con dos factores principales. Un grupo amino (NH_2) libre proveniente de aminoácidos (siendo más reactivos la lisina, arginina, histidina, triptófano y asparagina en menor proporción) o proteínas con grupo amino terminal.

La reacción de Maillard se da mediante dos mecanismos:

- En medio ácido o neutro y en medio alcalino.

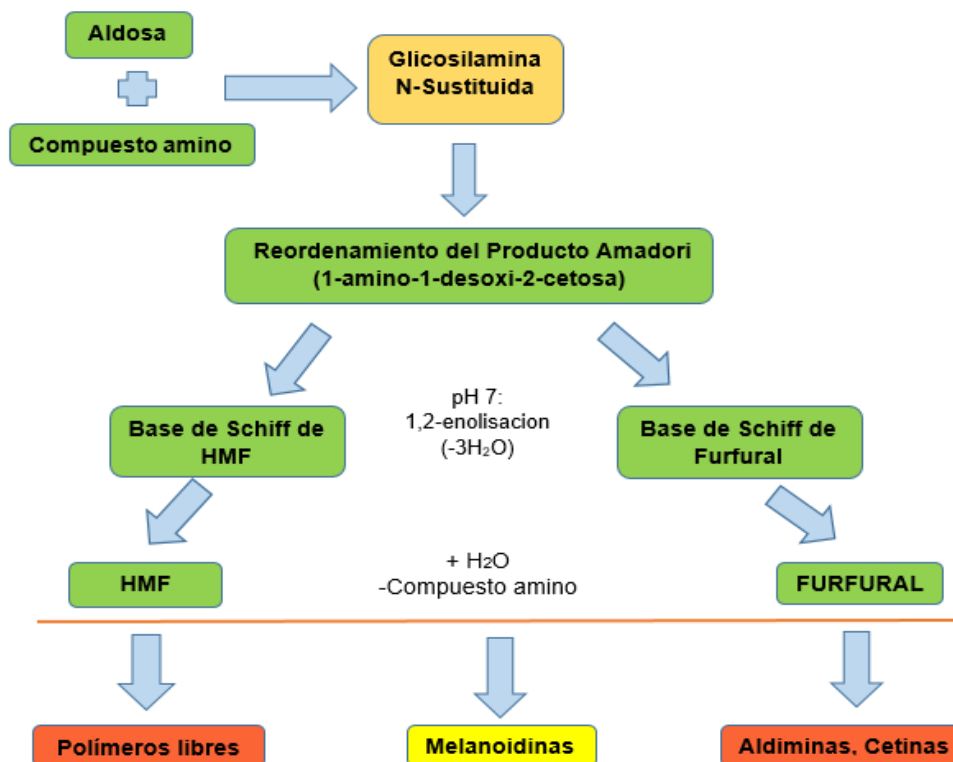


Figura Nº 2: Vías de reacción de Maillard en condiciones ácidas o neutras. ⁽¹⁴⁾

Vías de reacción de Maillard en condiciones ácidas o neutras (ver figura N°2). El primer pasaje implica una azúcar reductora -una hexosa- y una sola molécula que contiene nitrógeno con la producción de un intermedio simple: una glicosilamina N-sustituida, también definida base de Schiff (la otra molécula es agua).

Después de la transposición de Amadori, se obtiene una 1-amino-1-desoxi-2-cetosa. Cuando el pH en la comida sea 7, el producto Amadori se convertiría en la base de Schiff de hidroximetilfurfural (HMF) o furfural; los pasos posteriores dan HMF y furfural respectivamente (la producción concomitante de diferentes subproductos debe ser considerado, incluyendo 3-desoxiglucosona y sustancias gaseosas). HMF y furfural puede dar diferentes productos, incluyendo melanoidinas marrones. ⁽¹⁴⁾

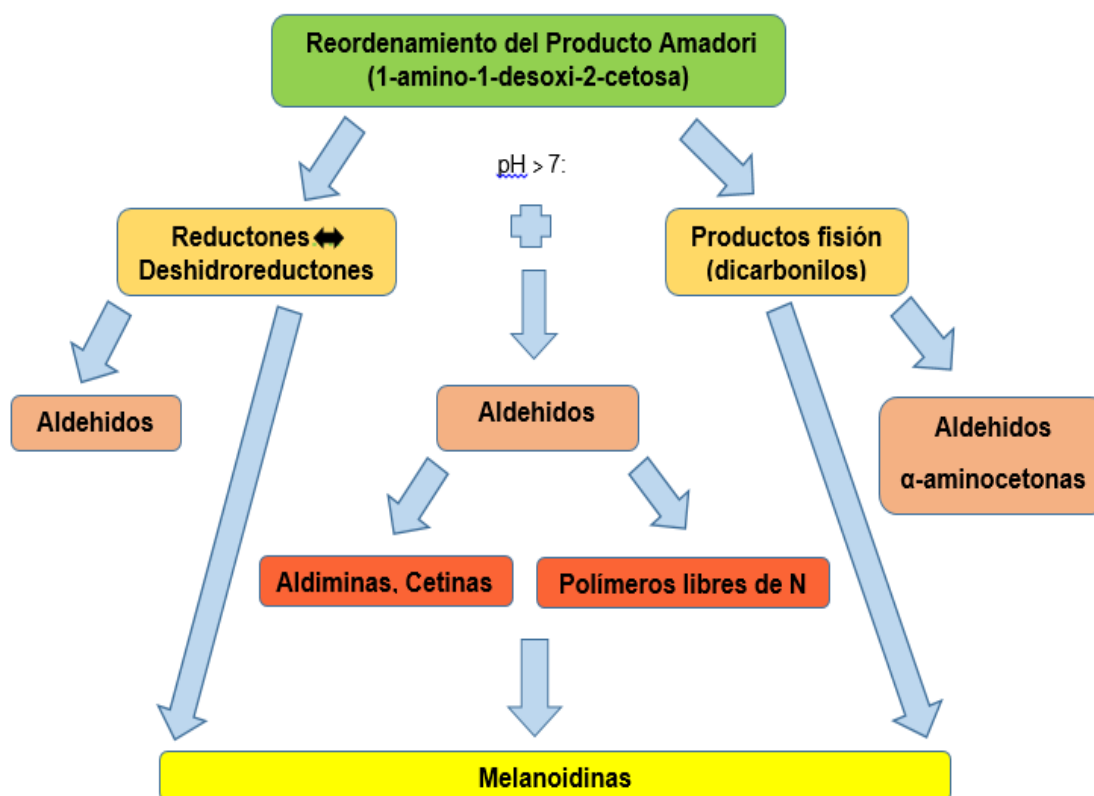


Figura N° 3: Vías de reacción de Maillard en condiciones alcalinas. ⁽¹⁴⁾

Vías de reacción de Maillard en condiciones alcalinas (ver figura N°3).

Los primeros pasos (ver fig. N°2) dan el Producto Amadori. Si el pH en el alimento fuera > 7 , el producto Amadori se transformaría en una variedad de productos intermedios diferentes: productos de reductones y fisión (dicarbonilo).

Reductones en equilibrio químico con deshidroreductones puede dar aldehídos, reaccionar con productos de dicarbonilo (producción de aldehídos), o dar melanoidinas.

Por otro lado, los productos de fisión (incluidos diacetilos, metilglioxal) también pueden dar aminocetonas, de todos modos, las melanoidinas marrones representan el producto final de estas reacciones. ⁽¹⁴⁾

A. MECANISMOS MAILLARD A $\text{pH} \leq 7$ ⁽¹⁴⁾

- La ruta 5-hidroxiacetilfurfural a $\text{pH} 7$

Un azúcar reductor, una hexosa, puede reaccionar con una sola molécula que contiene nitrógeno (aminoácido o una proteína con un grupo amino primario) con la producción de un Intermedio único (Fig. N° 2): una glicosilamina N-sustituida, también definida como base de Schiff (se elimina una molécula de agua). Químicamente, este paso es una condensación normal donde el grupo amino primario tiene que reaccionar con el grupo carbonilo de la molécula de azúcar con la eliminación de una molécula de agua y la producción de la base de Schiff. Posteriormente, la glicosilamina N-sustituida se convierte en un intermediario peculiar por medio de la reordenación Amadori. El resultado final de este paso, un 1-amino-1-desoxi-2-cetosa, este tiene que seguir una dirección dedicada dependiendo del pH de la comida.

Si el pH en los alimentos fuera inferior o igual a 7, el producto Amadori sería convertido en la base de Schiff de 5-hidroxiacetilfurfural (HMF) por medio de un Mecanismo de 1,2-enolización con la (eliminación de tres moléculas de agua). La posterior adición de una molécula de agua con la eliminación de un compuesto amino da hidroximetilfurfural(HMF), la concomitante producción de diferentes subproductos debe ser considerada, incluyendo 3-desoxiglucosona y sustancias gaseosas. Esta molécula intermedia reacciona con otros mecanismos y la cooperación de una molécula de amino hasta la producción final de melanoidinas marrones, además el HMF también puede reaccionar de manera diferente.

- La ruta de furfural a $\text{pH} 7$

Si el azúcar reductor fuera una pentosa en lugar de una hexosa, reaccionaría con una sola molécula que contiene nitrógeno (aminoácido o una proteína con un grupo amino) con la producción de un solo intermedio. Obteniendo la glicosilamina N-sustituida se convertiría en una 1-amino-1-desoxi-2-cetosa Si el

pH de los alimentos sea inferior o igual a 7, este intermediario se transformaría en furfural. En detalle, y de manera similar a la 'ruta 5-hidroximetilfurfural', el producto Amadori se convertiría en la base furfural de Schiff por medio de un mecanismo de 1,2-enolización con la eliminación de tres moléculas de agua. La posterior adición de una molécula de agua con eliminación de un compuesto amino da furfural. Esta molécula intermedia reacciona con otros mecanismos y la cooperación de una molécula de amino hasta la producción final de melanoidinas marrones. En adición, furfural también puede reaccionar de manera diferente.

- Mecanismos Maillard a pH > 7

Después de la reorganización de Amadori con la producción de la 1-amino-1-desoxi-2-cetosa el producto Amadori se puede convertir en la base Schiff de HMF o furfural con la condición de que el pH sea inferior o igual a 7 (ver figura N°2). Si el pH en la comida es > 7, el producto Amadori se transformaría en una variedad de productos intermedios diferentes (ver figura N°3).

(a) Reductones por medio de la eliminación de dos moléculas de agua. Estos reductones están en equilibrio con deshidroreductones.

(b) Productos de fisión (dicarbonilo), incluidos acetol, diacetilo y metilglioxal.

- Otra posibilidad con la reacción de Maillard es la producción de acrilamida.

Recientemente se ha informado que la acrilamida, uno de los productos intermedios alimentarios más conocidos con importancia de seguridad, se ha encontrado a la parrilla, al horno y tostado alimentos en cantidades notables. Probablemente, la reacción de ciertos aminoácidos como la asparagina con azúcares reductores puede dar a la base de Schiff relacionada con la producción final de melanoidinas y acrilamida después de varios pasos. Por esta razón, la acrilamida se ha convertido en un indicador analítico importante cuando se habla de la Reacción de Maillard en alimentos tratados térmicamente, ciertos productos asociados con la dieta mediterránea pueden mostrar la presencia de acrilamida.

3.3 FORMACIÓN DE ACRILAMIDA EN LOS ALIMENTOS. ⁽¹³⁾

La formación de acrilamida ha sido estudiada por un gran número de investigadores, donde en un comienzo se propuso la reacción de Maillard como ruta de formación principal de acrilamida en alimentos, siendo los principales precursores de esta reacción el aminoácido asparagina (ver Figura N° 5) y azúcares reductores. Luego de varias investigaciones sugirieron diferentes vías dentro de la reacción de Maillard o vías alternativas.

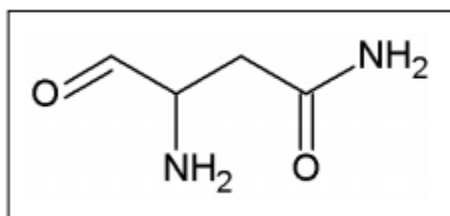


Figura N° 4: Estructura química de la molécula de asparagina.

3.3.1 Química de la formación. ⁽⁹⁾

La acrilamida es una molécula pequeña y simple. Se podría formar en los alimentos calentados a través de varios mecanismos diferentes que pueden incluir reacciones de carbohidratos, proteínas y aminoácidos, lípidos y posiblemente otros componentes menores de los alimentos.

Algunas de las posibilidades que se proponen más comúnmente son:

- Formación a través de acroleína o ácido acrílico que puede provenir de la degradación de lípidos, carbohidratos o aminoácidos libres.
- Formación mediante la deshidratación/descarboxilación de ciertos ácidos orgánicos comunes incluyendo ácido málico, ácido láctico y ácido cítrico.
- Formación directa a partir de aminoácidos.

Las pocas observaciones que se han hecho indican firmemente que la temperatura y la duración del procesamiento con calor son factores importantes.

La formación de acrilamida parece ser un fenómeno de superficie y el contenido de agua también puede ser un factor importante.

La vía principal de formación de acrilamida en alimentos es a través de la reacción entre la asparagina (principal fuente de nitrógeno en la reacción) y azúcares reductores (fuente del grupo carbonilo). En esta reacción de Maillard se puede formar por al menos dos vías que compiten, empezando con un precursor común. La glucosa y la fructosa (y en ocasiones la lactosa) son los principales reactivos identificados en esta reacción.

Hay estudios en los que se han identificado otras vías que pueden llevar a la formación de acrilamida, con precursores como acroleína, ácido acrílico y otros carbonilos. También existen estudios que sugieren que el amoníaco y la acroleína pueden jugar un papel muy importante en la formación de acrilamida en alimentos ricos en lípidos, aunque es necesario demostrar estos mecanismos en sistemas de alimentación reales.

3.3.2 Destino en los alimentos. (9)

Se sabe que la acrilamida es una molécula altamente reactiva. Puede reaccionar por mecanismos de iones y de radicales libres y por lo tanto su presencia en los alimentos, en su forma libre, fue inesperada. La observación de niveles relativamente elevados en ciertos alimentos ricos en carbohidratos, y niveles más bajos en alimentos ricos en proteínas, puede reflejar la relativa facilidad con que se forma en los primeros, o puede deberse a la volatilización o a otras reacciones entre acrilamida y componentes alimentarios en los últimos. Se cree que la

acrilamida podría reaccionar con cualquier componente alimentario mayor o menor que contenga grupos tiol, amino y, en un nivel mucho menor, hidroxilo.

En el caso de los alimentos a base de cereales la formación de acrilamida está determinada por el contenido de asparagina en la harina. El contenido de asparagina es mayor en la harina de grano entero que en las fracciones tamizadas, y también depende del tipo de cultivo del cereal. Según el tipo de cereal, la concentración de asparagina varía muy poco. Algunas de las vías sugeridas a través de la reacción de Maillard se resumen en la Figura 5. (12)

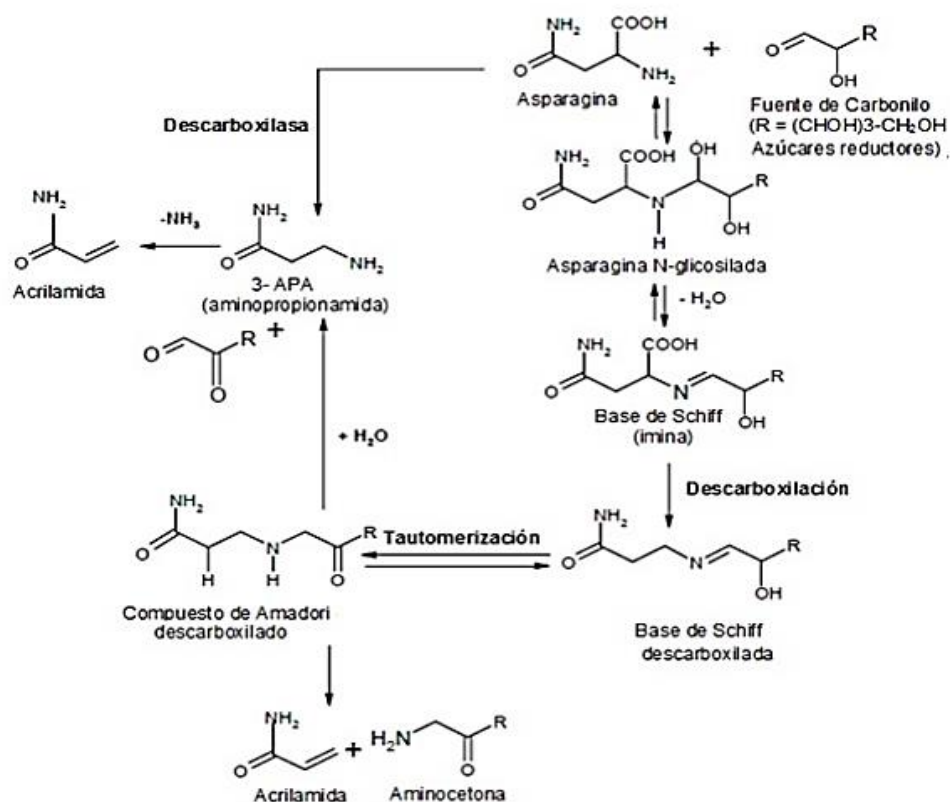


Figura N° 5: Algunas vías sugeridas para la formación de acrilamida a partir del aminoácido asparagina. (13)

La primera etapa (ver Figura N°5) es la reacción entre la asparagina libre y una fuente de carbonilo (reacción amino-carbonilo), resultando la asparagina N-glicosilada, la cual sufre deshidratación por altas temperaturas, para dar origen a

la base de Schiff (imina) estable. La base de Schiff sufre aún más la descarboxilación que resulta en una base de Schiff descarboxilada, que después de la tautomerización forma el compuesto de Amadori (descarboxilado). Posteriormente el compuesto de Amadori reacciona a través de la ruptura del enlace covalente carbono-nitrógeno y se forma la acrilamida intermedia, junto con una aminocetona. La base de Schiff descarboxilada puede descarboxilar, formando 3-aminopropionamida (3-APA), que a su vez forma acrilamida con la eliminación de amoníaco. Se ha sugerido que temperaturas más altas (100-180°C) ocurre la descarboxilación de la asparagina libre, formando 3-aminopropionamida el cual forma acrilamida, por lo tanto, no siempre se necesita la presencia de azúcares reductores para la producción de acrilamida en alimentos sometidos a altas temperaturas durante el proceso de elaboración.

La evidencia hasta ahora indica que la acrilamida se elimina a través de reacciones con diferentes constituyentes de diversos alimentos, como por ejemplo aminas y sulfidrilos. Reacciones rápidas de eliminación podrían explicar los bajos niveles de acrilamida encontrados en algunos tipos de alimentos, como es el caso de la carne. También, por encima de ciertas temperaturas, se ha visto que los niveles de acrilamida descienden. ⁽⁶⁾

3.3.3 Factores que afectan a la formación de Acrilamida. ⁽⁷⁾

- **Temperatura:** la formación de acrilamida se favorece a partir de 120 °C, alcanzando su formación óptima a 180 °C, aunque se ha descrito que por encima de ciertas temperaturas se incrementa su destrucción. En productos de cereal, cuanto más a menudo se calienta, más se destruye la acrilamida. En algunos casos, altas temperaturas de horno han sido asociadas con menos acrilamida, sugiriendo que hay reacciones simultáneas de formación y eliminación de acrilamida.

- **Contenido de agua y estado físico de la matriz del alimento:** Un pequeño incremento de la cantidad final de agua (del 1% al 2%) se ha visto que reduce la formación de acrilamida en patatas fritas.
- **Materia prima e Ingredientes:** debido a la variación natural de los niveles de asparagina y azúcares en las materias primas.
- **Almidón:** Se ha asociado la formación de acrilamida con alimentos ricos en almidón, pero no está probado que el propio almidón esté relacionado directamente.
- **Condiciones de los cultivos:** puede tener efecto en la variación de los precursores, siendo estas diferencias más significativas.

3.3.4 Medios disponibles para la reducción de acrilamida en alimentos. ⁽⁶⁾

La mayoría de las agencias de seguridad alimentaria, así como la OMS y la Comisión Europea, han elaborado un plan de acción en relación con la Acrilamida y han recomendado una serie de medidas, que se resumen a continuación:

Introducir “cambios culturales” en la dieta: consumir una dieta saludable, equilibrada, variada y rica en frutas y verduras y moderar el consumo de alimentos grasos y fritos. No cocinar excesivamente los alimentos.

Intensificar la investigación sobre este agente para conocer la magnitud real de sus efectos sobre la salud humana:

- Análisis de alimentos no analizados aún.
- Métodos analíticos más rápidos y baratos para poder ser utilizados en controles de rutina.
- Metabolismo de la acrilamida en el organismo humano.
- Estudios de toxicidad de acrilamida (carcinogenicidad).

- Desarrollo de alternativas para reducir los niveles de acrilamida: cambios en la formulación, proceso u otras prácticas.

