

Acrilamida e impacto en la industria cerealista: certezas e incertidumbres

Francisco J. Morales

Investigador Científico CSIC

Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición

Propiedades físico-químicas

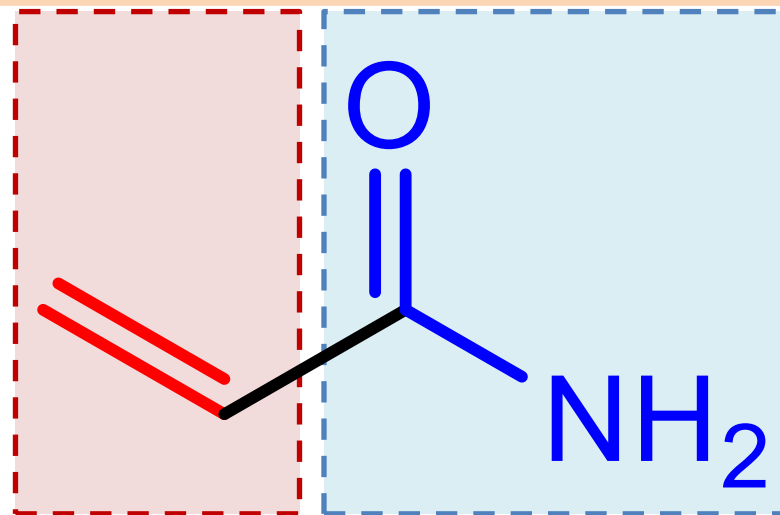
ACRILAMIDA

IUPAC: 2-propenamida, vinil amida

CAS [79-06-01]; EC [201-173-7]

71.02 g/mol ; C_3H_5NO ; $CH_2=CH-CONH_2$

84.5°C $\pm$ 0.3 punto de fusión; 136°C (3.3 kPa) punto de ebullición

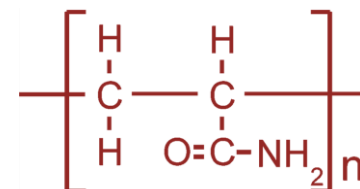


HIDROSOLUBLE y POLAR

MONOMERO BIFUNCIONAL: doble enlace + grupo amida

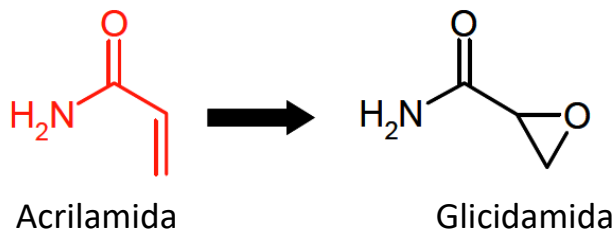
REACCIONES DE ADICIÓN DE MICHAEL

POLIMERIZACION: Reacción con radicales libres



Toxicidad

- **NEUROTOXICIDAD** (en humanos)
- **INFERTILIDAD**
- **CARCINOGENO** (mecanismo genotóxico → tumores/daño hereditario)
 - Genotóxico, Mutagénico, Clastogénico y Teratogénico
 - Aductos ADN (GA > AA, vía adición de Michael) – **modificación irreversible ADN**
 - Amplia distribución en órganos y tejidos (roedores)
 - **No se considera valor umbral de inocuidad para un carcinógeno** (evaluación riesgo)





1994

AA es clasificada por la IARC como posible cancerígeno 2A en humanos

(probably carcinogenic to humans - based on sufficient animal evidence and limited human evidence)

Directiva 67/548/EEC - Regulación EC-1272/2008 sobre sustancias de riesgo
Carcinógeno (1B-H350) / Mutágeno (1B-H340) / Infertilidad (2-H361f)

Listado REACH (2010) – carcinógeno (categoría 1B)

US-EPA – probable carcinógeno en humanos (categoría A3)

No se puede establecer una Ingesta Diaria Tolerable (TDI) para un carcinógeno genotóxico

Principales fuentes de Exposición a Acrilamida

- Industria elaboradora/manipuladora acrilamida
- Tabaco
- Agua de Consumo
- Cosmética
- Migración desde envases
- **ALIMENTOS (2002)**