Según se avanza en las investigaciones sobre Acrilamida se van proponiendo otras actuaciones para reducir la formación del compuesto, tanto para productos a base de patata como a base de cereales como para el pan, como se detalla a continuación:

3.3.5 Productos a base de cereales:

En relación con los productos a base de cereales, también han sido descritos muchos factores que pueden afectar al contenido final de Acrilamida.

- **Temperaturas/tiempo de horneado:** se recomienda reducir tanto las temperaturas como el tiempo de horneado.
- **Niveles de asparagina:** hay cereales que tienen más asparagina que otros, por ejemplo, el centeno contiene más que el trigo y la avena, y éstos más que el arroz y el maíz. También, la molienda del grano puede afectar a la asparagina; niveles más altos de acrilamida resultan de harinas menos molidas y de panes más oscuros.
- **Bajos niveles de azúcares reductores:** los niveles de los azúcares que están presentes de forma natural en los cereales aparentemente son difíciles de eliminar. Además, su influencia en la formación de acrilamida está menos clara que en el caso de las patatas.
- **Uso de agentes espesantes:** el uso del bicarbonato amónico se ha visto que aumenta el potencial para la formación de acrilamida, ya que el amoniaco parece ser un factor determinante en la misma.

Aplicando estas medidas parece bastante evidente que los niveles de acrilamida puedan llegar a disminuir. Recientemente, la Asociación Alemana para la

Industria de los Dulces (BDSI) ha comunicado que se ha llegado a reducir el contenido de acrilamida en dulces, galletas y otras “chucherías”, de media, un 10%. Los fabricantes de productos con contenidos de acrilamida especialmente elevados han sido advertidos para que modifiquen los correspondientes procesos de producción, ya que la clave está en la temperatura del proceso de producción y en la selección de la materia prima.

En general, la clave para disminuir la formación de Acrilamida está en la selección de materias primas y en los cambios en el proceso. ⁽⁶⁾

3.4 ABSORCIÓN, METABOLISMO, DISTRIBUCIÓN Y EXCRECIÓN. ⁽⁹⁾

- **Absorción:** La acrilamida se absorbe por todas las vías de exposición. Si bien los datos sobre la biodisponibilidad de las matrices alimentarias son limitados, se cree que la absorción es rápida y completa por vía oral en todas las especies.

- **Metabolismo y distribución:** Los estudios en animales han demostrado que la acrilamida y la glicidamida están ampliamente distribuidas en todos los tejidos corporales, y también en la leche. El principal metabolito de la acrilamida, la glicidamida, es un epóxido que puede ser más crítico para las propiedades carcinogénicas y genotóxicas en los animales que el compuesto madre. La acrilamida, más que la glicidamida, probablemente sea la responsable de su potencial neurotóxico.

El canal metabólico principal de acrilamida es cualitativamente similar en los humanos y en los animales de laboratorio, sin embargo, deben considerarse las diferencias cuantitativas al evaluar el riesgo para los humanos. Para el rango de dosis utilizado en estudios de toxicidad en animales, el grado de conversión del compuesto madre a glicidamida está inversamente relacionado con la cantidad de acrilamida en el organismo, cuanto menor sea la dosis, mayor la proporción

que se convierte en glicidamida. Debido a que el metabolismo y la eliminación incluyen canales con una variabilidad genética (por ejemplo, conjugación y metabolismo mediado por citocromo P450), puede haber variaciones en la sensibilidad de los humanos a los efectos de la acrilamida ingerida.

- **Excreción:** La vida media de eliminación de acrilamida y glicidamida es de alrededor de dos horas en las ratas. Hay pocos datos farmacocinéticos en humanos.

3.5 TOXICIDAD. ⁽⁶⁾

Numerosos estudios llevados a cabo en un gran número de especies animales han mostrado que el sistema nervioso es el principal órgano diana de las acciones tóxicas de la Acrilamida. Exposiciones repetidas a la Acrilamida causan cambios degenerativos en el sistema nervioso periférico (neuropatía periférica), mientras que a mayores dosis se observa atrofia muscular y testicular, así como disminución de los parámetros eritrocíticos.

El panel de expertos del Centro de Evaluación de Riesgos para la Reproducción Humana emitió un informe sobre la Toxicidad reproductiva y del desarrollo de la Acrilamida, cuyas conclusiones se detallan a continuación:

- **Toxicidad del desarrollo:** No hay información disponible en el caso de los humanos. En el caso de ratas y ratones hay datos suficientes para afirmar que la acrilamida es un tóxico en el desarrollo de las ratas, como se ha comprobado con el descenso importante del peso de la cría, después de haber suministrado a las madres acrilamida durante la gestación (4-5 mg/kg de peso corporal/día). En el caso de ratones, se ha visto un descenso del peso del feto.

- **Toxicidad reproductiva:** No hay información disponible en el caso de los humanos. En el caso de ratas y ratones, se vio que después de administrar

acrilamida en el agua de bebida, el tamaño de la camada era significativamente más pequeño. Uniendo animales tratados con no tratados se observó que el descenso del tamaño era mediado por el macho, indicativo de que había afectado genéticamente al esperma. Numerosos estudios indican que los efectos genéticos (expresados como mortalidad dominante) son el mayor componente de la toxicidad reproductiva en los machos.

No existen datos disponibles para evaluar la toxicidad reproductiva ni en el desarrollo en el caso de los humanos, solamente existen en ratas y ratones y podrían ser relevantes para los humanos, aunque son afirmaciones que están sin confirmar.

En cuanto a la absorción de la Acrilamida, en la exposición por inhalación se conoce que la absorción es muy alta. La biodisponibilidad por administración oral de agua de bebida es de aproximadamente el 50-75%, pero la biodisponibilidad de la Acrilamida en matrices de alimentos no se conoce.

Basándonos en los datos que indican, que las personas no fumadoras no expuestas ocupacionalmente a Acrilamida tienen pequeñas concentraciones en sangre de Acrilamida y de su metabolito la Glicidamida, debe ser asumido que la Acrilamida en alimentos al menos es parcialmente absorbida.

3.6 IMPACTO EN LA SALUD HUMANA. ⁽⁶⁾

Los efectos tóxicos de acrilamida sobre el sistema nervioso en los seres humanos después de altas exposiciones ocupacionales y accidentales están bien documentados.

Los estudios epidemiológicos humanos a las exposiciones industriales y accidentales por inhalación y contacto dérmico indican que el sistema nervioso es el principal afectado como resultado de tales exposiciones.

No existen datos para indicar que las exposiciones por estas rutas sean equivalentes a las exposiciones alimentarias.

Los estudios e investigaciones experimentales llevadas a cabo en animales han revelado que la acrilamida es genotóxica y causa problemas reproductivos y de desarrollo, así como cáncer.

En relación con el vínculo entre la acrilamida y los cánceres humanos, hasta el momento parece haber poca evidencia que lo apoye. Estudios publicados por la Escuela de Salud Pública de Harvard, que evalúan el impacto en la salud de la acrilamida en poblaciones suecas no encuentran evidencia de un riesgo más alto de cáncer de colon, de recto, de riñón y de vejiga como resultado de consumir acrilamida.

En general, los epidemiólogos creen que los niveles medios de acrilamida de la dieta no están aumentando el riesgo de cáncer humano.

El Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JEFCA) en su última reunión (Roma, febrero de 2005) determinó que los estudios disponibles en humanos no son apropiados para su uso en la evaluación de riesgos de acrilamida en alimentos.

3.6.1 Exposición humana a acrilamida. ⁽⁶⁾

Los humanos pueden estar expuestos a la acrilamida por ingestión de comida o bebida, por fumar, por contacto de la piel, o por exposición a vapores o partículas en el trabajo. Los datos disponibles para caracterizar estas rutas son muy limitados. El consumo relativo de acrilamida de diferentes fuentes se puede estimar midiendo los compuestos que se forman en la hemoglobina (se suelen usar como biomarcadores).

Consumo diario:

- La administración de medicamentos y alimentos (FDA) ha estimado un consumo de 0.43 $\mu\text{g}/\text{peso corporal}/\text{día}$. Este dato es muy parecido al estimado por la Comisión europea, 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg peso}/\text{día}$.
- Basado en el recuento de compuestos en la hemoglobina, se estima que el consumo diario de un fumador de 20 cigarrillos diarios es de 0.85 $\mu\text{g}/\text{kg peso}/\text{día}$.
- El consumo diario estimado por agua de bebida (ya que se suele usar la poliacrilamida para eliminar partículas en suspensión) es de 0.01 $\mu\text{g}/\text{kg peso}/\text{día}$ bebiendo 2 litros de agua.

En los seres humanos, el riesgo más importante por acrilamida es la neurotoxicidad.

La exposición a altas dosis de esta sustancia provoca cambios en el sistema nervioso central (SNC), mientras que la exposición prolongada a bajas dosis refleja como resultado neuropatía periférica en presencia o ausencia de complicaciones sobre el SNC. La acrilamida es tóxica en las células somáticas y germinales y posee el potencial de inducir daños hereditarios en los genes y cromosomas.

3.7 CARCINOGENICIDAD (INCLUYENDO GENOTOXICIDAD Y MECANISMOS DE CARCINOGENICIDAD). ⁽⁹⁾

La acrilamida es genotóxica in vivo para las células somáticas y germinales y se sabe que se metaboliza en Glicidamida, un epóxido químicamente reactivo que forma aductos de ADN. El descubrimiento de que la acrilamida produce tumores en diferentes sitios tanto en las ratas como en los ratones resulta coherente con el mecanismo de acción genotóxica de esta sustancia química. La presencia de

aductos en los sistemas experimentales indica que la carcinogénica producida por la acrilamida obedece a un mecanismo genotóxica. Aunque se ha sugerido que otros mecanismos de acción podrían contribuir a la aparición de la gama de tumores observados en las ratas tratadas con acrilamida, en 29 particular tumores de tejidos sensibles a la acción de las hormonas, por el momento estas sugerencias son meramente especulativas.

- Carcinogenicidad:

a. Datos en animales

La acrilamida es carcinogénica en ratas de laboratorio en bioensayos estándar de 2 años, produciendo mayores incidencias de una cantidad de tumores benignos y malignos identificados con diversos órganos (por ejemplo, tiroides, adrenales). Dos estudios separados, independientes, han confirmado este fenómeno con una dosis 2 mg/kg por día, administrada en el agua potable. También hay una indicación de tumores en el cerebro y la médula espinal, y en otros tejidos.

b. Datos en humanos

Se han llevado a cabo estudios epidemiológicos en una cohorte de más de 8,000 trabajadores expuestos a acrilamida en plantas de producción de monómeros y polímeros durante 1925 – 1976. Una evaluación realizada en 1983 no reveló riesgos excesivos estadísticamente significativos de cáncer en ningún órgano, y no se observó ninguna tendencia en mortalidad por cáncer al aumentar la exposición acumulada.

Los datos de esta cohorte fueron luego actualizados para el período 1984 – 1994, y nuevamente no se observaron riesgos excesivos de cáncer estadísticamente significativos, con la única excepción de cáncer de páncreas para el cual se halló una duplicación del riesgo en los trabajadores más expuestos. El poder estadístico de este estudio fue adecuado para detectar una incidencia de exceso

de cáncer de cerebro, un aumento del 40% de cáncer de páncreas, un 15% de aumento de cáncer de pulmón, o un 9% de aumento de todos los cánceres combinados. Todos los estudios epidemiológicos tienen un poder limitado para detectar pequeños aumentos en la incidencia de tumores. Por lo tanto, la falta de resultados positivos hallados en la mayoría de los estudios sobre acrilamida no puede ser interpretada como prueba de que la sustancia no puede inducir cáncer en humanos.

Los niveles de exposición en este estudio están expresados como concentraciones en el aire, multiplicadas por la duración de la exposición (por inhalación). La exposición dérmica, que también tuvo posibilidad de ocurrir, no fue cuantificada. Es difícil comparar la ingesta diaria resultante con los niveles de acrilamida que se han medido en los alimentos.

- Genotoxicidad

La acrilamida no induce mutaciones genéticas en las bacterias, pero el metabolito epóxido glicidamida lo hace en ausencia de activación metabólica. La acrilamida mostró resultados equívocos, negativos, o débilmente positivos cuando se evaluó en cuanto a inducción de mutaciones genéticas en células de mamíferos. La acrilamida induce aberraciones cromosómicas, micronúcleos, intercambio de cromátidas gemelas, poliploidia, aneuploidia y otros trastornos mitóticos (por ej., mitosis C) en células de mamíferos en ausencia de activación metabólica. La acrilamida no pudo inducir síntesis no programada de ADN en hepatocitos de ratas. La glicidamida indujo UDS en células mamarias humanas, con resultados equívocos en hepatocitos de ratas. Para la inducción de micronúcleos, se demostró un mecanismo mixto ruptura (predominante)- aneuploidia.

La acrilamida es un mutágeno de células germinales en roedores, con el potencial de inducir daño genético hereditario a nivel genético y cromosómico. La acrilamida deteriora la fertilidad de las ratas macho, muy probablemente

mediante un efecto tóxico directo. No es claro si la acrilamida tiene un efecto adverso sobre la fertilidad mediante daño genético.

3.8 PAN DULCE.

3.8.1 Historia de la panificación en El Salvador y su evolución. (10)77

Son muy pocos las tradiciones gastronómicas que quedan en El Salvador; por generaciones se ha consumido el pan dulce en la hora de la tarde. Este es acompañado por una taza de café. Este producto tan querido y apreciado por muchos no es originario de El Salvador, pero su consumo es una costumbre la cual se ha vuelto típica. Por ser un país con poca extensión no existe una zona marcada ni definida del consumo ni orígenes exactos de su elaboración. La migración desde el tiempo de la conquista ha creado que este se propague en toda la región. No existen registros exactos lo cual dificulta el posicionamiento geográfico del pan dulce en El Salvador. Una gran parte de población mundial no conoce sobre los orígenes ni la evolución que ha sufrido el pan con el paso de los siglos.

El origen del pan dulce salvadoreño se remonta a la llegada de los españoles. Se sabe que ya en épocas de los años de 1700 se elaboraba un pan con miel o jalea de sabor dulce. Más reciente en los años 1800 existió un grupo de alemanes que radicaron en la zona de oriente del país, los 2 cuales trajeron la costumbre de que en navidad comían un pan dulce el cual era elaborado con levaduras y mazapán cuyo nombre es pan de cristo o stollen. El pan dulce en la actualidad está presente en todo el país. Su migración fue de la zona occidental a la central, posteriormente se dirigió al oriente del territorio salvadoreño. Al principio la panadería en nuestro país fue aprendida de una generación familiar a la siguiente, durante los primeros tiempos de la colonia; utilizando procesos

artesanales los cuales se pueden ver a lo largo de las pequeñas panaderías en áreas rurales. Fue hasta el siglo XX que la panadería recobro un desarrollo importante, y dio un salto industrial.

La producción de pan dulce en su mayoría ha sido artesanal. Son pocas las empresas que han dado un salto industrial. Pan Lido la cual fue fundada en 1950 fue la primera en dar este salto tecnológico: y se debió al incremento de la demanda nacional.

3.8.2 Normativas salvadoreñas obligatorias para el pan dulce y etiquetado nutricional. ⁽³⁾

El etiquetado obligatorio de los productos de consumo permite realizar una compra moral, así como evitar determinados problemas de salud como alergias. Es obligatoria en la mayoría de las naciones desarrolladas, y cada vez más en países en desarrollo, especialmente para productos alimenticios su implementación. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) una rama del gobierno de El Salvador a tratado en los últimos años ayudar al sector de panificación por medio de la norma NSO 67.30.01:04 la cual muestra las disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales que deben de cumplir los productos de panificación específicamente el pan dulce.

Esta entidad gubernamental ha creado documentos los cuales rigen la producción específicamente del pan dulce. “Pan dulce: producto de panificación constituido por harina, agua, huevo, azúcares, grasas o aceites comestibles o aceites hidrogenados, levaduras, adicionada o no de aditivos para alimentos, frutas en cualquiera de sus presentaciones, sal y leche; amasado, fermentado, moldeado y cocido al horno o por fritura en grasas o aceites comestibles.” (NSO 67.30.01:04), un pan dulce no se puede llamar de tal manera si este no cumple con el requisito de las proporciones adecuadas.

Existe una clasificación para los diferentes tipos de panes dulces, estos se delimitan por sus materias primas las cuales son únicas en cada uno. Entre estas se encuentran panes, panes especiales, pan con otro ingrediente vegetal, pan con productos de origen animal y panes para regímenes especiales. ⁽³⁾

3.8.3 Materias primas para elaboración de pan dulce. ⁽¹²⁾

a. Harina

Según la definición del Reglamento Sanitario de los Alimentos (RSA) en el Artículo 347: Harina sin otro calificativo, es el producto pulverulento obtenido por la molienda gradual y sistemática de granos de trigo de la especie *Triticum aestivum sp.vulgare*, previa separación de las impurezas, hasta un grado de extracción determinado. Dicho de otro modo, la harina es el producto obtenido de la molienda del endospermo del grano de trigo, que posee las características para la elaboración de pan, ya que contiene dos proteínas insolubles (gliadina y glutenina), que al unirse en presencia de agua forman el gluten.

- Tipos de harinas:

Las harinas se clasifican teniendo en cuenta la variedad de trigo con las que fueron elaboradas:

- Harina dura o fuerte para panificación: son harinas con alto contenido de proteínas (10-17%).
- Harina suave o floja para galletería y bizcochería: estas harinas tienen un bajo contenido de proteínas (8-10%).
- Semolina o harina para pastas: es una harina granulosa.
- Harina integral: está compuesta por todas las partes del grano. Pueden ser duras o suaves.

En el mercado se pueden encontrar harinas enriquecidas, mezclas de harinas y harinas acondicionadas. Desde el punto de vista panadero las harinas fuertes o duras dan panes de buen volumen y aceptan más agua, proporcionando un rendimiento mayor.

Por otra parte, las harinas débiles o suaves son aquellas que dan panes de bajo volumen, aceptan menos agua y logrando un bajo rendimiento. Por lo tanto, la formación del gluten es un componente esencial en el proceso de panificación, siendo un factor importante que determina la calidad final del pan.

b. Levadura

Es el principal microorganismo responsable de la fermentación de la masa. La levadura que se emplea en panificación es *Saccharomyces cerevisiae*. Su principal función, es transformar los azúcares de la harina y del azúcar adicional, para producir el gas dióxido de carbono y etanol, de esta forma la masa se expande en sus diversas etapas de procesamiento, gracias a esto se convierte la masa cruda en un producto ligero que al hornearse es 100% digerible, con el sabor característico al pan.

A continuación, se muestra en forma simplificada la acción de las levaduras:

Azúcar Simple + Etanol + Dióxido de Carbono



La levadura necesita ciertos factores para actuar, estos son: azúcares para alimentarse, obteniéndolos de la harina y del azúcar adicional; humedad para activarse y asimilar los nutrientes necesarios para su desarrollo; materiales nitrogenados, obtenidos del nitrógeno de la proteína de la harina; minerales o sales minerales para una actividad vigorosa y temperatura para encontrarse en condiciones favorables para su desarrollo, para ello se recomienda utilizar temperaturas de 26–28°C.

La levadura se encuentra disponible en varias formas, como levadura fresca también llamada levadura prensada o de panadero, levadura seca activa y levadura instantánea. La más utilizada por los panaderos es la levadura prensada, pues presenta una alta eficacia y economía.

c. Sal

La función principal de la sal en la elaboración del pan es la de contribuir en el sabor del producto final. Por otra parte, la sal ejerce un efecto inhibitor sobre la formación de gluten durante el mezclado, también tiene un efecto significativo sobre la presión osmótica de la célula de levadura y así se utiliza para controlar la velocidad de fermentación. Otras funciones que cumple la sal son: mejorar las propiedades plásticas de la masa, aumentando su tenacidad, resaltar los sabores de otros componentes, permitir una hidratación superior de la masa, restringir la actividad de las bacterias ácidas en la masa, y favorecer la coloración de la corteza, mejorando el aspecto del pan, produciendo una corteza más fina y agradable.

d. Agua

El agua tiene como función principal formar la masa, pues facilita la unión de todos los componentes. Es importante determinar la cantidad de agua para que las proteínas se unan y formen el gluten. El nivel óptimo de agua es la cantidad máxima que puede entrar en la masa y aun así ser capaz de moldear las piezas y dar un pan de calidad aceptable, dependiendo directamente de las propiedades de la harina, Otras de las funciones del agua son: hidratar el almidón, permitir el desarrollo de la levadura, determinar la consistencia de la masa, permitir controlar la temperatura de la masa, evitar la resequedad de la masa en el horno, posibilitar la propiedad de extensibilidad y plasticidad de la masa, permitiendo que crezca por la acción del CO₂ producido en la fermentación, y hacer posible la porosidad y el buen sabor del pan.

e. Azúcar (sacarosa)

Este ingrediente sirve de alimento para la levadura, es responsable de la coloración de la corteza del pan, debido a su caramelización, además actúa como conservador, porque aumenta la presión osmótica, inhibiendo la proliferación de microorganismos, absorbe la humedad debido a la capacidad higroscópica de algunos azúcares.

f. Leche

En el proceso de panificación se utiliza leche líquida entera o descremada, en polvo, o condensada. La más utilizada en la panificación es la descremada en polvo.

La leche mejora la apariencia del pan, le proporciona color a la corteza, pues la lactosa se carameliza, le confiere una coloración característica a la miga, mejora la textura, aumenta la suavidad, eleva el valor nutritivo, proporciona proteínas, mejora el sabor, aumenta la absorción del agua, y mejora la conservación, ya que retiene la humedad.

g. Materia grasa

Se emplean diversos tipos de materia grasa de acuerdo con la formulación, estas son: materia grasa animal o vegetal, mantecas vegetales hidrogenadas y aceite hidrogenado.

En el proceso de panificación la materia grasa aumenta el valor nutritivo del producto, ayuda a fijar los líquidos, facilita el trabajo de las mezcladoras, se obtienen productos más suaves y manejables, evita la pérdida de humedad de las masas, y lubrica el gluten manteniéndolo elástico. Además, mejora la conservación, pues la grasa disminuye la pérdida de humedad, manteniendo el pan fresco.

h. Polvo Para Hornear

Es un producto químico que se utiliza en panadería para elevar una masa, confiriéndole esponjosidad.

i. Huevo

Las yemas de huevo junto con la grasa en un pan de levadura ablandan la proteína presente en la harina de trigo. Esta proteína forma gluten durante el amasado, lo que hace que el pan sea duro, las claras también actúan para ayudar a la levadura del pan, sobre todo si tienen aire batido en ellas antes de añadirlas a la masa del pan.

3.8.4 Proceso de panificación. ⁽¹²⁾

El proceso de panificación consta de operaciones secuenciales y sencillas, es un proceso que involucra cambios químicos y físicos importantes.

A continuación, se detalla las principales operaciones:

a. Recepción de materias primas: Proceso donde se obtienen todas las materias primas y son analizadas para verificar su calidad

b. Pesaje y dosificación: Aquí se realiza el pesaje de las materias primas de acuerdo con la formulación con la que se va a elaborar el pan.

c. Mezclado o amasado: Consiste en la distribución uniforme de los componentes y la formación y desarrollo del gluten, tiene como finalidad formar una masa elástica, consistente y homogénea.

d. Etapas del amasado:

- **Incorporación:** durante este período los ingredientes se combinan en una masa húmeda y pegajosa.
- **Desarrollo preliminar:** la masa adquiere una consistencia pastosa.
- **Comienzo de la elasticidad:** comienza el desarrollo del gluten.

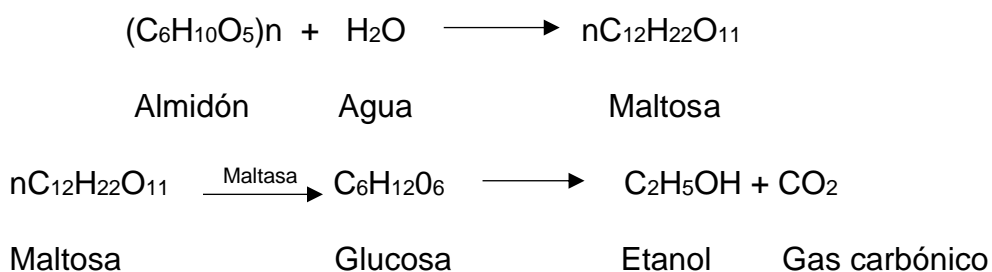
- **Desarrollo final del gluten:** la masa se torna tersa, seca y elástica.

Si se amasa en exceso, la masa se vuelve húmeda, muy pegajosa, brillante, con ninguna o muy poca elasticidad. Esto se debe a que el gluten se destruye y por ello el producto resultante será de mala calidad.

e. Fermentación

El proceso de fermentación se produce espontáneamente, y se activa por medio de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Las diastasas de la harina por acción de la levadura transforman el almidón en dextrina y luego ésta se transforma en maltosa.

A continuación, se muestra la transformación del almidón a glucosa:



Se presentan otros tipos de fermentaciones como la acética, láctica y butírica que le proporcionan sabor y aroma al pan. El gas al dilatarse por la acción del calor produce los llamados ojos del pan, la coagulación del gluten y la hinchazón del almidón.

La fermentación comprende todo el tiempo transcurrido desde la mezcla hasta que el pan entre al horno. Es por eso por lo que se ha dividido en tres etapas.

- **Fermentación de la masa:** es la primera fermentación que ocurre entre el final del amasado y el comienzo del laminado.
- **Fermentación intermedia:** esta ocurre entre el laminado y corte. Es llamada fermentación de prueba intermedia.
- **Fermentación final:** Se le conoce también como leudación.

f. Laminado

Luego del amasado, la masa es extendida con la ayuda de un rodillo o de una laminadora, para extraer completamente el gas.

e. División o corte

En esta etapa la masa es cortada en trozos o en las porciones de panes que se vayan a elaborar. El objetivo de esta operación es asegurar un tamaño uniforme y el mismo rendimiento de cada porción de la masa.

h. Leudación o fermentación final

Esta fermentación ocurre posterior a la división o corte, se realiza a una temperatura de 30-35°C, con una humedad relativa entre 80-85%, para evitar la sequedad de la corteza. Este es un periodo de fermentación acelerada para airear y dar a la masa un buen volumen haciendo que la miga del pan se forme bien y sea pareja.

i. Horneo

Esta es la etapa final del proceso de panificación, su objetivo es la cocción de las masas transformándolas en un producto alimenticio apetitoso y digerible.

Durante la cocción ocurren cambios químicos y físicos importantes detallados a continuación: Aumenta la actividad de la levadura y produce grandes cantidades de CO₂. A los 45°C, se inactiva la levadura, terminándose todo aumento de volumen a los 50°C, pues se produce su muerte. Por otra parte, la enzima diastasa transforma el almidón en maltosa, terminando la acción de la diastasa a los 77°C. Entre los 60-80°C, se presenta la coagulación de las proteínas del gluten y además se gelatiniza el almidón con pérdida de plasticidad, adquiriéndose la estructura definitiva del pan. Finalmente, la caramelización de la capa externa del pan se inicia desde los 110-120°C. La máxima temperatura

interna que alcanza el pan es de 100°C, y la externa es de 190-270°C, a esta temperatura el pan está cocido.

j. Enfriamiento

Terminada la cocción, el pan es enfriado antes de ser almacenado. Este enfriamiento se realiza sobre las mesas de trabajo o estantes ventilados.

3.9 MÉTODOS INSTRUMENTALES DE IDENTIFICACIÓN. (7)

Los métodos instrumentales ofrecen numerosas ventajas en comparación con otros métodos. En general son rápidas, no destructivas y requieren una preparación mínima de la muestra y menor consumo de productos químicos.

Sin embargo, el equipo puede ser costoso y las mediciones a menudo requieren establecer curvas de calibración específicas para diversas composiciones.

A pesar de estos inconvenientes, los métodos instrumentales son muy utilizados en control de calidad aplicados a la investigación.

La espectroscopia se ocupa de la producción, medida, e interpretación de los espectros que se presentan de interacción de la radiación electromagnética con la materia.

Los métodos espectroscópicos están siendo ampliamente utilizados para los análisis cuantitativos y cualitativos.

Los métodos espectroscópicos basados en absorción o emisión de la radiación en el ultravioleta (UV), visible (Vis), el infrarrojo (IR), y RMN (de resonancia magnética nuclear) son los más comúnmente encontrados en los laboratorios de análisis de alimentos.

3.9.1 Espectroscopia Infrarroja. ⁽⁷⁾

La región infrarroja del espectro electromagnético abarca la radiación con números de onda comprendidos entre 12.800 a 10 cm^{-1} , que corresponden a longitudes de ondas de 0.78 a $1.000 \mu\text{m}$.

Tanto desde el punto de vista de las aplicaciones como de la instrumentación, es conveniente dividir el espectro infrarrojo en tres regiones denominadas infrarrojo cercano, intermedio o fundamental y lejano; las Técnicas y aplicaciones de los métodos basados en cada uno de las tres regiones del espectro infrarrojo difieren considerablemente.

Los espectrómetros infrarrojos son una de las herramientas más importantes para observar espectros vibracionales. Las características más relevantes de esta espectroscopía son las siguientes. ⁽⁸⁾

- Es posible, mediante el uso de dispositivos experimentales adecuados, obtener espectros infrarrojos sin alteración de la muestra, lo que constituye a esta espectroscopía como una herramienta de análisis no destructiva.
- Una sustancia definida puede identificarse por su espectro infrarrojo. Estos espectros pueden ser considerados como las huellas digitales de dicha sustancia.
- Los espectros muestran bandas que son típicas de grupos funcionales particulares y que tienen localizaciones e intensidades específicas dentro de los espectros infrarrojos.

3.9.2 Espectrómetro infrarrojo por transformada de Fourier. ^(8, 7)

Un espectrómetro por transformada de Fourier consta de tres elementos básicos: una fuente luminosa, un interferómetro de Michelson y un detector.

Su funcionamiento es el siguiente: un haz colimado, proveniente de una fuente que emite en toda la región infrarroja, incide sobre un divisor de haz. El haz incidente se divide en dos haces perpendiculares de igual energía, uno de los cuales incide sobre el espejo móvil y el otro sobre el espejo fijo. Los haces son reflejados por ambos espejos y se recombinan al llegar al divisor de haz. Esto da lugar a una interferencia, la cual puede ser constructiva o destructiva dependiendo de la posición relativa del espejo móvil con respecto del espejo fijo.

El haz resultante pasa a través de la muestra, en donde sucede una absorción selectiva de longitudes de onda y, finalmente, llega al detector. La información recabada por el detector se utiliza para obtener el interferograma, el cual es digitalizado.

Una computadora desarrolla el cálculo aproximado de la transformada de Fourier del interferograma. La gráfica debe corresponder al espectrograma digitalizado, y es desplegada en la pantalla de una computadora.

La aparición en la última década de equipos de espectroscopia Infrarroja de transformada de Fourier ha aumentado notablemente el número y tipo de aplicaciones de la radiación de la región en el infrarrojo fundamental. La razón de este incremento radica en el aumento de la relación señal / ruido y de los límites de detección, en un orden de magnitud e incluso mayor que puede conseguirse con los instrumentos con interferómetros, los cuales se utilizan en análisis tanto cualitativos como cuantitativos. También han empezado a parecer aplicaciones de esta región espectral en los estudios microscópicos de superficies, análisis de sólidos mediante Reflectancia Total Atenuada. (7)

La Espectroscopia en el IR-medio mide la habilidad de las muestras de absorber radiación térmica en la región que está comprendida entre $2.5 - 1.5 \mu\text{m}$ ($4000 - 659 \text{ cm}^{-1}$). Las absorciones fundamentales son observadas primeramente en esta región del espectro.

Para la espectroscopia IR-Medio existen dos tipos de espectrómetros los cuales son:

- Instrumentos dispersivos, los cuales usan un monocromador para dispersar las frecuencias individuales de la radiación y secuencialmente pasar a través de la muestra de tal manera que la absorción de cada frecuencia pueda ser medida.
- Los instrumentos de la transformada de Fourier, en los cuales la radiación no se dispersa, sino más bien, todas las longitudes de onda llegan al detector simultáneamente y un tratamiento matemático, llamado Transformada de Fourier, es usado para convertir los resultados en un espectro IR típico. Este equipo en vez de un monocromador posee un interferómetro.

3.9.4 Análisis Cualitativo. ⁽⁷⁾

Para la identificación de los compuestos orgánicos está generalizado el uso de espectroscopia infrarroja por los químicos analistas. El análisis cualitativo consta de dos etapas. La primera etapa implica la determinación de los grupos funcionales y la segunda etapa consiste en la comparación detallada del espectro del compuesto desconocido con los espectros de compuestos puros que contienen todos los grupos funcionales encontrados en la primera etapa.

En este caso es particularmente útil la región de la huella dactilar, comprendida entre 1200 cm^{-1} – 600 cm^{-1} , en esta región es donde los compuestos orgánicos presentan sus señales características. El centro de frecuencias y la intensidad relativa de las bandas de absorción pueden ser utilizadas para identificar grupos funcionales específicos presentes en una sustancia desconocida.

CAPITULO IV
DISEÑO METODOLOGICO

4.0 DISEÑO METODOLOGICO

4.1 TIPO DE ESTUDIO

- **Experimental:** El estudio se realizó en el Laboratorio Físicoquímico de Aguas de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, al analizar pan dulce (Artesanal), con el objetivo de identificar la presencia de acrilamida en diferentes variedades seleccionadas de mayor preferencia para el consumidor, comparando cada resultado contra el espectro patrón para la identificación de acrilamida.
- **Transversal:** Es transversal ya que la recolección de muestras y la parte práctica se realizó en los meses de junio – agosto de 2018 y enero 2019.
- **Exploratorio:** a través de la investigación se pudo obtener información sobre la posibilidad de llevar a cabo una investigación más completa sobre la temática de dicho estudio, además permitió hacer una revisión de la literatura relacionada con la misma. Para ello se elaboró una guía de observación con las diferentes clases de pan dulce de mayor consumo de elaborado de forma artesanal en el país.
- **De Campo:** se elaboró una guía de observación para la selección de las diferentes variedades de pan dulce de mayor consumo en el área urbana del municipio de Santa Ana, departamento de Santa Ana, El Salvador.

4.2 INVESTIGACION BIBLIOGRAFICA

La investigación bibliográfica se realizó en las siguientes bibliotecas:

- “Dr. Benjamín Orozco” de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.
- Central de la Universidad de El Salvador.
- “P. Florentino Idoate, S.J.” de la Universidad Centroamericana José Simeón Cañas.
- Internet

4.3 INVESTIGACIÓN DE CAMPO

Para la identificación de Acrilamida en pan dulce artesanal que se comercializa en la zona del área urbana del municipio de Santa Ana, departamento de Santa Ana, El Salvador, se seleccionaron cuatro colonias específicas localizadas en diferentes puntos de la ciudad las cuales son (ver Anexo N° 2):

- Ivu
- Lamatepec
- Barrio Nuevo
- Altos del Palmar

En las cuales se seleccionó una panadería que realiza procedimientos artesanales y de mayor demanda en consumo por los residentes.

Se visitaron las panaderías donde se entrevistó al productor el cual mediante una guía de observación (ver Anexo N° 3), nos ofrece la fuente de información necesaria para identificar cuáles son las variedades de pan dulce artesanal que más se comercializan, tomando como referencia la cantidad producida de pan diariamente y la variedad de mayor preferencia por los clientes, obteniendo el promedio de las 10 variedades de pan más comercializadas en las 4 panaderías.

Tabla N°1: Resultado obtenido de acuerdo a la guía de observación, de las variedades de pan dulce artesanal más consumidas en las panaderías seleccionadas del área urbana de Santa Ana, Santa Ana, El Salvador.

N°	Presentación	Porcentaje más consumido por la población según las 4 panaderías observadas	Precio (\$)
1	Salpor de arroz	13	0.15
2	Salpor de almidón	17	0.15
3	Quesadilla	15	0.50
4	Yoyo	4	0.20
5	Torta seca	8	0.20
6	Pastelito de leche y piña	10	0.20
7	Semita	9	0.50
8	Mieluda (pepercha)	6	0.15
9	Viejita	5	0.15
10	Quequito	13	0.25

4.3.1 Universo:

Todas las variedades de pan dulce artesanal que se comercializan en el área urbana del municipio de Santa Ana, Santa Ana, El Salvador.

4.3.2 Muestra:

Para determinar el número de muestras que se analizaron en las diez variedades más comercializadas de las panaderías seleccionadas se utilizó la siguiente ecuación:

$$n = \frac{Z\alpha^2 * p * q}{d^2}$$

En donde:

$Z\alpha^2$ = nivel de confianza,

p = probabilidad de éxito, o proporción esperada

q= probabilidad de fracaso

d = precisión (error máximo admisible en términos de proporción)

Datos:

Z α^2 =1.96 **P**=0.05 **q**=0.90 **d**=0.05

$$n = \frac{1.96^2 \times 0.05 \times 0.90}{0.05^2}$$

n= 69.14= 70 muestras

Estas muestras se dividen entre las 10 variedades para obtener el número total de muestras por cada una de las variedades seleccionadas.

$$\frac{70 \text{ muestras en total}}{10 \text{ variedades}} = 7 \text{ Muestras de cada variedad seleccionada.}$$

Del estadístico se analizaron 70 muestras en total de pan dulce artesanal distribuidas entre las 10 variedades más comercializadas dentro del área delimitada, empleando 10 g por cada muestra.

4.3.3 Toma de muestra

Se recolectaron las muestras de las variedades seleccionadas de pan dulce artesanal según la guía observacional en el área urbana del municipio de Santa Ana, de las 4 panaderías seleccionadas según los puntos de mayor comercialización (ver Anexos N°2 y N°3).

Las muestras fueron recolectadas y almacenadas en bolsas plásticas selladas, posteriormente se rotularon con la etiqueta (ver Anexo N° 4).

Luego las muestras se transportaron en cajas desde las panaderías hasta el Laboratorio Físicoquímico de Aguas de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, donde se procedió a realizar la parte experimental.

4.4 PARTE EXPERIMENTAL.

Equipo, estándar, materias primas y materiales (ver Anexo N ° 8).

4.4.1 Preparación de solución estándar de acrilamida al 2%.

- Se pesó 0.5 gramos de estándar sólido de acrilamida en una balanza analítica, en un beaker de 25.0 mL.
- Luego se adiciono 10.0 mL de agua ultra pura, para disolver el estándar y ser transferido a un balón volumétrico de 25.0 mL.
- Posteriormente se realizaron lavados en el beaker transfiriéndolo al balón volumétrico hasta alcanzar el nivel de aforo.
- Luego se obtuvo el espectro de la solución de estándar de acrilamida al 2% (ver procedimiento 4.4.3).

4.4.2 Procedimiento de preparación de la muestra y obtención de espectro infrarrojo:

- Se trituro la muestra de pan con ayuda de mortero y pistilo.
- Se pesaron 10 g de cada muestra de pan dulce artesanal, en un beaker de 100.0 mL.
- Posteriormente se agregó 25 mL de agua ultra pura para solubilizar la acrilamida.
- Se agito la mezcla para favorecer la extracción y se dejó macerar durante 2 horas tapados con papel parafilm.

- Luego se filtró al vacío con papel filtro de poro N°40 para eliminar cualquier matriz en la solución obtenida.
- Se concentró durante un tiempo de 15 min.
- Se tomó el pH de la muestra concentrada con tiras de papel indicador pH.
- Luego se comparó con la tabla de color para verificar el pH de la solución.
- Luego se pasó a través de un filtro de membrana de 0.45 μm .
- Se preparó el equipo con la celda de unidad de Reflectancia Total Atenuada (ATR) (ver Anexo N°7).
- Después de haber obtenido la solución, se colocó en la celda de (ATR) Espectrofotometría infrarroja y se procede a obtener el espectro infrarrojo (ver procedimiento 4.4.3).
- Se obtuvo el espectro infrarrojo y se realizó una limpieza con agua y un paño suave después de cada lectura entre cada muestra.
- Los espectros de las muestras obtenidos, se compararon con un espectro patrón de trabajo; con el fin de identificar si hay similitud en ambos espectros y determinar la presencia de acrilamida en las muestras recolectadas de pan dulce artesanal.

4.4.3 Procedimiento de obtención de espectros infrarrojos para la identificación de acrilamida para muestra (Pan Dulce Artesanal) y Estándar.

- Se encendió el espectrofotómetro IR y la computadora
- Se dio inició el programa IR-Solution.
- Se conectó el computador por medio del programa con el espectrofotómetro IR utilizando el comando "Measure", comando "Admin", Inicializar. Dejar un tiempo de equilibrio de 15 minutos.
- Permitiendo que el programa registrara las condiciones del equipo y que reconozca automáticamente el accesorio ATR.

- Dejándose correr un barrido de las condiciones iniciales del equipo con la unidad ATR armada sin muestra como sigue: utilizar el comando "Measure", y presionar "BKG" para obtener el espectro blanco.
- Para el caso de estándar se tomó una cantidad de la solución con una pipeta y se colocó distribuida uniformemente en el cristal de la celda Unidad de Reflectancia Total Atenuada (ATR) del Equipo de Espectrofotometría Infrarroja.
- Se analizó el estándar presionando el comando "Measure", coleccionar la información de la muestra en el espacio "coment" y presionar en "Sample" para obtener el espectro correspondiente para identificar la muestra de los 4000 a los 500 cm^{-1} .
- Luego se limpió la celda con agua y un pañuelo suave.
- Para la obtención del espectro de la muestra se tomó una cantidad del extracto de la muestra con una pipeta y se colocó distribuida uniformemente en el cristal de la celda Unidad de Reflectancia Total Atenuada (ATR) del Equipo de Espectrofotometría Infrarroja.
- Se analizó la muestra presionando el comando "Measure", coleccionar la información de la muestra en el espacio "coment" y presionar en "Sample" para obtener el espectro correspondiente para identificar la muestra de los 4000 a los 500 cm^{-1} .
- Luego se limpió la celda con agua y un pañuelo suave entre cada muestra.
- Se compararon cada uno de los espectros obtenidos por muestra, con el estándar de trabajo.