Regulaciones sobre Acrilamida:

10 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Migración de envases...	EU 10/2011
0.1 $\mu\text{g}/\text{L}$	Agua de consumo.....	EC 83/1998
100 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Cosméticos.....	EC 1223/2009
30 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	Aire zona trabajo.....	EFSA (2005)
< 0,1 %	Monómero/polímero	EC 1907/2006 REACH

CONTAMINANTES QUIMICOS EN ALIMENTOS

TOXINAS NATURALES

- Micotoxinas
- Alcaloides de plantas superiores
- Biotoxinas marinas

AMBIENTALES

- Metales pesados
- Dioxinas
- ...

RESIDUOS AGRICOLAS

- Fungicidas
- Pesticidas
- Antibióticos
-

ENVASES

- Bisfenol A
- Estireno
- Semicarbazida
-

PROCESO

- **TERMICO**
- FERMENTACION
- CONSERVACION
- ...

LA ACRILAMIDA ES UN CONTAMINANTE QUIMICO DE PROCESADO EN ALIMENTOS

PROCESADO TERMICO

ACRILAMIDA

Aminas Heterocíclicas
Hidrocarburos Aromáticos
2-, y 3-MCPD y ésteres
Glicidol y ésteres
Furano
Acroleína

Fermentación/Conservación

Etilcarbamato
N-Nitrosamina
Aminas Biógenas

Nivel del Riesgo – Margen de Exposición (MOE) – efecto neoplásico

Evaluación del Riesgo de compuestos que son genotóxicos y carcinogénicos



18.oct.2005

EFSA-SC-Q-2004-020

$$\text{MOE} = \frac{\text{dosis tumorigénica en ratones (BMDL}_{10})}{\text{ingesta en humanos}}$$

BMDL₁₀: Límite mínimo de confianza para la dosis de referencia

$$\uparrow \text{MOE} = \downarrow \text{RISK}$$

Margen de seguridad de 10.000 (basado en BMDL₁₀)

MOE contempla determinadas incertidumbres:

- x 10 : variabilidad inter-especies
- x 10 : variabilidad entre humanos
- x 10 : según el proceso neoplásico
- x 10 : BMDL de muy baja respuesta
- x 2.5 : si se usa T25 en vez de BMDL

Nivel del Riesgo – Margen de Exposición (MOE) – efecto neoplásico

Riesgo Potencial para
la salud del
consumidor



< 10 000
(EFSA)

Caracterización del riesgo
Efecto neoplásico

BMDL₁₀ = 0,17 mg/kg bw/día (adenomas en glándula Harderiana y adenocarcinomas - ratones)

	<u>Cancer risk</u>
Dicloropropanoles	2.100.000 - 32.000
HAAs (<i>PhIP</i>)	260.000 - 164.000
Aflatoxinas	100.000
PAHs (benzo(<i>a</i>)pireno)	25.000 - 10.000
N-nitrosaminas (NDMA)	18.200 - 12.000
Etilcarbamato	9.000 - 5.460
Furano	3.900 - 1.600
3-MCPD	3.055 - 800
Acrilamida (2005)	300 - 75
Acrilamida (2015)	425 - 89