CAPITULO V
RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.0 RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

Para realizar la presente investigación, se planteó lo siguiente:

Se analizaron 90 muestras de pan dulce artesanal divididas en 2 etapas para la identificación de acrilamida, siguiendo el orden de cumplimientos de objetivos en ambas.

5.1 PRIMERA ETAPA.

5.1.1 Selección de las variedades de pan dulce artesanal para la identificación de acrilamida, basados en una guía de observación.

Mediante una guía observacional (Ver anexo N° 3) se determinaron cuáles eran las variedades de pan dulce artesanal más consumidas en las 4 panaderías seleccionadas en la zona del área urbana del municipio de Santa Ana, departamento de Santa Ana, El Salvador. Tomando como referencia la cantidad producida de pan diariamente y la variedad de mayor preferencia por los clientes, obteniendo el promedio de las 10 variedades de pan más comercializadas.

Además, se determinó el número de muestras por variedad y cantidad de Muestra total (ver tabla N°3).

Tabla N° 2: Cantidad de muestra por cada variedad de pan dulce artesanal.

N° de muestras	Variedad	Cantidad de muestra por variedad.
1	Salpor de arroz	7
2	Salpor de almidón	7
3	Quesadilla	7
4	Yoyo	7
5	Torta seca	7
6	Pastelito de leche y piña	7
7	Semita	7

Tabla N° 2: (Continuación)

8	Mieluda (peperecha)	7
9	Viejita	7
10	Quequito	7
Cantidad de muestras total		70

Posteriormente se relacionó el número de muestras tomada por cada variedad, entre la cantidad de muestra total, para obtener un porcentaje por cada una de las diez variedades de pan dulce artesanal que fueron analizadas.

$$\%X = \frac{\text{Numero de muestra por variedad}}{\text{Cantidad de muestra total}} \times 100$$

Ejemplo:

Para la variedad Salpor de Arroz es:

$$\%X = \frac{7}{70} \times 100 = 10\%$$

De esta forma el porcentaje de muestras de pan dulces artesanal analizados, para cada marca está representado en la tabla N°4 y por consiguiente se representa gráficamente en la siguiente figura N° 11:

Tabla N° 3: Porcentaje de cada una de las variedades de pan dulce artesanal.

Variedades	% de Variedad de Pan dulce artesanal analizado
Salpor de arroz	10%
Salpor de almidón	10%
Quesadilla	10%
Yoyo	10%
Torta seca	10%
Pastelito de leche y piña	10%
Semita	10%
Mieluda (peperecha)	10%
Viejita	10%
Quequito	10%

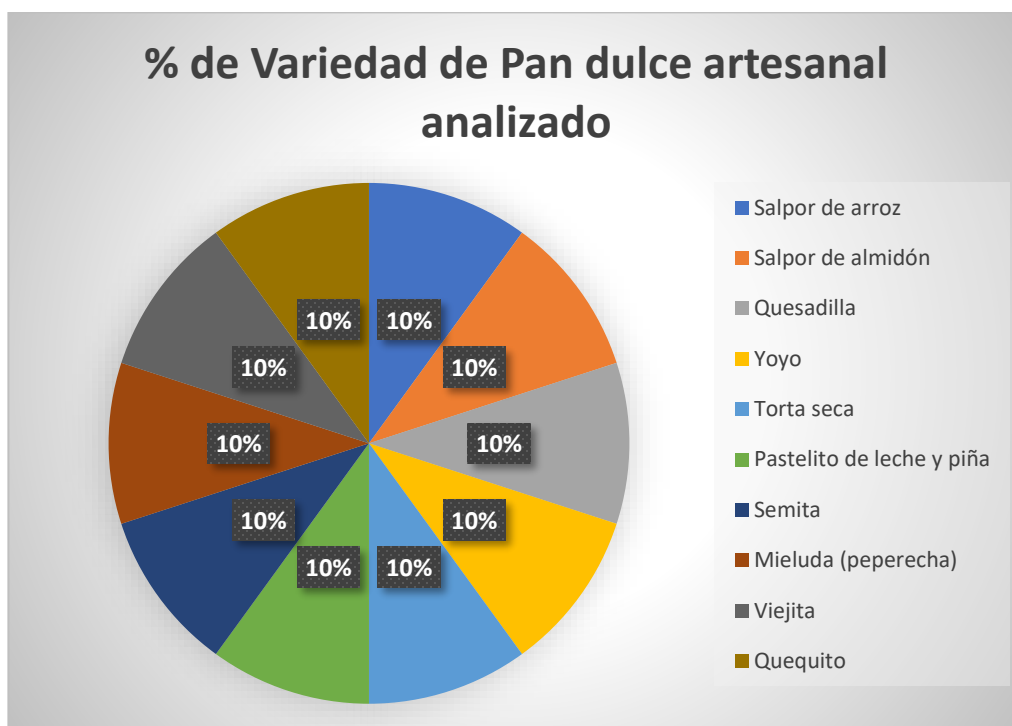


Figura N° 6: Grafico de porcentaje de variedades de pan dulce artesanal.

Posteriormente se recolectaron 70 muestras de pan dulce artesanal durante los sábados entre los meses de junio a julio del año 2018 consecutivamente por la tarde siendo este el horario de mayor comercialización y mayor cantidad de muestras recién preparadas, haciendo la clasificación por variedad y panadería de procedencia (ver Tabla N°4)

Tabla N° 4: Clasificación por variedad de Pan dulce artesanal y panadería de procedencia.

Numero de muestra	Variedad	Panadería de procedencia
0-01	Salpor de arroz	Roxana
0-02	Salpor de arroz	Roxana
0-03	Salpor de almidón	Roxana
0-04	Salpor de almidón	Roxana
0-05	Pastelito de leche	Roxana
0-06	Pastelito de leche	Roxana
0-07	Pastelito de leche	Regalo de Dios
0-08	Salpor de almidón	Doña Lupe

Tabla N° 4: (Continuación).

Numero de muestra	Variedad	Panadería de procedencia
0-09	Salpor de arroz	Regalo de Dios
0-10	Salpor de almidón	Doña Lupe
0-11	Queiquito	Roxana
0-12	Salpor de arroz	Doña Lupe
0-13	Queiquito	Roxana
0-14	Queiquito	Doña Lupe
0-15	Queiquito	Doña Lupe
0-16	Pastelito de leche	Doña Lupe
0-17	Salpor de arroz	Doña Lupe
0-18	Salpor de arroz	Armida
0-19	Salpor de arroz	Armida
0-20	Salpor de almidón	Regalo de Dios
0-21	Salpor de almidón	Armida
0-22	Salpor de almidón	Armida
0-23	Queiquito	Regalo de Dios
0-24	Queiquito	Armida
0-25	Queiquito	Armida
0-26	Pastelito de piña	Doña Lupe
0-27	Pastelito de piña	Armida
0-28	Pastelito de piña	Armida
0-29	Mieluda	Roxana
0-30	Mieluda	Roxana
0-31	Mieluda	Regalo de Dios
0-32	Torta seca	Roxana
0-33	Torta seca	Roxana
0-34	Torta seca	Regalo de Dios
0-35	Viejita	Roxana
0-36	Viejita	Roxana
0-37	Viejita	Regalo de Dios
0-38	Quesadilla	Roxana
0-39	Quesadilla	Roxana
0-40	Quesadilla	Regalo de Dios
0-41	Yoyo	Roxana
0-42	Yoyo	Roxana
0-43	Yoyo	Regalo de Dios
0-44	Semita	Roxana
0-45	Semita	Roxana
0-46	Semita	Regalo de Dios
0-47	Viejita	Doña Lupe
0-48	Viejita	Doña Lupe
0-49	Viejita	Armida
0-50	Viejita	Armida
0-51	Quesadilla	Doña Lupe
0-52	Quesadilla	Doña Lupe
0-53	Quesadilla	Armida
0-54	Quesadilla	Armida
0-55	Mieluda	Doña Lupe

Tabla N° 4: (Continuación).

Numero de muestra	Variedad	Panadería de procedencia
0-56	Mieluda	Doña Lupe
0-57	Mieluda	Armida
0-58	Mieluda	Armida
0-59	Semita	Doña Lupe
0-60	Semita	Doña Lupe
0-61	Semita	Armida
0-62	Semita	Armida
0-63	Torta seca	Doña Lupe
0-64	Torta seca	Doña Lupe
0-65	Torta seca	Armida
0-66	Torta seca	Armida
0-67	Yoyo	Doña Lupe
0-68	Yoyo	Doña Lupe
0-69	Yoyo	Armida
0-70	Yoyo	Armida

Las muestras fueron transportadas al Laboratorio de aguas de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, en bolsas plásticas selladas con su respectivo etiquetado, en la cual se especificó el Nombre Comercial, Lugar de recolección, Numero de muestra, Cantidad de muestras recolectadas, Fecha de recolección, contenidas dentro de cajas de cartón.

5.1.2 Analizar por espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier las muestras recolectadas.

Se realizó el procedimiento como se detalla en la parte experimental para la obtención de espectros infrarrojos (ver procedimiento 4.4.3). Posteriormente por medio de la unidad de Reflectancia Total Atenuada (ATR), se obtuvo el espectro del agua ultra pura como blanco, debido a que el medio en el que se disolvió el estándar de acrilamida y en el que se realizaron las extracciones de esta en las muestras.

Para la obtención del espectro infrarrojo del estándar de acrilamida, se preparó una solución de acrilamida 2%, 0.5 g/ 25 mL de agua ultra pura (ver

procedimiento 4.4.1), el cual se contrarresto contra el espectro sólido de acrilamida al 99%. (Ver figura N°7).

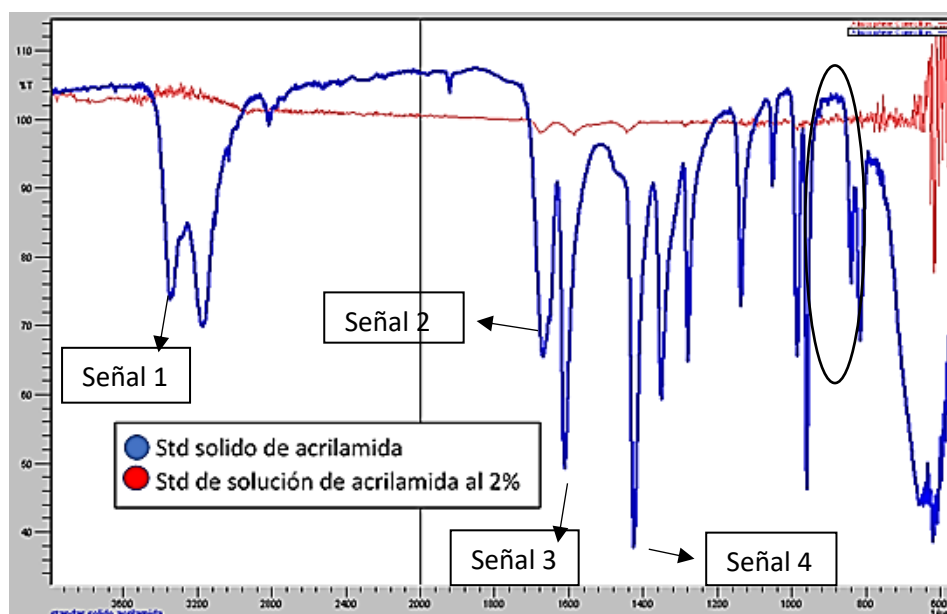


Figura N° 7: Acoplamiento del estándar sólido de acrilamida con estándar en solución al 2% de acrilamida.

Siendo la acrilamida una amida primaria se prosigue a buscar bandas características de esta sustancia orgánica. La primera señal, en la región de $3350 - 3180 \text{ cm}^{-1}$, la cual presenta una banda con un doble pico que corresponden al estiramiento N-H de la amida primaria. La segunda señal de interés específica para amida primaria aparece en la región $1690 - 1630 \text{ cm}^{-1}$ la cual aparece como una banda con un solo pico y pertenece al estiramiento C = O del grupo carbonilo de la amida primaria, la tercera señal específica para amida primaria se encuentra en la región $1650-1515 \text{ cm}^{-1}$ que corresponde a la flexión N-H del grupo amino (NH_2) de la amida primaria y una última señal en la región $1440-1400 \text{ cm}^{-1}$ que pertenece al estiramiento C-N carbono-nitrógeno de la amida primaria (Figura N°6), estas bandas en las regiones son específicas para amida primaria. Existen

otras señales de grupos funcionales, tal es la de grupo vinilo $\text{CH}_2=\text{CH}_2$ la cual aparece como dos picos separados en las regiones de $925 - 890 \text{ cm}^{-1}$.

Teniendo conocimiento de las concentraciones máximas y mínimas de acrilamida en muestras de pan dulce, se tomó como estándar una solución de acrilamida al 2%, en la cual se identificaron señales más específicas para la interpretación de resultados al compararlas con cada una de las muestras analizadas.

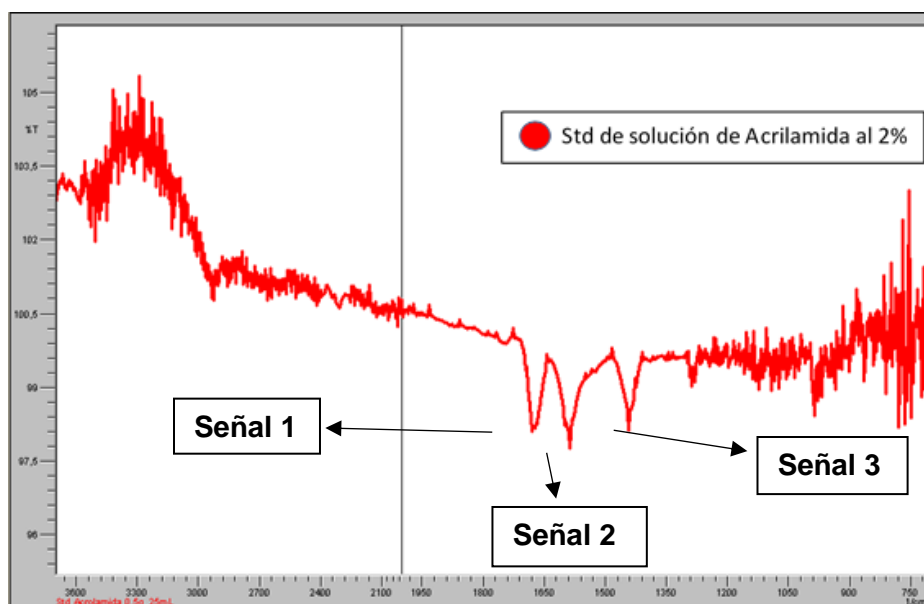


Figura N° 8: Espectro de estándar de acrilamida en solución al 2%

En la figura N° 8 se observan las tres bandas características y más representativas del estándar de acrilamida al 2% las cuales se encuentran en el rango de longitud de onda entre $1400-1720 \text{ cm}^{-1}$, la primera señal se identificó en la región ($1712-1640 \text{ cm}^{-1}$) la cual se presenta como una banda con un solo pico, perteneciente al estiramiento $\text{C}=\text{O}$ del grupo carbonilo de la amida primaria, la segunda señal en la región ($1640-1500 \text{ cm}^{-1}$) la cual aparece como una banda con un solo pico y corresponde a la flexión N-H del grupo NH_2 de la amida primaria y la tercera señal en la región ($1480-1407 \text{ cm}^{-1}$), la cual se observa como

una banda con un solo pico que pertenece al estiramiento del enlace C-N de la amida primaria, siendo estas las de mayor interés al contrarrestarla con las muestras de pan dulce para ser analizadas.

Posteriormente se acoplaron los espectros obtenidos del estándar de acrilamida y agua ultra pura, esto con el objetivo de discriminar las señales o picos, que podrían interferir en la identificación de Acrilamida en las muestras de Pan dulce artesanal (ver figura N°9).

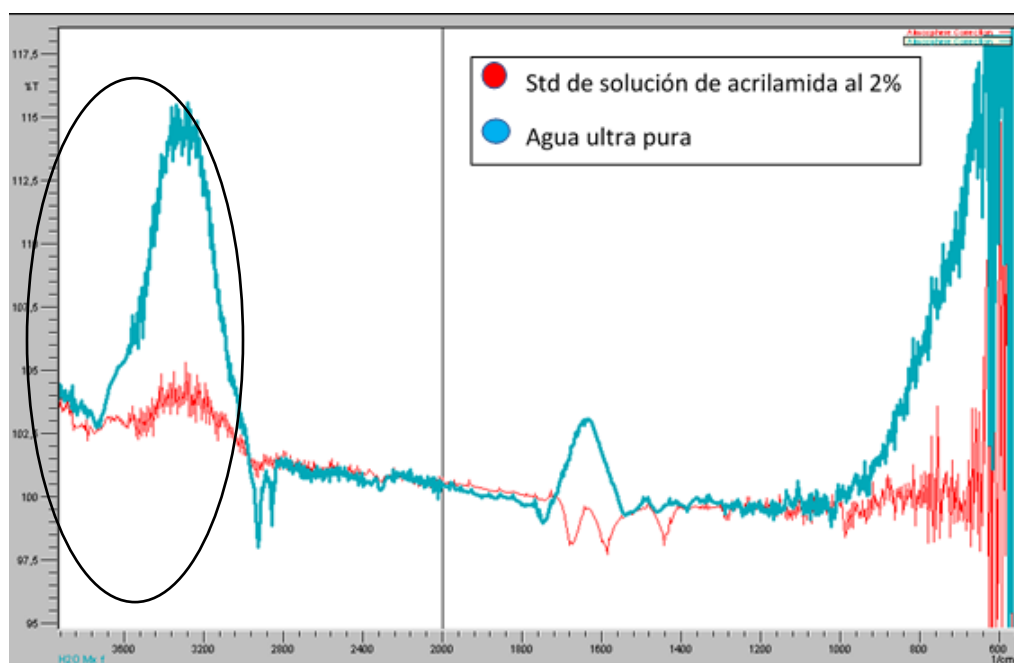


Figura N°9: Acoplamiento de espectro de agua ultra pura contra estándar de acrilamida en solución al 2%

Se puede observar en la figura N°9 que al diluir el estándar de acrilamida al 2 % en agua ultra pura la señal en la región $3350\text{-}3180\text{ cm}^{-1}$ se ve interferida por una señal específica que corresponde al agua, minimizando la identificación de la banda con un doble pico que corresponde al estiramiento N-H de la amida

primaria dado que la señal específica del agua es más fuerte que la señal del estándar en solución al 2% en dicha región.

Luego se realizó un acoplamiento de los espectros obtenidos del estándar de Acrilamida y solución de sacarosa (ver figura N°10), esto con el objetivo de analizar cómo puede interferir la sacarosa en las señales características de los picos propios de acrilamida.

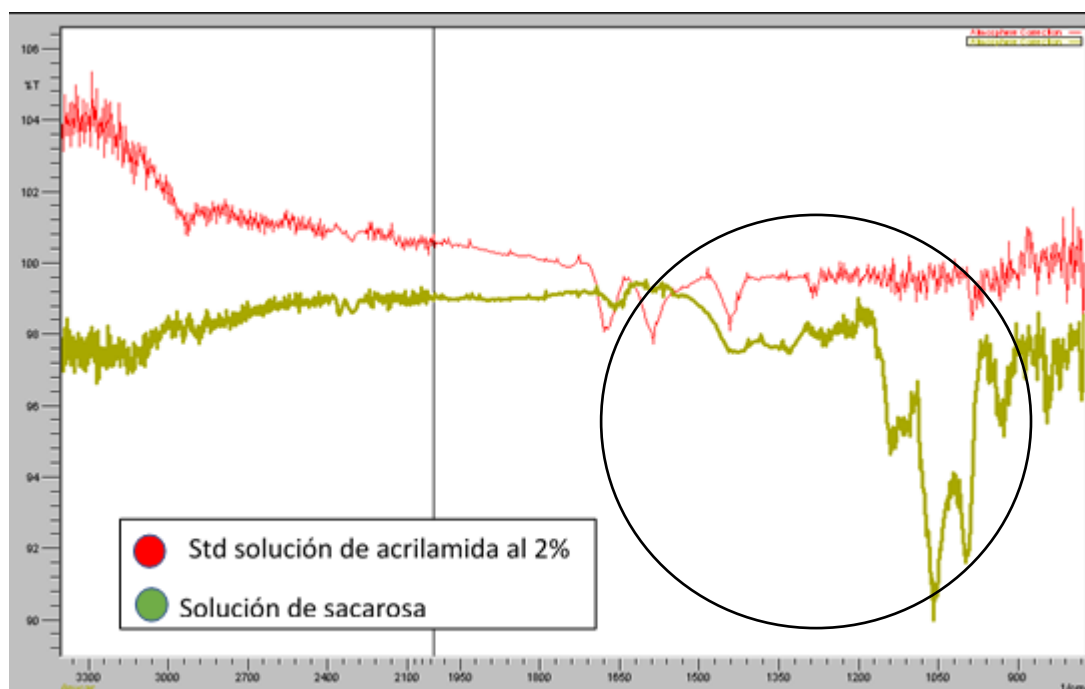


Figura N°10: Acoplamiento de espectro de solución de sacarosa con estándar de acrilamida en solución al 2%.

Se tomó la lectura del espectro de la solución de sacarosa con el objetivo de identificar bandas que no corresponden al estándar de acrilamida diluido, ya que hay picos característicos que se encuentran en la mayoría de las muestras analizadas, las cuales comprobamos que son representativas de la solución de sacarosa (ver figura N°10).

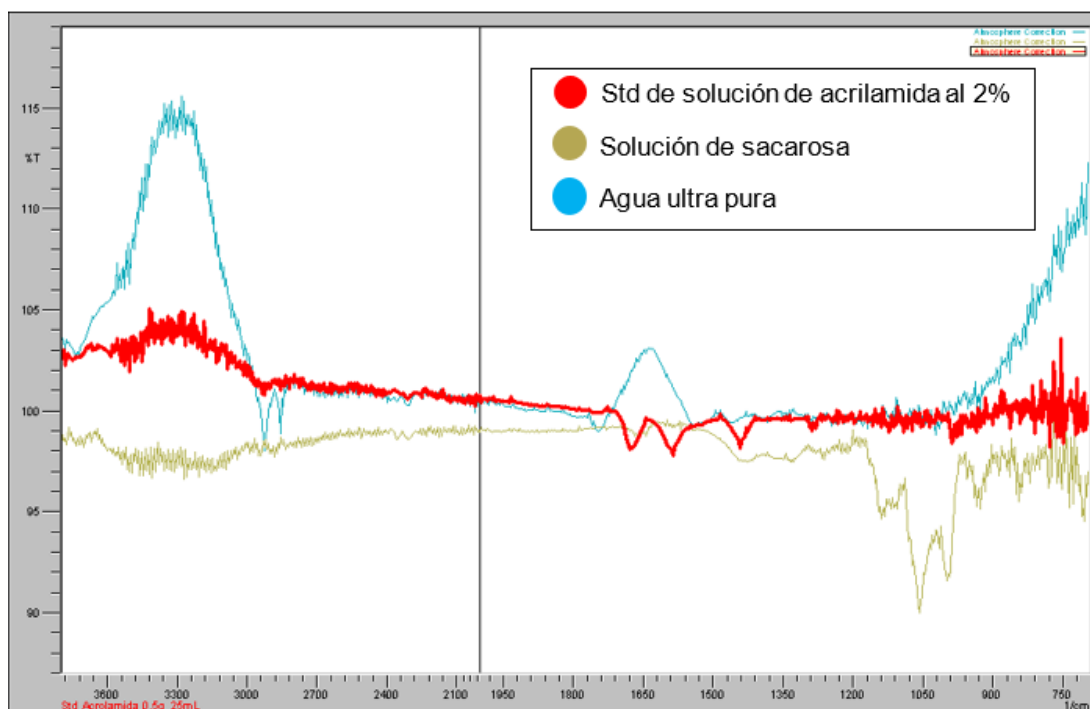


Figura N° 11: Acoplamiento de los espectros de solución de sacarosa, estándar de acrilamida en solución al 2% y agua ultra pura.

5.1.3 Obtención de los espectros de cada una de las muestras seleccionadas.

Al realizar la toma de muestras, estas fueron transportadas al Laboratorio Físicoquímico de Aguas de la Facultad de Química y Farmacia donde fueron tratadas (ver procedimiento 4.4.2) y luego se realizaron las lecturas en el Centro Nacional de Investigación Científica de El Salvador (CICES) en un espectrofotómetro infrarrojo de transformada de fourier con unidad de Reflectancia Total Atenuada (ATR), se llevaron a cabo los 70 análisis de la primer etapa, estos indicados como el procedimiento descrito en la parte experimental, recolectando la información en la región IR desde los 4000 a los 500 cm^{-1} . Luego de Realizar un acercamiento (zoom) correspondiente a las áreas de interés en donde se observaron las señales de los espectros de las muestras de pan dulce

artesanal, con el espectro del estándar de Acrilamida. Obteniéndose de esta manera un espectro por cada muestra, los cuales se utilizan para comparar la similitud del estándar de acrilamida con cada una de las muestras.

5.1.4 Comparación de cada espectro obtenido por espectroscopia infrarroja de las muestras contra el estándar positivo de acrilamida para confirmar su existencia o ausencia en las muestras seleccionadas.

El estudio de análisis de resultados se realizó haciendo un acoplamiento de espectros: Los espectros obtenidos de las muestras se estudiaron de acuerdo con la similitud que tenía con respecto al Estándar de Acrilamida en solución al 2% (1 ejemplo de espectro de muestra acoplado a estándar, de cada una de las 10 variedades).

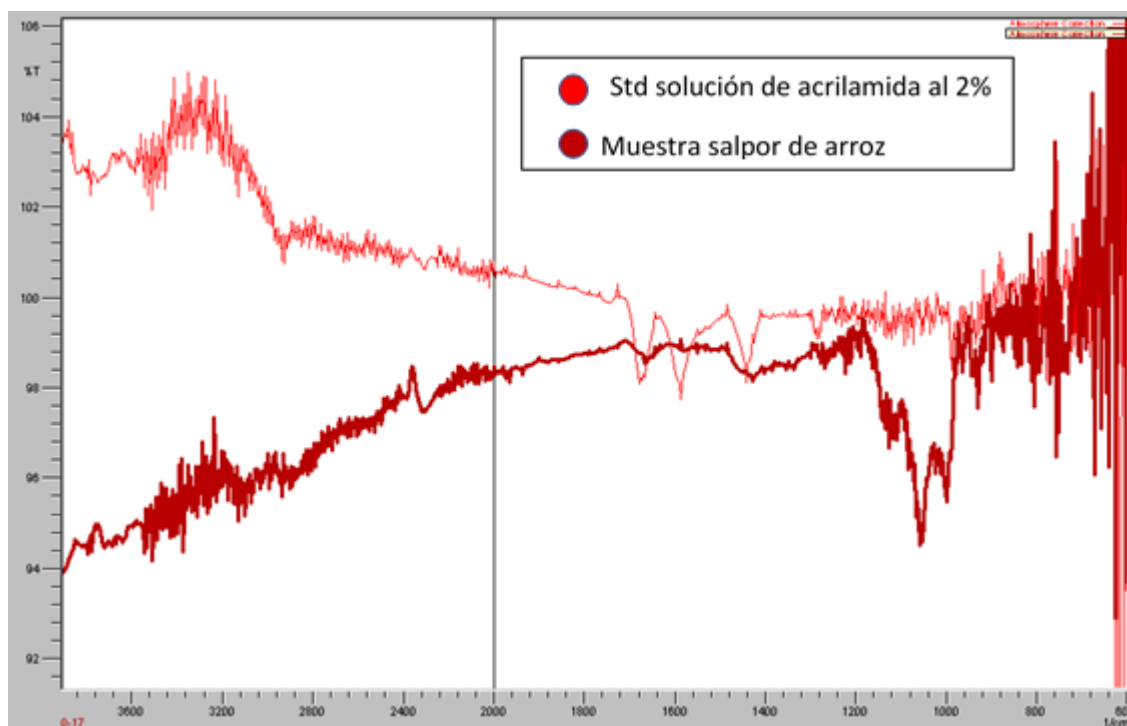


Figura N° 12: Espectro Muestra de Salpor de arroz acoplada con el espectro del estándar de solución de acrilamida al 2%.

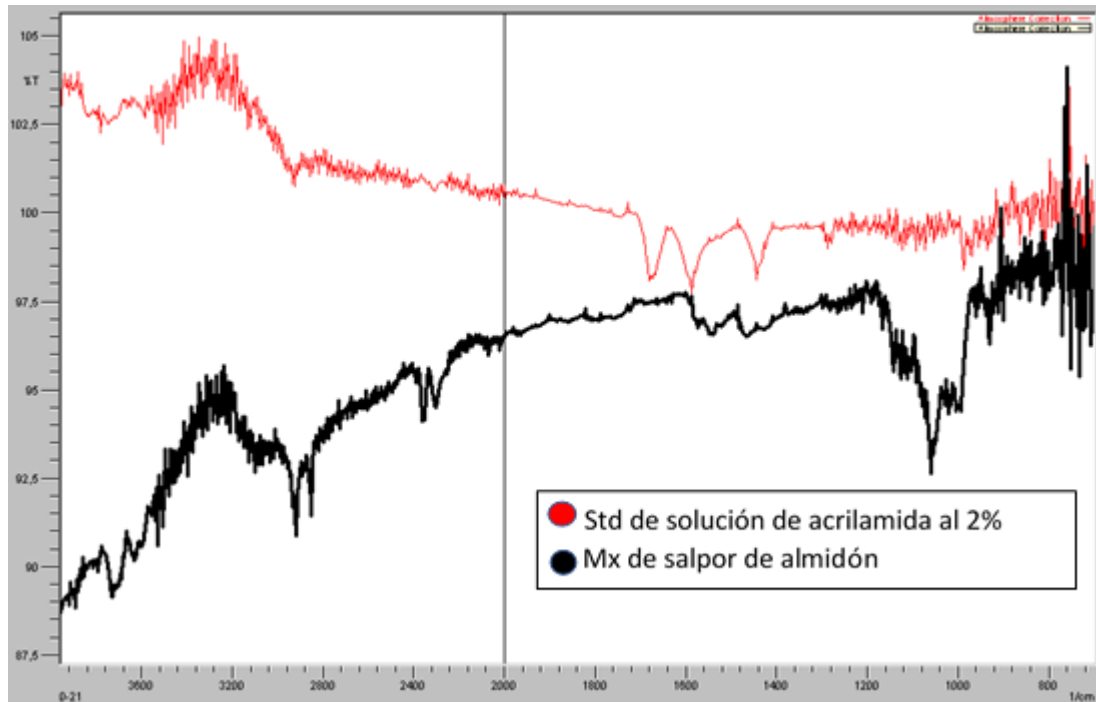


Figura N° 13: Espectro Muestra de Salpor de Almidón acoplada con el espectro del estándar de solución de acrilamida al 2%.

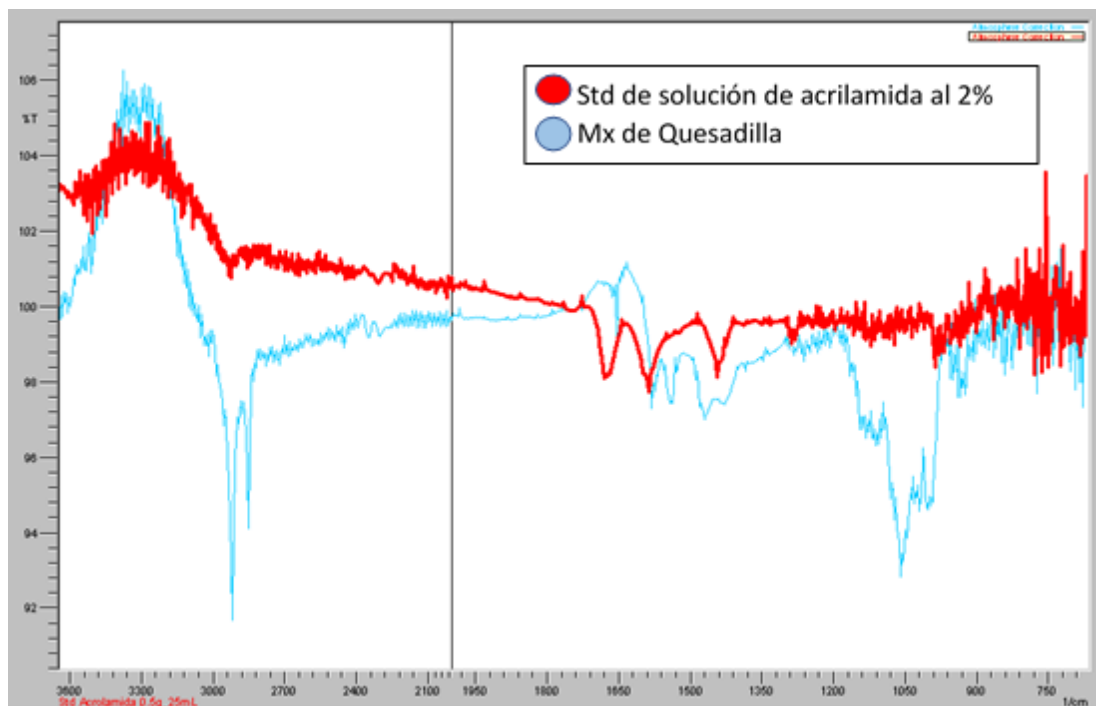


Figura N° 14: Espectro Muestra de Quesadilla acoplada con el espectro del estándar de solución de acrilamida al 2%.

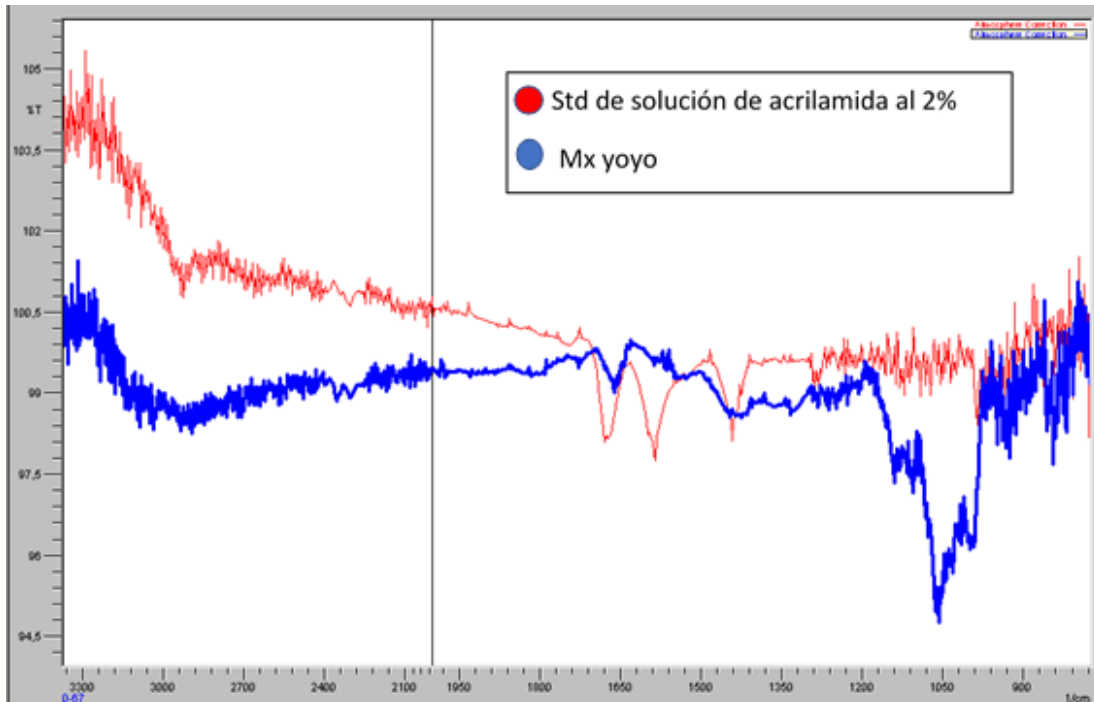


Figura N° 15: Espectro Muestra de Yoyo acoplada con el espectro del estándar de solución de acrilamida al 2%.

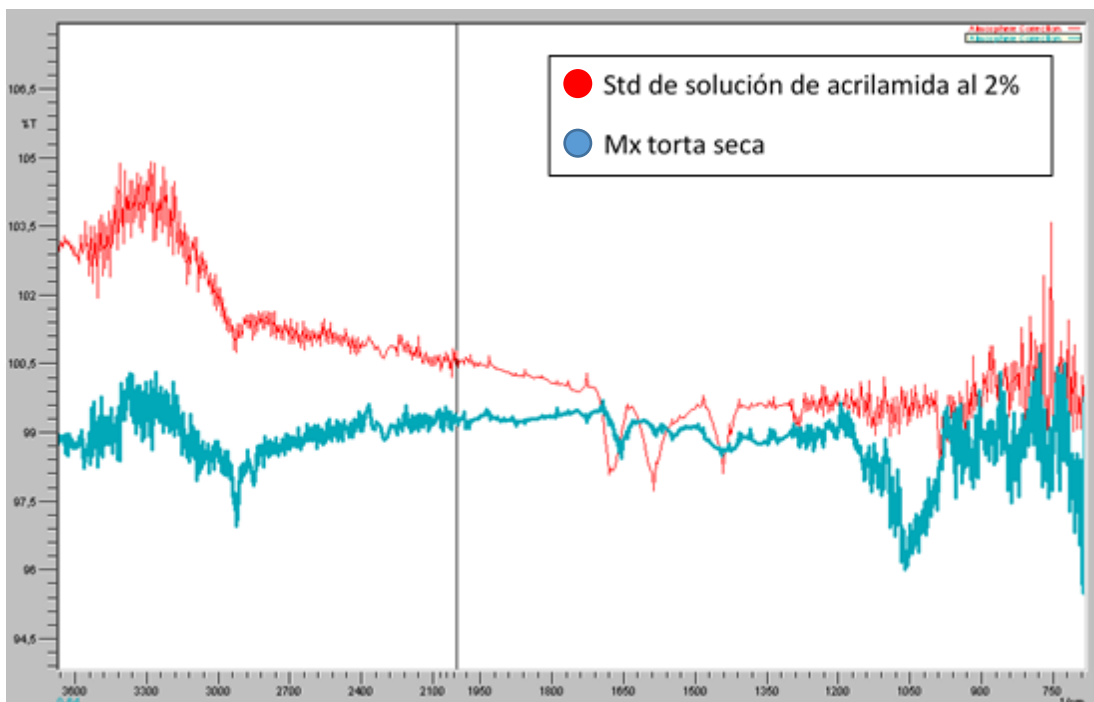


Figura N° 16: Espectro Muestra de Torta Seca acoplada con el espectro del estándar de solución de acrilamida al 2%.

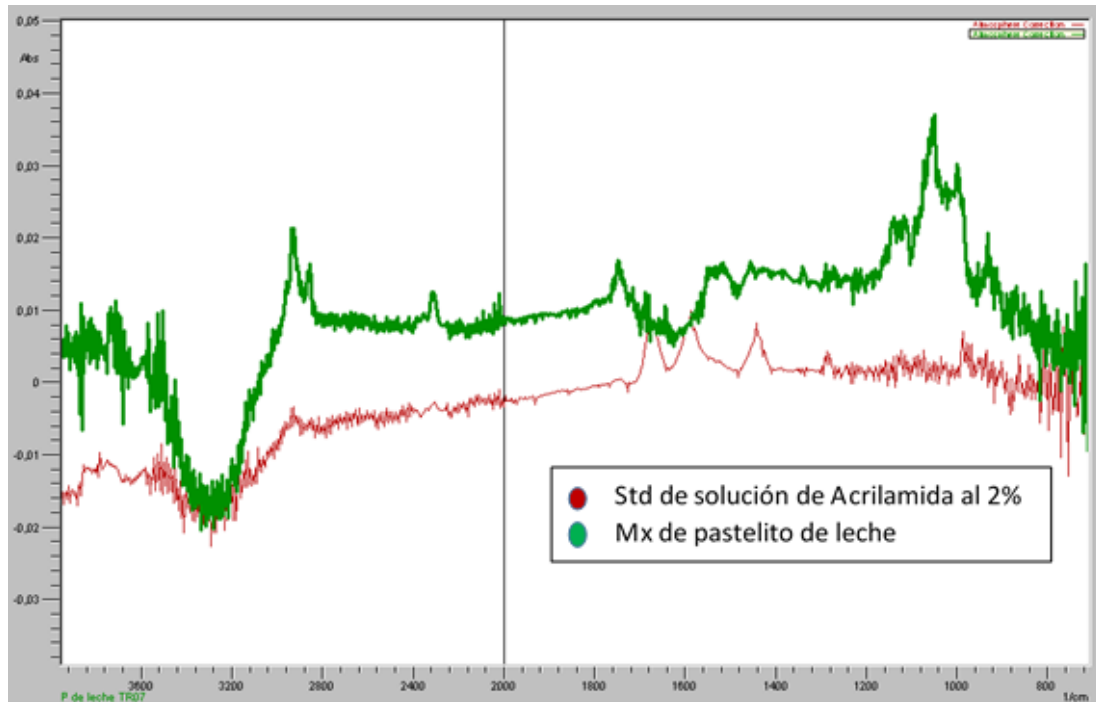


Figura N° 17: Espectro Muestra de Pastelito de leche acoplada con el espectro del estándar de solución de acrilamida al 2%.