MOE bajo para un compuesto genotóxico y carcinogénico

Posible Riesgo en Humanos

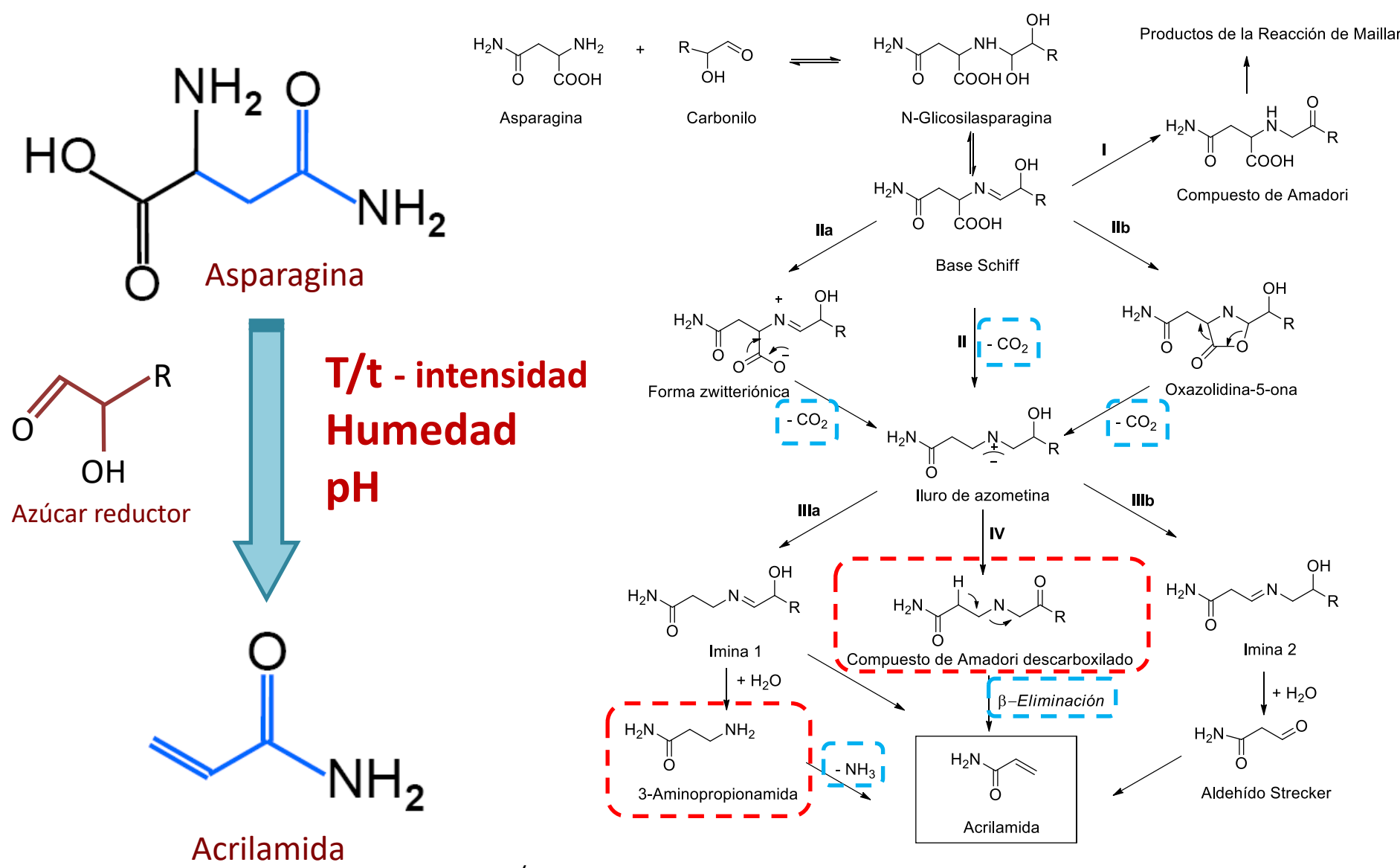
(EFSA, CONTAM panel, Abril 2005)

Informe final EFSA (jun, 2015)

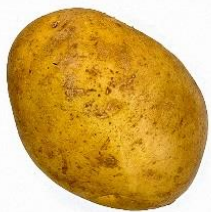


*“.....**acrilamida** en los alimentos **incrementa** potencialmente el **riesgo** de desarrollar determinados tipos de **cáncer** en todos los grupos de edad”*

**LA INGESTA DE ACRILAMIDA SUPONE
UN RIESGO PARA EL CONSUMIDOR**



(Motttram y col., 2002; Stadler y col., 2002; Zyzak y col., 2003; Yaylayan y Stadler, 2005)



PATATA

Azr: 0,05 - 2,7 g/kg

Asn: 1,8 - 4,5 g/kg



TRIGO

Asn: 0,07 - 0,4 g/kg

Centeno

Asn: 0,32-0,79 g/kg

Avena

Asn: 0,25-0,40 g/kg

Arroz

Asn: 0,01 g/kg



CAFE

Robusta

Azr: 50 g/kg

Asn: 0,78 g/kg

Arábica

Azr: 75 g/kg

Asn: 0,49 g/kg



ZANAHORIA

Azr: 2,8 g/kg

Asn: 0,25 -1 g/kg



ACHICORIA

Azr: 180 g/kg

Asn: < 2,8 g/kg



ALMENDRA

Azr: 0,7-1,3 g/kg

Asn: 0,9-6,4 g/kg

FRITUTRA HORNEADO ASADO

HORNEADO TOSTADO

TOSTADO

HORNEADO FRITURA

TOSTADO

TOSTADO

ACR (<LOQ – 5000)

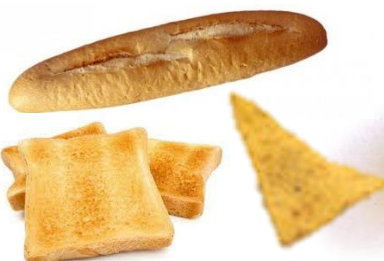
(<LOQ – 800)

(200 – 1200)

<LOQ - 500

1000 - 5000

200 - 2000



Exposición dietética a acrilamida (estimación)

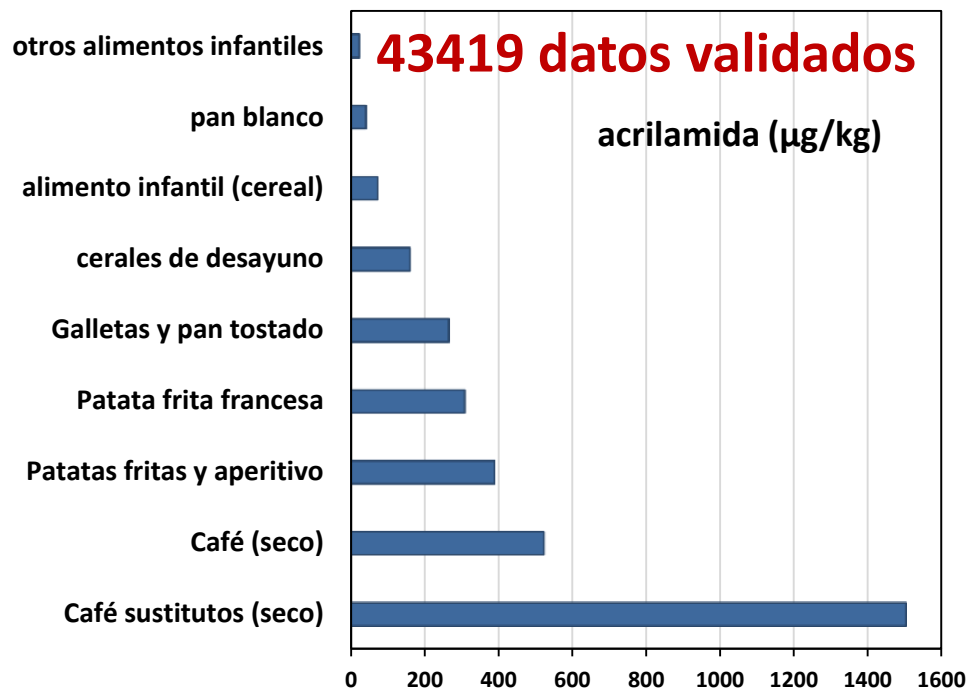
Alimentos que contienen Acrilamida constituyen el:

- **38% de las calorías diarias en la dieta!**
- 33% de los carbohidratos
- 36% de la fibra
- 28% de la grasa
- 20% del calcio
- 47% del hierro
- 25 a 35% de otros micronutrientes
- 15% de vitamina A
- 34% de vitamina E
- 22 a 44% de vitaminas B, C y folato

Estimación de la exposición crónica en la población (EFSA, 2015)

Presencia AA alimento ($\mu\text{g}/\text{kg}$) x consumo diario / peso corporal

11 Grupos de alimentos (x 112 categorías individuales - FOODEX)



X

61338 sujetos
(7 grupos de edad)
28 encuestas nacionales
17 países EU



Media = 0,4 – 1,9 $\mu\text{g}/\text{kg}$ bw/día

P₉₅ = 0,6 – 3,4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ bw/día

* Para todos los
grupos de edad
estudiados

Estimación de la exposición crónica en la población (EFSA, 2015)