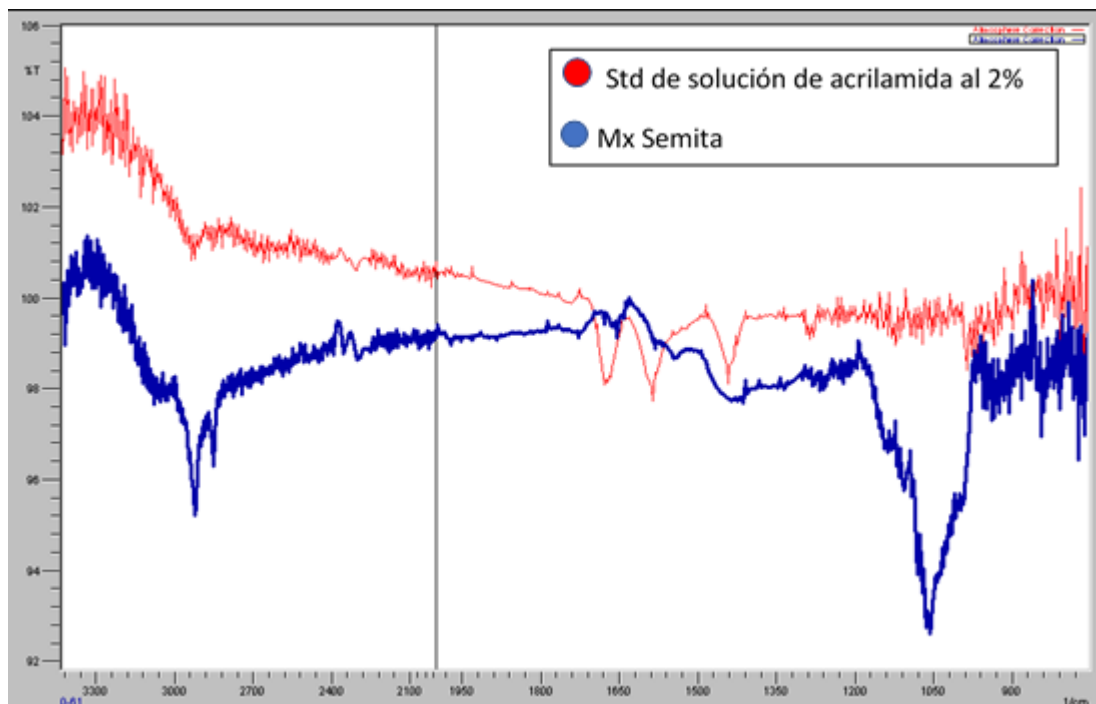


Figura N° 18: Espectro Muestra de Semita acoplada con el espectro del estándar de solución de acrilamida al 2%.

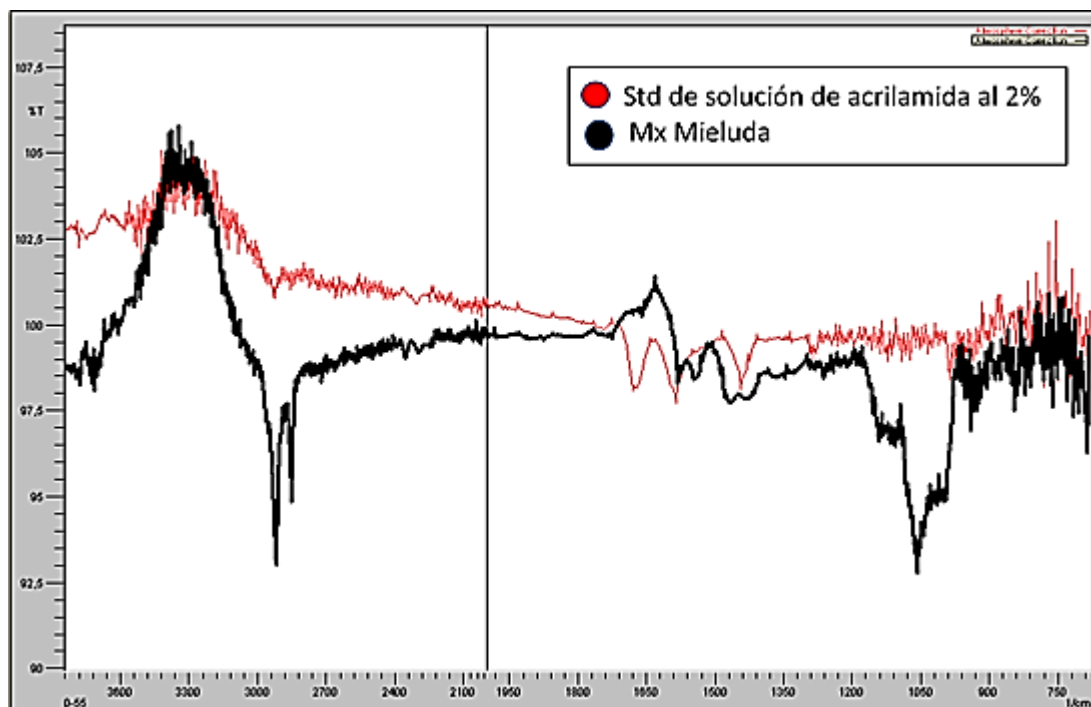


Figura N° 19: Espectro Muestra de Mieluda (peperucha) acoplada con el espectro del estándar de solución de acrilamida al 2%.

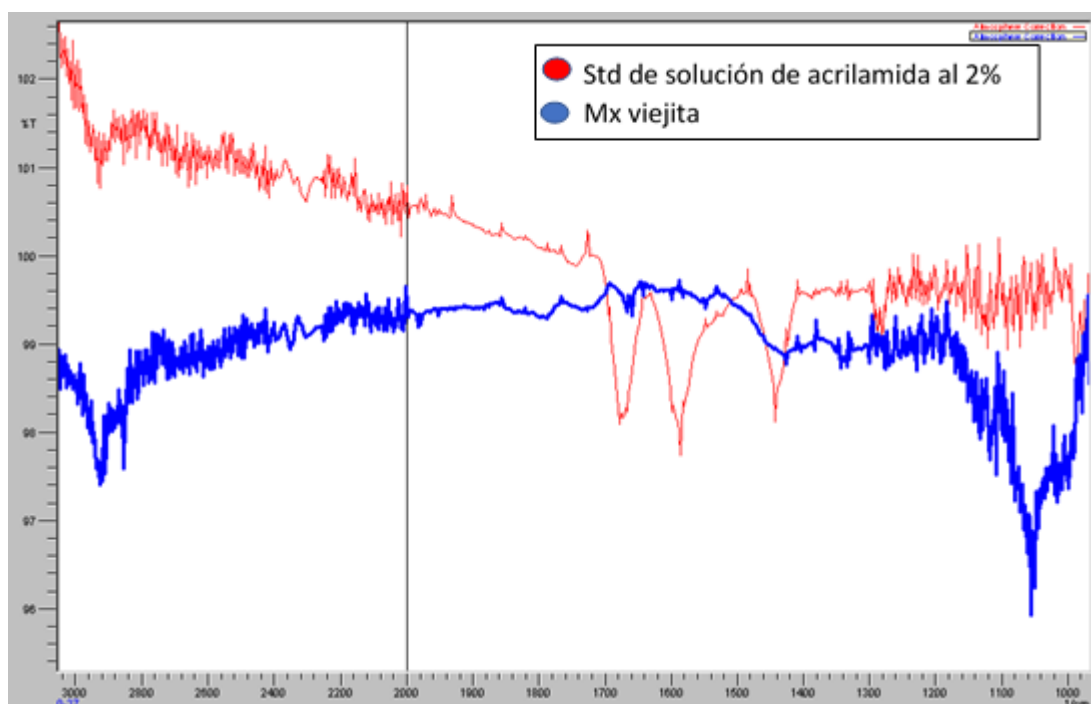


Figura N° 20: Espectro Muestra de Viejita acoplada con el espectro del estándar de solución de acrilamida al 2%.

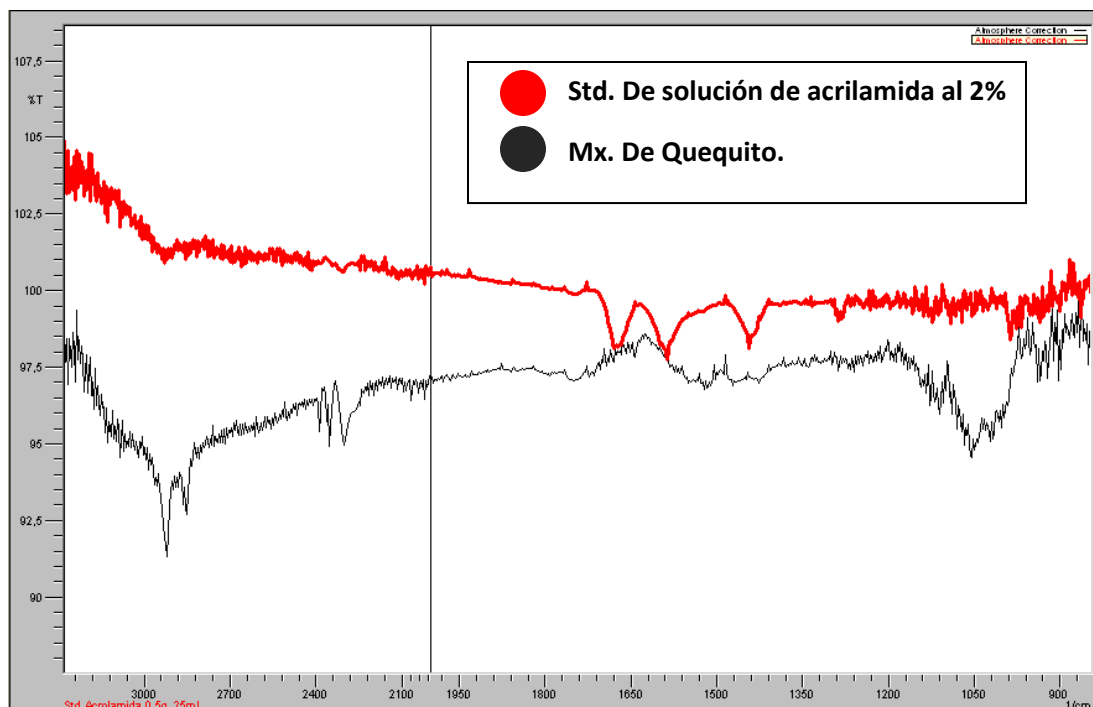


Figura N° 21: Espectro Muestra de Quequito acoplada con el espectro del estándar de solución de acrilamida al 2%.

Luego se prosiguió a estudiar las señales que aparecen en los espectros de las muestra para identificar acrilamida según las regiones específicas obtenidas del espectro del estándar en solución al 2%, debido al grupo funcional que presenta la estructura química de la Acrilamida (ver tabla N°5).

Tabla N° 5: Señales específicas de los grupos Funcionales de la acrilamida observados en la solución del estándar de acrilamida al 2%.

Estructura Química	Grupo funcional/Tipo de señal (Enlace)	Región (cm ⁻¹)
<chem>CC(=O)N</chem>	C=O Estiramiento del grupo Carbonilo de la amida primaria.	1690-1630 cm ⁻¹
	N-H Flexión del NH ₂ de la amida primaria	1650-1515 cm ⁻¹

Tabla N° 5: (Continuación).

Grupo funcional/Tipo de señal (Enlace)	Región (cm ⁻¹)
C-N Estiramiento del grupo carbono-nitrógeno de la amida primaria.	1400 cm ⁻¹

Al ser analizados los espectros de las muestras se observa que no hay presencia de las 3 señales características confirmadas en el espectro del estándar en solución de acrilamida al 2% (ver figura N°7) por lo que se puede confirmar que no existe presencia de acrilamida en las 70 muestras analizadas sometidas a la investigación.

Tabla N° 6: Resultados en la identificación de Acrilamida en todas las muestras de pan dulce artesanal.

Numero de Muestras de Pan	Resultados identificación de Acrilamida	pH de las muestras de Pan
0-01	Negativo	7.0
0-02	Negativo	7.0
0-03	Negativo	6.5
0-04	Negativo	6.5
0-05	Negativo	7.0
0-06	Negativo	7.0
0-07	Negativo	6.5
0-08	Negativo	6.5
0-09	Negativo	7.0
0-10	Negativo	6.5
0-11	Negativo	6.5
0-12	Negativo	7.0
0-13	Negativo	6.5
0-14	Negativo	7.0
0-15	Negativo	7.0
0-16	Negativo	7.0
0-17	Negativo	7.0
0-18	Negativo	7.0
0-19	Negativo	6.5
0-20	Negativo	6.5
0-21	Negativo	6.5
0-22	Negativo	6.5
0-23	Negativo	7.0
0-24	Negativo	6.5
0-25	Negativo	6.5
0-26	Negativo	6.0

Tabla N° 6: (Continuación).

Numero de Muestras de Pan	Resultados identificación de Acrilamida	pH de las muestras de Pan
0-27	Negativo	6.0
0-28	Negativo	6.0
0-29	Negativo	6.5
0-30	Negativo	6.5
0-31	Negativo	6.0
0-32	Negativo	6.0
0-33	Negativo	6.0
0-34	Negativo	6.0
0-35	Negativo	6.0
0-36	Negativo	6.0
0-37	Negativo	6.0
0-38	Negativo	7.0
0-39	Negativo	7.0
0-40	Negativo	7.0
0-41	Negativo	5.5
0-42	Negativo	5.5
0-43	Negativo	5.5
0-44	Negativo	5.5
0-45	Negativo	5.5
0-46	Negativo	5.5
0-47	Negativo	7.0
0-48	Negativo	7.0
0-49	Negativo	7.0
0-50	Negativo	7.0
0-51	Negativo	7.0
0-52	Negativo	7.0
0-53	Negativo	7.0
0-54	Negativo	7.0
0-55	Negativo	6.0
0-56	Negativo	6.0
0-57	Negativo	6.0
0-58	Negativo	5.5
0-59	Negativo	5.5
0-60	Negativo	5.5
0-61	Negativo	5.5
0-62	Negativo	5.5
0-63	Negativo	5.5
0-64	Negativo	5.5
0-65	Negativo	5.5
0-66	Negativo	5.5
0-67	Negativo	6.0
0-68	Negativo	5.5
0-69	Negativo	5.5
0-70	Negativo	5.5

Al observar los resultados de pH obtenemos un rango de (5.5 a 7.0) por lo que se observa que hay poca diferencia entre las variedades de pan y no es un factor influyente que pueda interferir en la identificación de acrilamida.

Los análisis obtenidos de un total de 70 muestras dieron un resultado negativo del 100%, mostrando ausencia de acrilamida en la totalidad de las 10 diferentes variedades que fueron sometidas a estudio.

La acrilamida es un producto de formación en alimentos que llevan elevadas temperaturas, en sus procesos de elaboración. Por lo cual los precursores de formación, como azúcares reductores (Glucosa) y Aminoácidos (Asparagina) favorecen su formación durante la elaboración de los productos alimenticios; ya que estos se encuentran en el pan dulce artesanal fue de gran importancia realizar este tipo de investigación al producto, ya que es una sustancia que causa daño a la salud de las personas que consumen este tipo de alimentos.

5.2 SEGUNDA ETAPA.

Dando como resultados negativos de acrilamida en la totalidad de las muestras (variedades de pan dulce artesanal) analizadas en el periodo de junio – Agosto del año 2018, se decidió realizar un segundo muestreo para descartar cualquier falso negativo en los resultados obtenidos, utilizando un equipo de la misma marca y modelo, pero que se encontraba con diferentes especificaciones ambientales en el laboratorio de la planta piloto de Ingeniería Química.

5.2.1 Selección de las variedades de pan dulce artesanal para la identificación de acrilamida, basados en una guía de observación.

El procedimiento a seguir para la toma de muestra fue retomado del primer estudio en los mismos puntos de muestreo anteriores, recolectando 20 muestras

de pan dulce artesanal en el mes de enero de 2019, divididas entre las 4 panaderías sometidas a estudio.

Tabla N° 7: Clasificación de Pan dulce artesanal por variedad y panadería de procedencia.

Numero de muestra	Variedad	Panadería de procedencia
0-01	Salpor de almidón	Roxana
0-02	Salpor de arroz	Roxana
0-03	Quesadilla	Regalo de Dios
0-04	Queiquito	Regalo de Dios
0-05	Torta Seca	Roxana
0-06	Yoyo	Doña Lupe
0-07	Viejita	Doña Lupe
0-08	Semita	Armida
0-09	Mieluda	Armida
0-10	Pastelito de leche	Regalo de Dios
0-11	Salpor de almidón	Doña Lupe
0-12	Salpor de arroz	Doña Lupe
0-13	Quesadilla	Armida
0-14	Queiquito	Armida
0-15	Yoyo	Regalo de Dios
0-16	Viejita	Regalo de Dios
0-17	Semita	Roxana
0-18	Mieluda	Roxana
0-19	Pastelito de piña	Doña lupe
0-20	Torta Seca	Armida

5.2.2 Analizar por espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier obteniendo los espectros de las muestras recolectadas.

Las muestras fueron extraídas bajo las mismas condiciones de trabajo que en el primer estudio (ver procedimiento 4.4.2), pero la lectura y obtención del espectro de cada muestra fue realizada en la planta piloto de ingeniería química.

5.2.3 Comparación de cada espectro obtenido por espectroscopia infrarroja de las muestras contra el estándar positivo de acrilamida para confirmar su existencia o ausencia en las muestras seleccionadas.

Se realizó de la misma forma un acoplamiento entre cada una de las muestras con el estándar, obteniendo solo un resultado positivo de las 20 muestras analizadas, y al observar los resultados de pH entre (5.5 – 7.0) se verifica que no es un factor influyente, dado que el valor de la muestra positiva se encuentra dentro del rango de pH (ver tabla N°8).

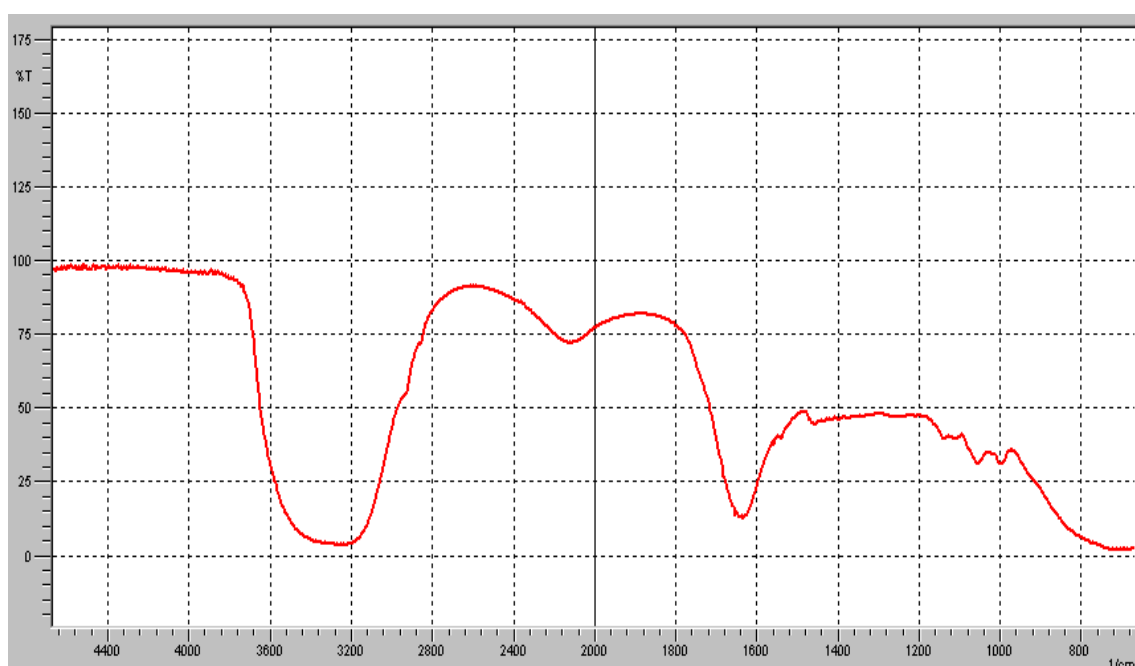


FIGURA N° 22: Espectro señal positiva de muestra salpor de almidón.

Se realizó un acoplamiento de la muestra positiva de salpor de almidón, con la solución estándar de acrilamida al 2% y agua ultra pura, seccionándose en 3 partes; parte A, parte B, parte C, para realizar un análisis más exhaustivo.

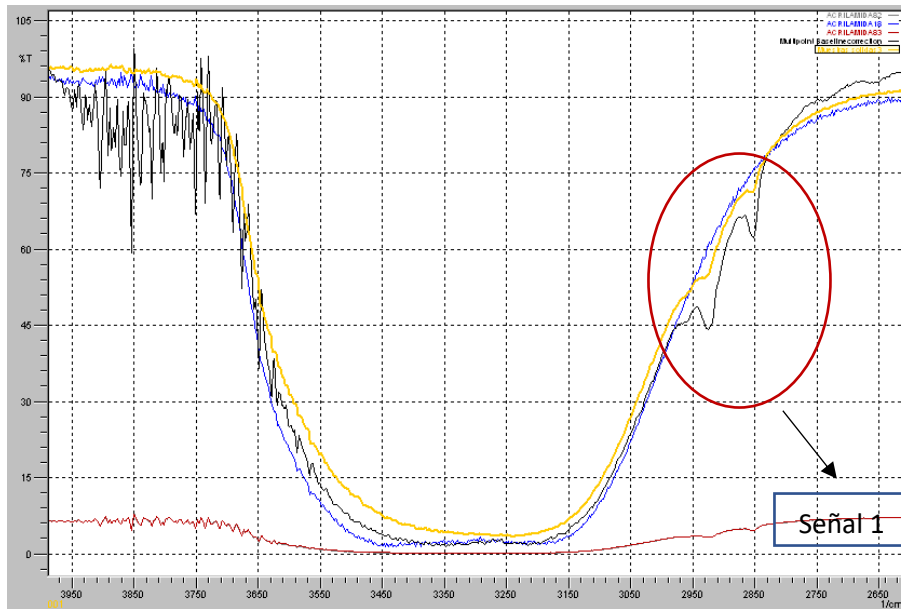


FIGURA N° 23 Acoplamiento del espectro del estándar de acrilamida en solución al 2% con agua ultra pura y la parte A seleccionada de la muestra positiva de salpor de almidón.