Contribución de los principales grupos de alimentos a la Exposición

Exposición Total (ADULTOS)

Grupo de Alimentos	2007 Media (%)	2015 Mínimo (%)	2015 Máximo (%)
Patatas fritas	10-46%	9,7	49
Patatas snacks	Incluido en Fritas	0,7	7
Pan blanco	Incluido en cereales	9,9	22
Cereales desayuno	10-30%	0,9	10
Galletas	10-20%	2,4	17
Café (bebida)	13-39%	3,1	24
Semillas tostadas	--	0,3	4
		12	45

CEREALES (%)

12

45

Caja de Herramientas para Acrilamida



Acrylamide

Toolbox 2013



Potato Based Snacks

Snacks made from potatoes whether sliced and fried or fabricated products made from potato based ingredients (flakes, granules, etc.)



French Fries & Other Cut (Deepfried) Potato Products



Cereal/Grain Based Products

Products include bread, crisp bread, pretzels, breakfast cereals, and biscuits/bakery wares [classification as defined in the CAOBISCO study 2008, including crackers, semisweet products, pastries, short sweet biscuits, wafers, cakes and gingerbread].



Coffee, Roasted Grain & Substitutes



Baby Biscuits, Infant Cereals & Baby Foods Other than Cereal Based Foods



Nueva revisión



ACRYLAMIDE TOOLBOX 2017

10.enero.2014 – rev. 13

“No lo quemes, dóralo ligeramente”

HOW TO CUT DOWN ON ACRYLAMIDE (TIPS)

National authorities in the EU offer advice to consumers tailored to national eating habits and culinary traditions. Also, a careful selection of raw materials and cooking practices can help limit acrylamide formation. A rule of thumb is: “**Don’t burn it, lightly brown it**”. Further examples of tips from national authorities:



During **frying**, follow recommended frying times and temperatures to avoid overcooking, excessive crisping and burning.



Toast bread to a golden yellow rather than brown colour.



Cook potato products like French fries and croquettes golden yellow rather than brown.



Do not store potatoes in the refrigerator as this increases sugar levels (potentially increasing acrylamide production during cooking). Keep them in a dark, cool place.

ESTRATEGIAS EDUCACIONALES HACIA LA POBLACION



**DORADO
PERO NO PASADO**

aecosan

agencia española
de consumo,
seguridad alimentaria y nutrición

Corresponsabilidad

PATATAS



ALIMENTOS EMPANADOS



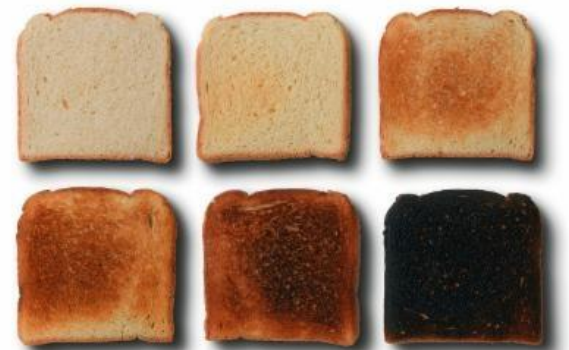
PAN/TOSTADAS



5 Consejos para reducir la formación de **acrilamida** en **patatas fritas**



"GO FOR GOLD"



PROYECTO SAFEFYING: financiado por el Plan Estatal de Investigación Científica y Técnica y de Innovación (AGL2015-64234-R).
Investigador responsable: Francisco J. Morales (ICTAN-CSIC). Ilustración y maquetación: Antonio Ortega / Marta Mesías

RECOMENDACIONES

COMISIÓN

RECOMENDACIÓN DE LA COMISIÓN

de 3 de mayo de 2007

relativa al control de los niveles de acrilamida en los alimentos

[notificada con el número C(2007) 1873]

(Texto pertinente a efectos del EEE)

(2007/331/CE)

Recomendación de la Comisión a los Estados Miembros 2007/331/EC (3.mayo.2007) relativa al control de los niveles de acrilamida en los alimentos

Reporte anual (1 Junio), excepto para patatas fritas (semestral)

EFSA (30.abril.2009)

Table 7: Sample size (N), arithmetic mean (AM), geometric mean (GM), and significance for the analysis of variance (p) when comparing results reported in 2007 and in 2003-2006.