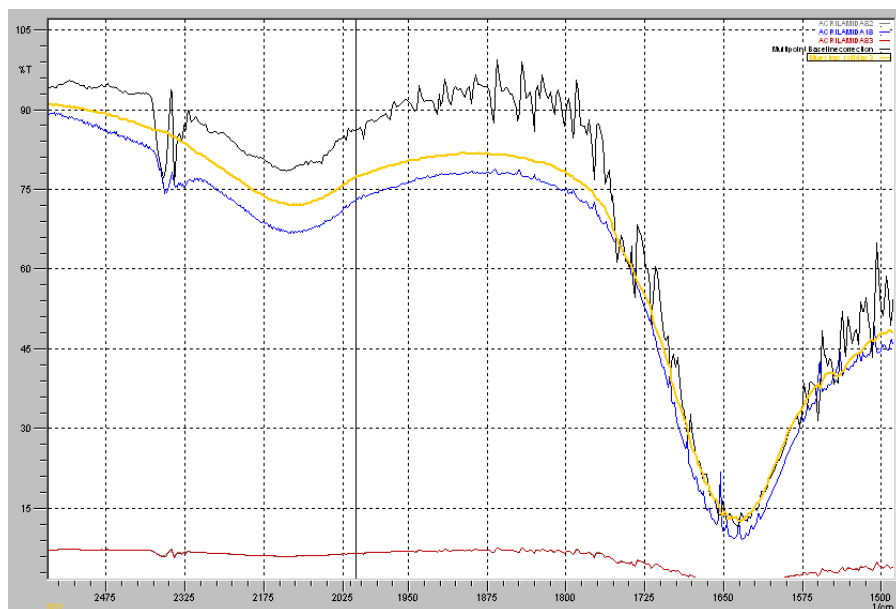


FIGURA N° 24 Acoplamiento del espectro del estándar de acrilamida en solución al 2% con agua ultra pura y la parte B seleccionada de la muestra positiva de salpor de almidón.

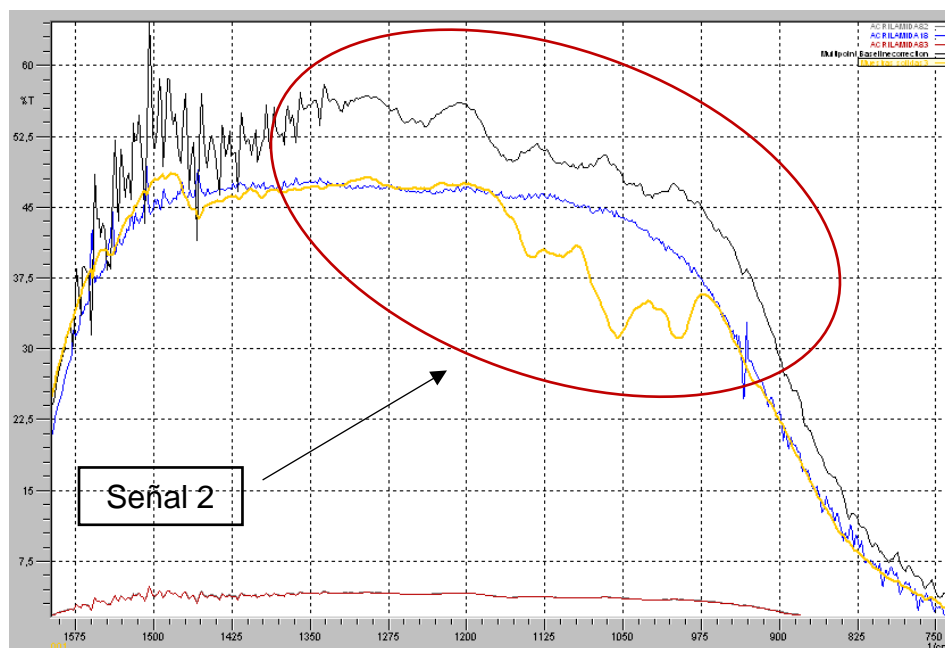


FIGURA N° 25: Acoplamiento del espectro del estándar de acrilamida en solución al 2% con agua ultra pura y la parte C seleccionada de la muestra positiva de salpor de almidón.

En la parte A: En el acoplamiento del espectro figura N° 19 en el rango de longitud de onda de 2850-2950 se observa un resultado positivo, dando dos picos característicos en similitud con los obtenidos en el espectro del estándar de acrilamida tomado en esta segunda etapa de análisis.

En la parte B: En el acoplamiento del espectro figura N° 20, no se observa ninguna señal confirmativa para acrilamida, todas las señales corresponden a las del agua y ruido por parte del equipo.

En la parte C: En el acoplamiento del espectro figura N° 21 en el rango de longitud de onda de 1500 – 1650 dio resultado positivo en concordancia con el espectro de acrilamida amida pero se observa ciertas diferencia en sus estructura posiblemente provenientes de los demás compuestos del pan.

Tabla N° 8: Resultados en la identificación de acrilamida en todas las muestras de pan dulce artesanal.

Numero de muestra	Resultados identificación de Acrilamida	pH de las muestras de pan
0-01	Positivo	6.5
0-02	Negativo	6.0
0-03	Negativo	6.5
0-04	Negativo	7.0
0-05	Negativo	5.5
0-06	Negativo	6.0
0-07	Negativo	6.0
0-08	Negativo	6.5
0-09	Negativo	6.0
0-10	Negativo	7.0
0-11	Negativo	7.0
0-12	Negativo	5.5
0-13	Negativo	6.0
0-14	Negativo	6.0
0-15	Negativo	6.5
0-16	Negativo	6.5
0-17	Negativo	6.0
0-18	Negativo	5.5
0-19	Negativo	7.0
0-20	Negativo	6.5

Se determina una señal positiva en el espectro de la muestra 001 perteneciente a salpor de almidón, dado que es el único que presenta similitud con el espectro del estándar de acrilamida utilizado.

CAPITULO VI
CONCLUSIONES

6.0 CONCLUSIONES

1. Por medio de la guía observacional se obtuvo como resultado las 10 variedades de pan dulce artesanal que más se comercializan en las cuatro panaderías ubicadas en las diferentes colonias seleccionadas del área urbana del municipio de Santa Ana, departamento de Santa Ana, El Salvador.
2. Los factores que afectan la formación de acrilamida en pan dulce artesanal son: temperatura, contenido de agua, estado físico de la matriz del alimento, materia prima e ingredientes, almidón y condiciones de los cultivos.
3. Mediante el método de espectroscopia Infrarroja con sistema (ATR) se logró identificar 4 señales específicas de los grupos funcionales de los enlaces que presenta la acrilamida, en las regiones $3350-3180\text{cm}^{-1}$, $1690-1630\text{cm}^{-1}$, $1620-1590\text{cm}^{-1}$ y 1400cm^{-1} .
4. Del 100% de la totalidad de las muestras en las 2 etapas solo el 1.11% dio resultado positivo, el cual no es significativo para confirmar la presencia del toxico acrilamida.

CAPITULO VII
RECOMENDACIONES

7.0 RECOMENDACIONES

1. Que los productores de pan dulce deben mantener un control constante sobre la temperatura, dado que es un factor importante para la formación de acrilamida y garantizar que las condiciones de preparación sean las mismas entre cada elaboración.
2. En futuras investigaciones se debe realizarse un estudio previo al equipo de análisis para verificar las condiciones de trabajo apropiadas; así como también los reactivos y estándares a utilizar y su certificado de calidad para obtener resultados confiables.
3. Considerar un límite de detección mínimo detectable para el equipo según el método del analito en estudio.
4. Incorporar en la metodología de trabajo la adición directa de estándar en la muestra para verificar que la matriz no este interfiriendo con la identificación del toxico en interés.
5. Al retomar esta investigación se deben realizar cambios en el método experimental ya sea aumentando la cantidad de muestra, modificando el método de extracción; o utilizando diferentes equipos de análisis.
6. A estudiantes de la Licenciatura en Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, realizar en futuras investigaciones, la identificación de acrilamida en diferentes productos alimenticios de matrices hábiles con la reacción de Maillard.

7. Las instituciones de salud deben dar una mayor educación a la población sobre el consumo moderado del pan dulce, debido a sus altos contenidos de grasas y azúcares ya que pueden causar problemas a la salud.

BIBLIOGRAFIA

1. Bruno Rodríguez, E. B; López Miranda, C. E. Noviembre (2012), Adecuación del Método de Espectroscopia infrarroja en la identificación de grasas trans en margarina. Trabajo de graduación para optar al grado de Licenciatura en Química y Farmacia, El Salvador, Universidad de El Salvador.
2. Chaves Ullate, C; Irias Mata, A; Arias Echandi, M. L. diciembre 2016, Formación de acrilamida durante el procesamiento de alimentos.
3. Consejo Nacional de Ciencias y Tecnologías (CONACYT), productos de panadería, clasificación y especificaciones del pan dulce.
4. Curtin, D. Y; Fuson, C. R; Hermann, C. K. F; Morrill, T. C; Shriner, R. I; Identificación Sistemática de Compuestos Orgánicos (2 ed), Limusa Wiley.
5. Echeverri R, M. L; Jaramillo Z, L. A; Quiroz C. J 2014 ACRILAMIDA: Formación y mitigación en procesamiento industrial de alimentos.
6. Erika Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria, Acrilamida, abril 2005.
7. García Quevedo, D.M; Ventura Villatoro, L. C. Mayo, 2015, Aplicación del método de espectroscopia infrarroja para la identificación de acrilamida en papas tipo chips. Trabajo de graduación para optar al grado de Licenciatura en Química y Farmacia

8. Gómez R. y Murillo, R. Espectroscopia infrarroja.
9. Informe de la consulta conjunta de FAO/OMS sede central de la OMS, Ginebra, Suiza 25-27 de junio 2002, Consecuencias para la salud de acrilamida en los alimentos, Publicado por la organización mundial de la salud en colaboración con la organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación, junio 2002.
10. Leret Ponce, R. E. estudio gastronómico y nutricional de pan dulce tradicionales comercializados regionalmente en el país, seminario de especialización para optar al grado de ingeniero en alimentos, el salvador, Universidad Dr. José Matías Delgado.
11. Ma. Menchu T, T; Méndez, H. Junio de 2011, análisis de la situación alimentaria en El Salvador.
12. Masson L; Muóz J. R; Romero N; Conrado C; Encina C; Hernández L; Castro J; Y Paz R. acrilamida en patatas fritas.
13. Plaza Díaz C. I. 2015, Reducción del contenido de acrilamida en pan tipo hallulla mediante la incorporación de asparaginasa.
14. Rajeed V; Singla K; Ashok K; Dube y Sara M; Ameen; Shana Montalto; Salvatore Parisi. 2018, Analytical methods for the assessment of Maillard reactions in foods, Springer International Publishing, Italy
15. Valenzuela B. R; Ronco Macchieavello A. M. marzo 2007 acrilamida en los alimentos.

GLOSARIO

Acción Genotóxica: Son anomalías cromosómicas, micronúcleos, intercambios entre Cromátidas hermanas, poliploidía, aneuploidía y otras alteraciones mitóticas (p.ej., mitosis c) en células de mamíferos y en ausencia de activación metabólica. (7)

Aneuploidía: son las anomalías causadas por la presencia de un único cromosoma extra o la ausencia de un cromosoma. (7)

Asparagina: es un aminoácido no esencial (es decir, producido naturalmente por el organismo) que deriva del ácido aspártico. (12)

Azúcar Reductor: son todos los monosacáridos, sean aldosas o cetosas, son azúcares reductores, como lo son también la mayoría de los disacáridos, siendo una excepción importante la sacarosa (azúcar de mesa), que no es reducida. (7)

Carcinógeno: agente que provoca cáncer o acelera su desarrollo. (7)

Citocromo p450: Este sistema comprende un grupo de enzimas o isoenzimas relacionadas que se localizan principalmente en la fracción microsomal hepática correspondiente a las membranas del retículo endoplasmático liso. (7)

Espectro: en general, se denomina función de la frecuencia o de la longitud de onda. (1)

Glicidamida: Es un epóxido químicamente reactivo que origina aductos de ADN y puede ser la sustancia directamente genotóxica. (7)

Interferograma: Figura geométrica que cuantifica la variación de posiciones de puntos dispuestos en una rejilla como consecuencia de su deformación mediante el uso de la interferencia de las ondas de luz. (1)

Metabolismo: Es total de las transformaciones químicas que tienen lugar en un organismo, y que consisten en muchas series de reacciones o rutas que se

entrecruzan y que se corresponde con dos tipos principales anabolismo y catabolismo. ⁽⁷⁾

Micronúcleos: Uno o más núcleos más pequeños que, junto con los macronúcleos, se encuentran en los ciliados. El micronúcleo participa en la reproducción sexual. ⁽⁷⁾

Mutágeno: cualquier agente capaz de entrar a la célula y producir mutaciones. ⁽⁷⁾

Neurotoxicidad: es un término que hace referencia a aquellas alteraciones funcionales, estructurales y bioquímicas producidas en el Sistema Nervioso y que conllevan a la manifestación de diferentes clases de efectos adversos como consecuencia de una exposición a un producto químico. ⁽⁷⁾

Neuropatía: es la afección de algunos o todos los nervios periféricos que afectan a los axones, la vaina de mielina, o ambas. Se manifiestan por una combinación de signos y síntomas sensoriales, motoras y autonómicas. ⁽⁷⁾

Poliploidía: Si la célula de un individuo posee tres o más juegos de cromosomas. ⁽⁷⁾

Reacción de Maillard: condensación entre un grupo amino libre de un aminoácido, péptido o proteína y el grupo carbonilo de azúcares reductores o de lípidos oxidados. Posteriormente, y mediante una serie de reacciones complejas da lugar a los denominados, de manera genérica, productos de la reacción de Maillard (PRM). ⁽¹⁴⁾

Seguridad alimentaria: es la existencia de condiciones que posibilitan a los seres humanos tener acceso físico, económico y de manera socialmente aceptable a una dieta y acorde con sus preferencias culturales, que les permite satisfacer sus necesidades alimentarias y vivir de una manera productivos y saludable. ⁽¹¹⁾

Tóxico: se utiliza como adjetivo para designar y calificar a todos aquellos elementos o sustancias que resulten nocivos y dañinos para algún tipo de organismo, por lo general se lo utiliza en referencia al ser humano, aunque la mayoría de ellos suelen ser tan dañinos para él como para los animales, plantas y cualquier otro ser vivo. ⁽²⁾

Transformada de Fourier: denominada así por Joseph Fourier, es una transformación matemática empleada para transformar señales entre el dominio del tiempo (o espacial) y el dominio de la frecuencia, que tiene muchas aplicaciones en la física y la ingeniería. ⁽¹⁾

ANEXOS

ANEXO N°1

Tabla N°9: Niveles de acrilamida en diferentes alimentos y grupos de productos alimenticios de Noruega, Suecia, Suiza, Reino Unido, y Estados Unidos de Norte América Niveles de acrilamida. ⁽⁹⁾

Alimento/Grupo de Productos	Niveles de acrilamida ($\mu\text{g}/\text{kg}$) ¹			
	Media ²	Mediana ²	Mínimo – Máximo	Número de muestras
Papas/batatas fritas en rodajas ³	1312	1343	170 – 2287	38
Papas fritas en bastones, ⁴	537	330	<50 – 3500	39
Productos rebozados	36	36	<30 – 42	2
Productos de panadería	112	<50	<50 – 450	19
Biscochos, galletas, tostadas, rodajas de pan	423	142	<30 – 3200	58
Cereales para desayuno	298	150	<30 – 1346	29
Copos de maíz	218	167	34 – 416	7
Pan blando	50	30	<30 – 162	41
Pescado y productos con pescados y mariscos empanados, rebozados	35	35	30 – 39	4
Carnes blancas, animales de caza, empanados, rebozados	52	52	39 – 64	2
Bebidas de malta instantáneas	50	50	<50 – 70	3
Chocolate en polvo	75	75	<50 – 100	2
Café en polvo	200	200	170 – 230	3
Cerveza	<30	<30	<30	1

ANEXO N°2

Figura N°26: Mapa Geográfico del área urbana del municipio de Santa Ana, departamento de Santa Ana, El Salvador, ubicando los 4 puntos de toma de muestras.

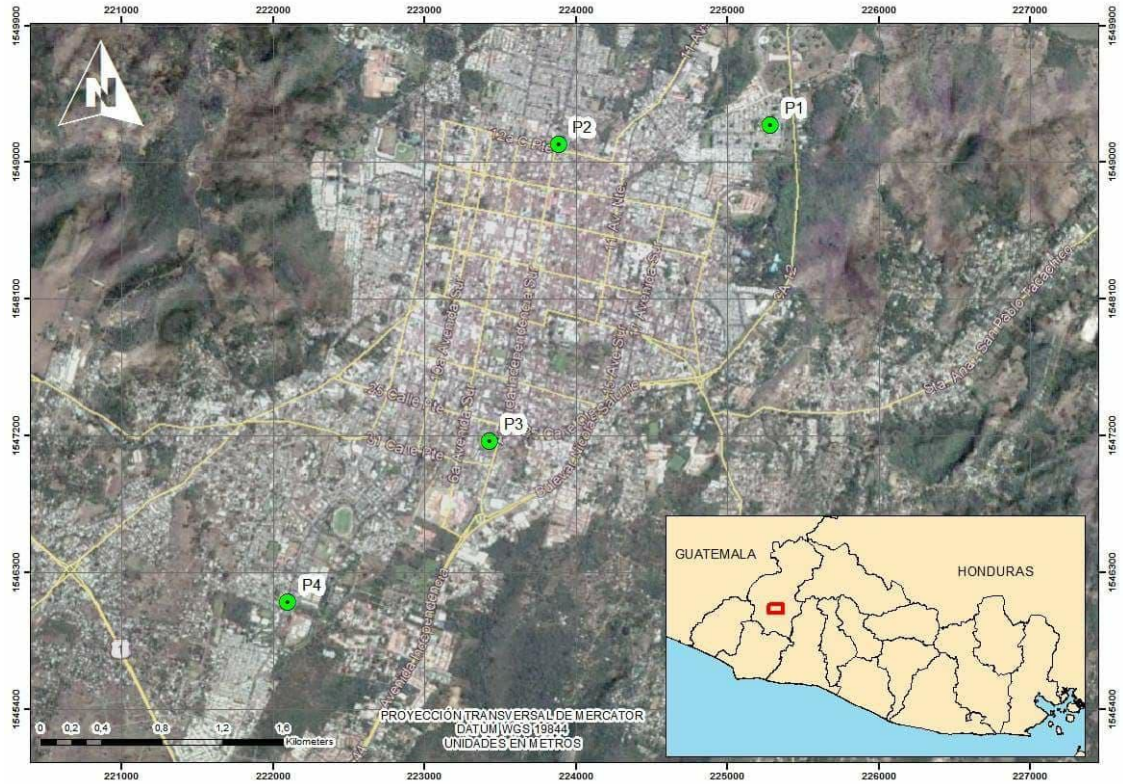


Tabla N°10: Especificaciones de puntos geográficos, mapa del municipio de Santa Ana

Puntos Geográficos	Colonia	Panadería
P1	Colonia Lamatepec	Roxana
P2	Colonia Ivu	Doña Lupe
P3	Barrio Nuevo	Regalo de Dios
P4	Altos del Palmar	Armida

ANEXO N°3

GUIA DE OBSERVACION PARA ELEGIR LAS PRESENTACIONES DE PAN DULCE ARTESANAL MAS COMERCIALIZADAS, UBICADAS EN LA ZONA URBANA DE SANTA ANA EN LAS PANADERIAS DE LAS COLONIAS: IVU, ILAMATEPEC, BARRIO NUEVO, ALTOS DEL PALMAR.

Guía de observación para elegir las presentaciones de pan dulce artesanal más comercializadas, ubicadas en la zona urbana de santa Ana en las panaderías de las colonias: Ivu, lamatepec, Barrio nuevo, Altos del Palmar.



GUIA DE OBSERVACION



OBJETIVO: conocer cuáles son las presentaciones de pan dulce que más demanda tienen en las panaderías seleccionadas.