	2007			2003-2006			p
	N	AM µg/kg	GM µg/kg	N	AM µg/kg	GM µg/kg	
☹ Biscuits	227	317	172	1169	243	135	0.007
☺ Bread	272	136	66	767	274	122	<0.001
☹ Breakfast cereals	128	156	108	223	116	77	0.015
☹ Cereal-based baby food	76	74	43	77	55	35	0.725
☺ Coffee	208	253	177	410	427	327	<0.001
☹ French fries	529	350	227	1655	284	178	<0.001
Jarred baby foods [#]	84	44	31	8	180	142	-
☺ Other products	854	313	154	3877	441	192	<0.001
☺ Potato crisps	216	628	366	947	678	514	<0.001
☹ Home-cook potato products	121	319	158	178	267	102	0.002

[#] Data of this product group is not compared.

☺- Reducción alcanzada

☹- Reducción NO alcanzada

VALORES INDICATIVOS



- **En base a :**
 - Resultados de monitorización EFSA (desde 2007 -)
 - Recomendación 2007/331/CE (03.may.2007)
 - Recomendación 2010/307/CE (03.jun.2010)
 - **Recomendación 10.enero.2011 de la CE, insta a:**
 - Inspección en alimentos de alto AA y/o alto consumo
 - Establecimiento de **Valores Indicativos** (solo para inspección e investigación)
- NO son umbrales de seguridad, NO son limites máximos**
- Evaluación de las APPCC de empresas agroalimentarias con resultados superiores a los valores de referencia
 - **Reevaluación de las acciones el 31.dic.2012**