Nombre de la panadería _____

Ubicación _____

Fecha _____

N°	Presentación	Cantidad diaria vendida	Precio
1	Salpor de arroz		
2	Salpor de almidón		
3	Quesadilla		
4	Yoyo		
5	Torta		
6	Pastelito de leche y piña		
7	Semita		
8	Mieluda (pepercha)		
9	viejita		
10	Queiquito		

ANEXO N° 4

FORMATO DE INFORMACION CONTENIDA EN LAS ETIQUETAS PARA LA IDENTIFICACION DE LAS MUESTRAS DE PAN RECOLECTADAS.

<p>Nombre Comercial:</p> <p>Lugar de recolección:</p> <p>Numero de muestra:</p> <p>Cantidad de muestras recolectadas:</p> <p>Fecha de recolección:</p>

Figura N° 27: Etiqueta para identificación de muestra.

ANEXO N° 5

IMÁGENES DE LAS MUESTRAS DE PAN DULCE ARTESANAL



FIGURA N° 28: Muestras de pan dulce de cada una de las 10 variedades almacenadas en una bolsa de plástico zipper sellada con su respectiva etiqueta individual para cada muestra.

ANEXO N°6

Tabla N°11: Especificaciones del espectrofotómetro. Infrarrojo Shimadzu Irapfinity-1

Característica	Observaciones
Interferómetro	Interferómetro de Michelson (ángulo de incidencia de 30 grados) Sistema avanzado de alineamiento dinámico Interferómetro sellado y secado con desecador automático
Divisor de radiación	Cubierta de Germanio y placa de KBr para región intermedia del IR (Standard)
Fuente	Fuente de Global (Cerámica) con enfriamiento de aire para la región intermedia/lejana del IR con 3 años de garantía (Standard)
Detector	Detector DLATGS con control de Temperatura para la región intermedia/lejana del IR (Standard)
Rango de números de onda	7,800 - 350 cm ⁻¹
Resolución	0.5, 1, 2, 4, 8, 16 cm ⁻¹ (Intermedio/lejano del IR) 2, 4, 8, 16 cm ⁻¹ (cercano del IR)
Razón S/N (señal/ruido)	40,000: 1 y mayores (pico-a-pico, resolución de 4 cm ⁻¹ , aprox. 2100 cm ⁻¹ , escaneo (barrido) de 1 minuto)
Sistema operativo	Microsoft Windows 2000/XP
Interface entre PC y FTIR	IEEE 1394
Monitoreo de hardware	Auto diagnóstico, Monitor de estado Programa de validación en cumplimiento conforme con la Farmacopea Japonesa, Farmacopea Europea, Normas ASTM
Procesamiento de datos	Adición, Multiplicación, conversión Abs a %T, normalización, corrección de línea base, conversión logarítmica, difuminado, derivación, corrección ATR, conversión Kubelka-Munk, análisis de Kramers-Kronig, conversión de número de onda/longitud de onda, detección de pico, cálculo de área del pico, cálculo de espesor de película
Procesamiento cuantitativo	Curva de Calibración Multipunto con altura/área/radio o razón del pico, regresión multilinear (método MLR)
Búsqueda de espectro	Búsqueda de parámetros, Búsqueda, creación de Librería de espectros
Proceso de impresión	Generador de reportes
Software opcionales	Programación de Macro, cuantificación de PLS, curva adecuada, Presentación tridimensional con mapeo
Rastreo de Auditoría	Función de contenedor con almacenaje de interferograma / espectro de fondo (background), Historial de operación, Protección con clave de ingreso, Grabado Log, Conformidad con FDA CFR Part 11, firma electrónica
Detección de accesorios	Reconocimiento automático del accesorio instalado. Además configuración de parámetros de escaneo o barrido y corrida de programación con macro, Accesorios ATR; ATR-8000A, ATR-8200HA, MIRacle A, DuraSamplIR A, etc. Accesorios de reflectancia difusa; DRS-8000A, etc. Accesorios de reflectancia; SRM-8000A, RAS-8000A, etc.
Dimensiones	600 (W) x 680 (L) x 290 (H) mm

ANEXO N° 7
ESPECTROFOTOMETRO INFRARROJO

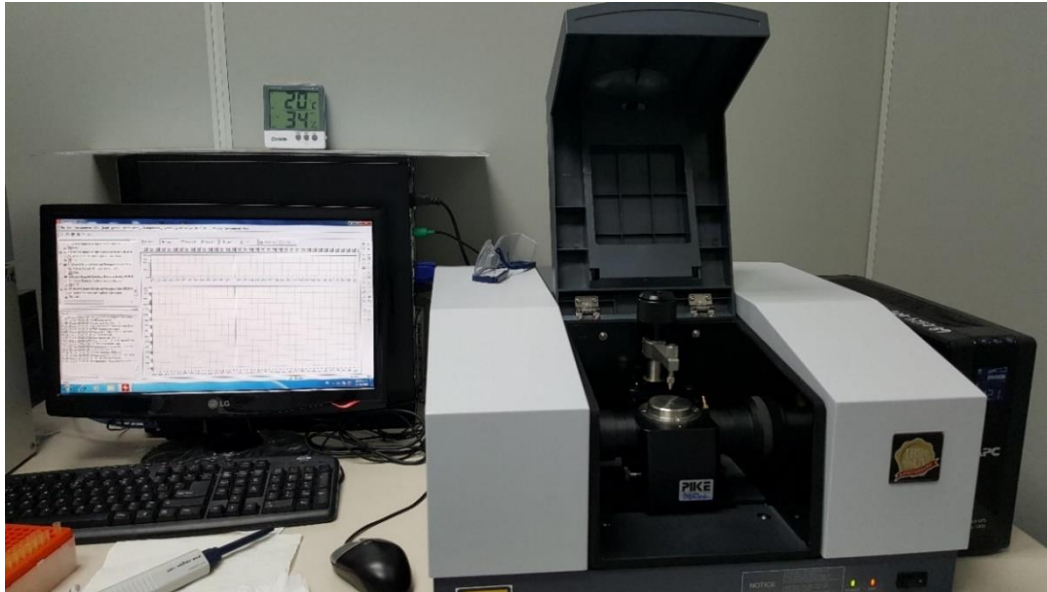


FIGURA N° 29: Espectrofotmetro infrarrojo iraffinity-1 shimadzu con el sistema de unidad de reflectancia total atenuada (ATR) equipado

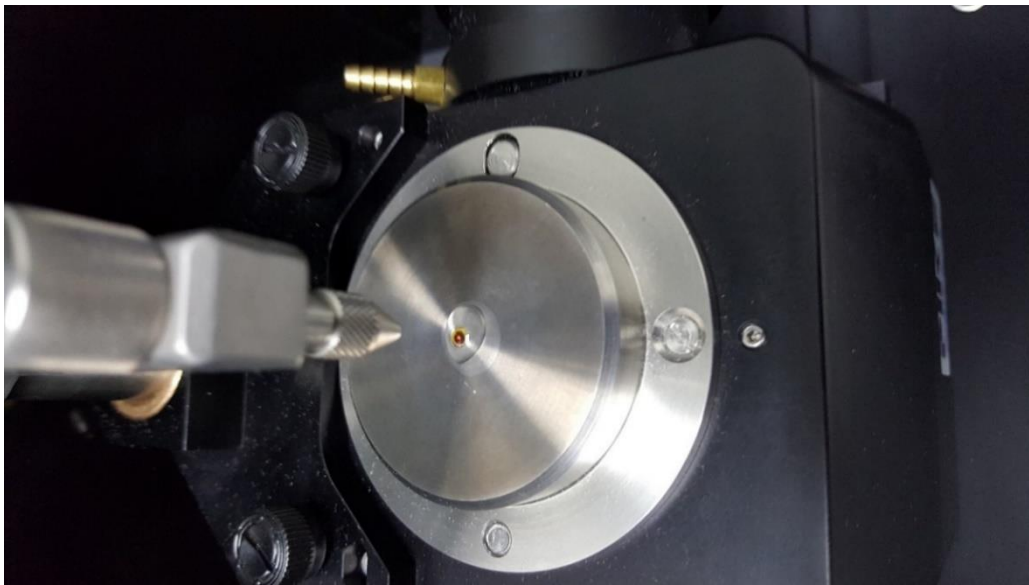


FIGURA N° 30: Celda de reflectancia total atenuada en la que se realizaron los análisis de las muestras de pan dulce artesanal.

ANEXO N° 8

EQUIPO

- Espectrofotómetro Infrarrojo (IR) Shimatzu.
- Sistema de Unidad de Reflectancia Total Atenuada (ATR).

ESTANDAR

- Acrilamida USP.

MATERIA PRIMA

- Muestras de pan dulce
- Solvente: agua ultra pura

MATERIALES

- Beakers y agitadores
- Bomba al vacío
- Filtros HPLC
- Hot plate
- Papel filtro poro 40 y papel parafilm
- Erlenmeyer y kitazato

ANEXO N° 9

IMÁGENES DEL PROCESO EXPERIMENTAL



FIGURA N° 31: Trituración de muestra de pan dulce artesanal con mortero y pistilo.



FIGURA N° 32: Pesada 10 g de pan dulce artesanal



FIGURA N° 33: Muestras de pan dulce en maceración con agua ultra pura.



FIGURA N° 34: Filtración al vacío de muestra de pan dulce artesanal.



FIGURA N° 35: Concentración de las muestras durante 15 minutos.

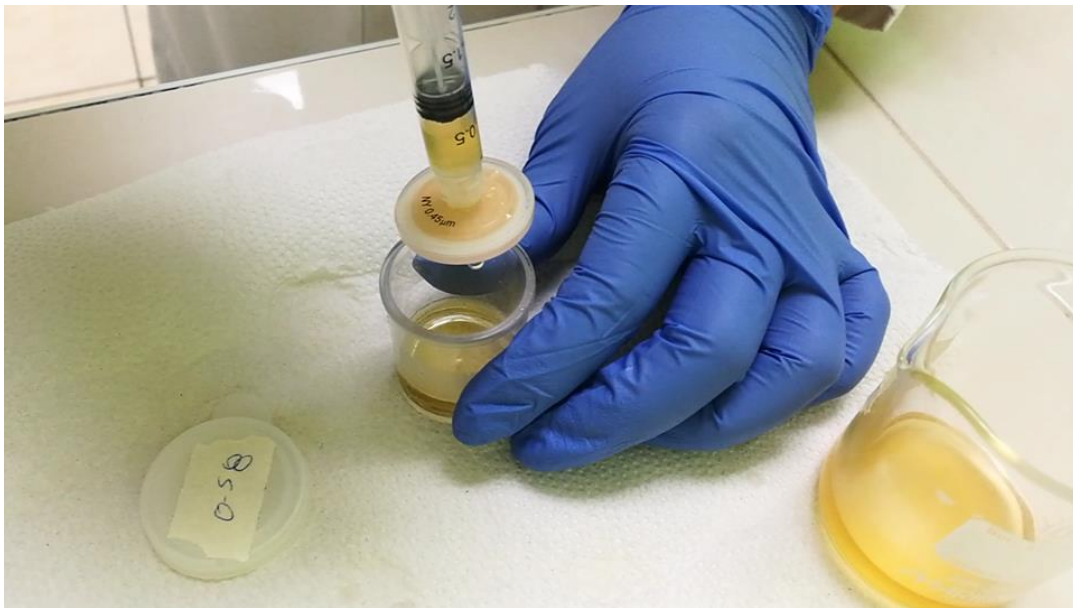


FIGURA N° 36: Filtración de solución concentrada por medio de una membrana de 0.45 µm.

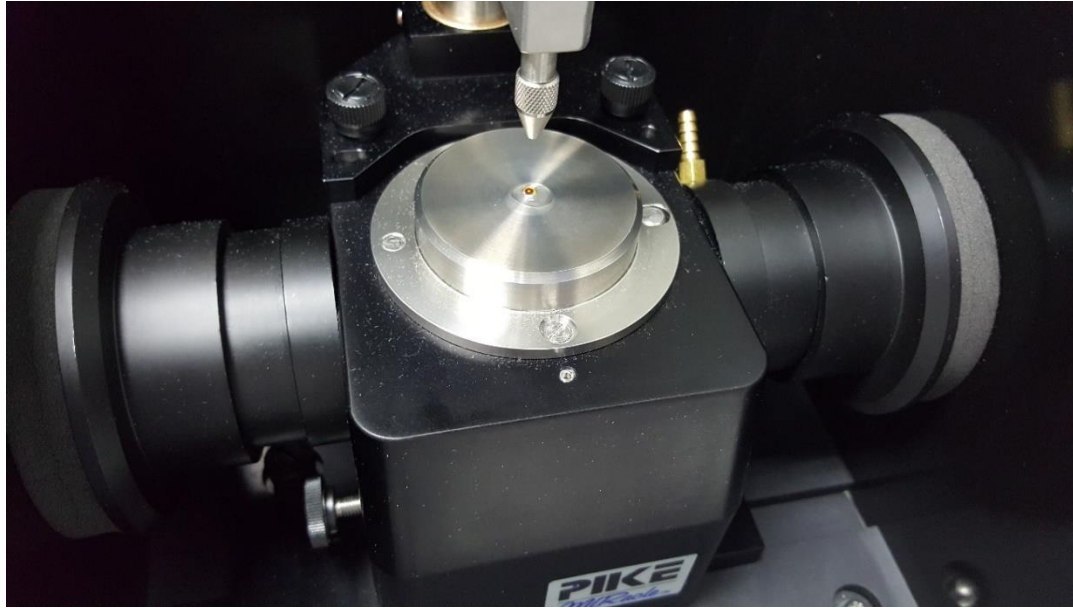


FIGURA N° 37: Celda de reflectancia total atenuada con muestra previa a la lectura.

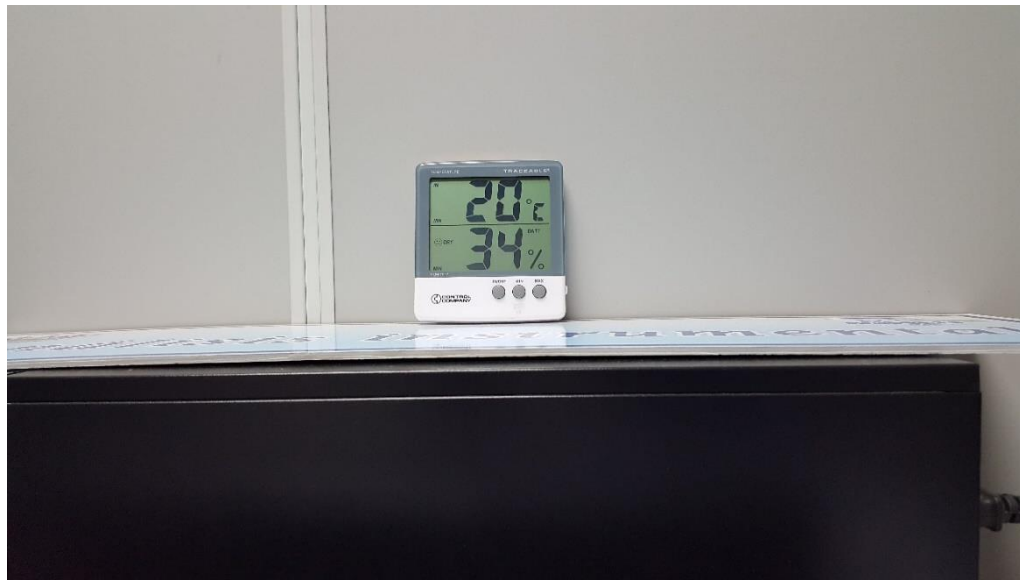


FIGURA N° 38: Condiciones de temperatura y humedad a las que se realizaron las lecturas en el equipo.



FIGURA N° 39: Lectura de muestra de pan dulce artesanal en espectrofotómetro infrarrojo con sistema de unidad de reflectancia total atenuada.

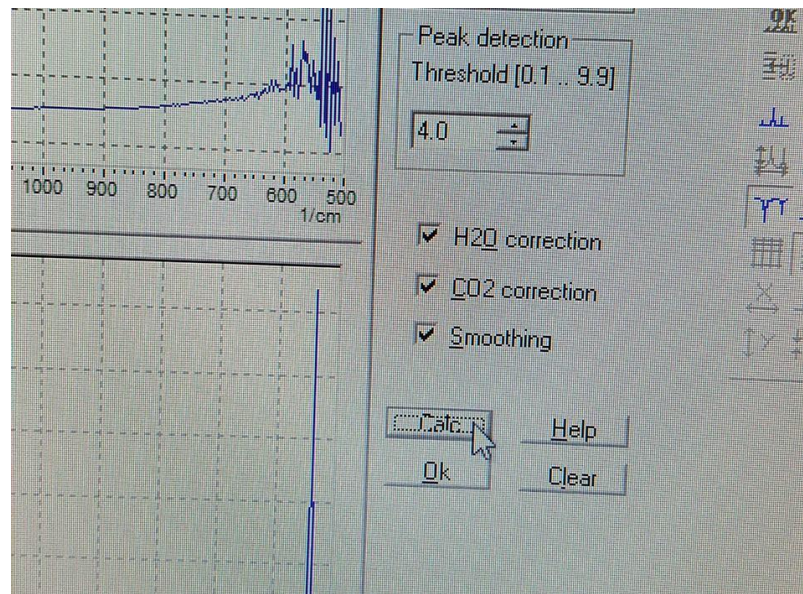


FIGURA N° 40: Correcciones del ambiente aplicadas al equipo para la obtención y mejora de los espectros de las muestras.

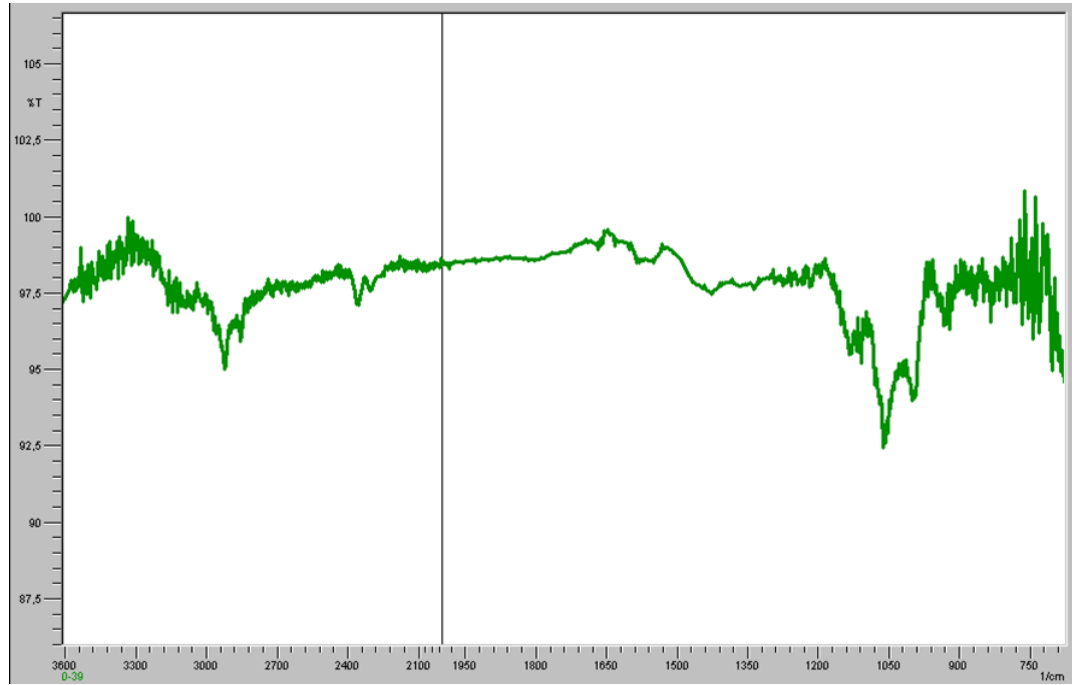


FIGURA N° 41: Espectro infrarrojo de muestra de quesadilla

ANEXO N° 10

Especificaciones de pH-metro DENVER INSTRUMENT UB-10

(click model number for Sartorius equivalent)

Model	UB-5	UB-10
Modes	pH/Temp	pH/mV/Temp
pH Range	0.00 - 14.00	0.00 - 14.00
pH Resolution	0.01	0.01
pH Accuracy	0.005pH	0.005pH
Temperature Range	0.0 - 100.0° C	0.0 - 100.0° C
Temperature Resolution	0.1° C	0.1° C
Temperature Accuracy	0.2° C	0.2° C
mV Range	-	-1800.0 to +1800.0
mV Resolution	-	0.1
mV Accuracy	-	0.2 mV or 0.05%
Relative mV mode	-	Yes

Meter Kit includes meter and combination pH electrode (301423.1), manual and power supply.

Meter Only includes meter, manual and power supply (no electrode).

Meter with Deluxe Kit includes UB-10 meter, base, arm, combination pH/ATC electrode (300728.1), manual and power supply.

Meter with Deluxe Bio-Kit includes UB-10 meter, base, arm, tris-compatible combination pH/ATC electrode (300729.1), manual and power supply.

Common Specifications

Weight	0.6 lb (0.27kg)
Dimensions (LxWxH)	9.0 x 4.8 x 3.1" (229 x 121 x 79mm)
Power Requirements	15V at 100mA, center pin(-), Adapter Included