REGLAMENTO (UE) 2017/2158 DE LA COMISIÓN

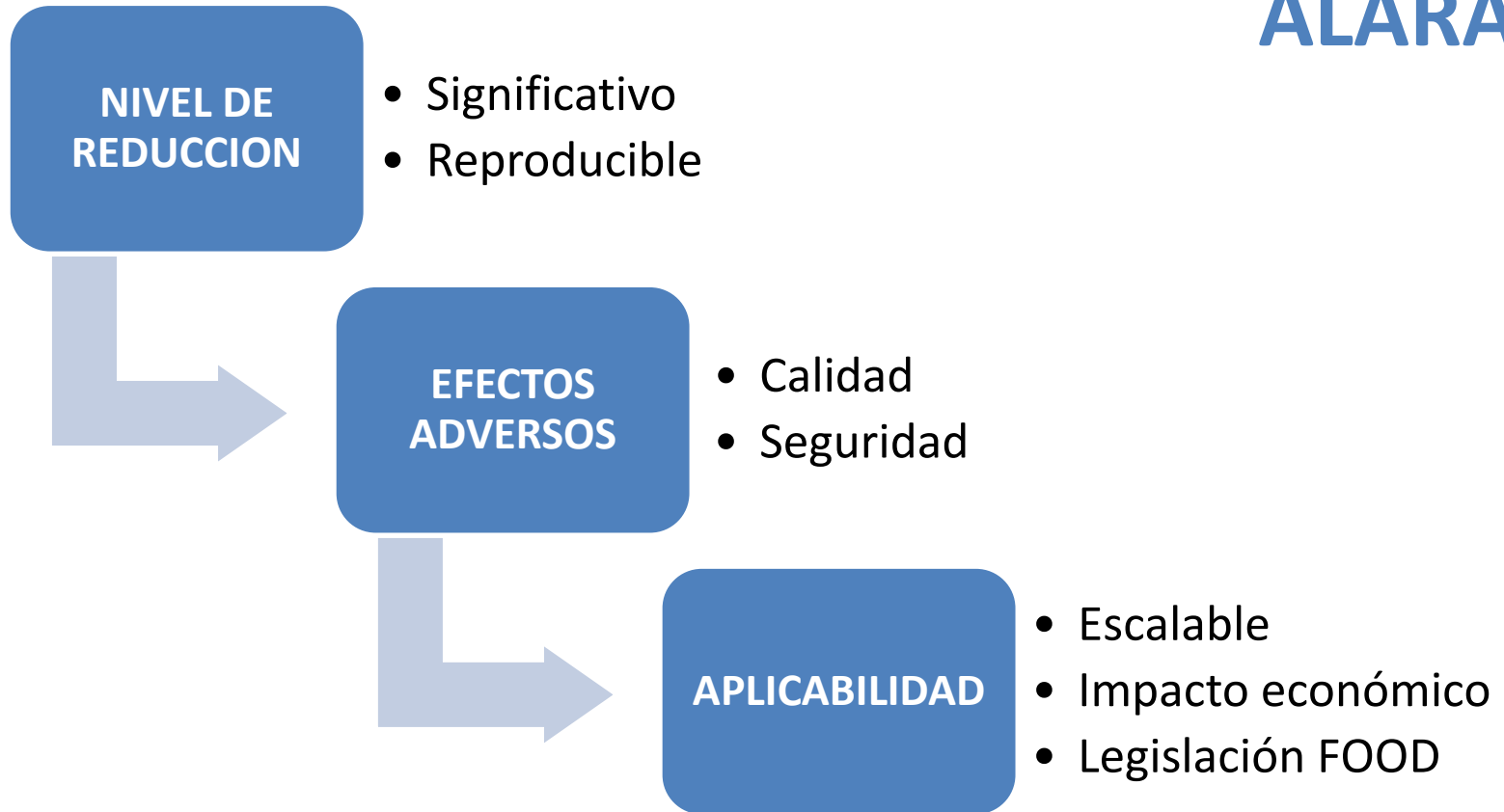
de 20 de noviembre de 2017

por el que se establecen medidas de mitigación y niveles de referencia para reducir la presencia de acrilamida en los alimentos



Criterios para la selección de una estrategia de mitigación (industria)

ALARA



MITIGACION DE ACRILAMIDA EN ALIMENTOS DE BASE CEREAL

INTENSA INVESTIGACION

FUENTES DE VARIABILIDAD

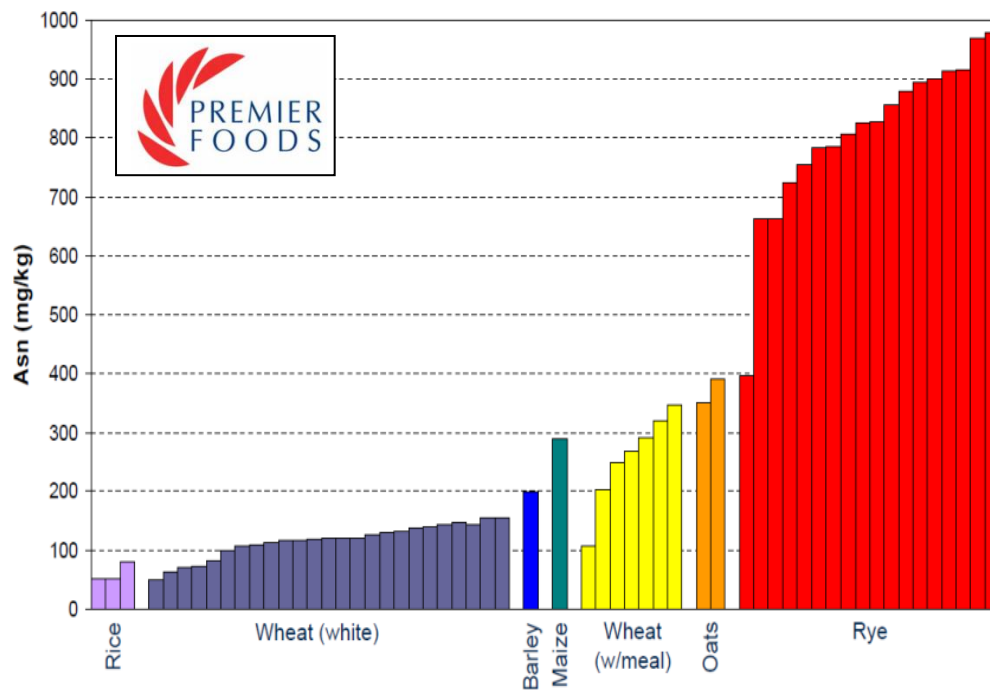
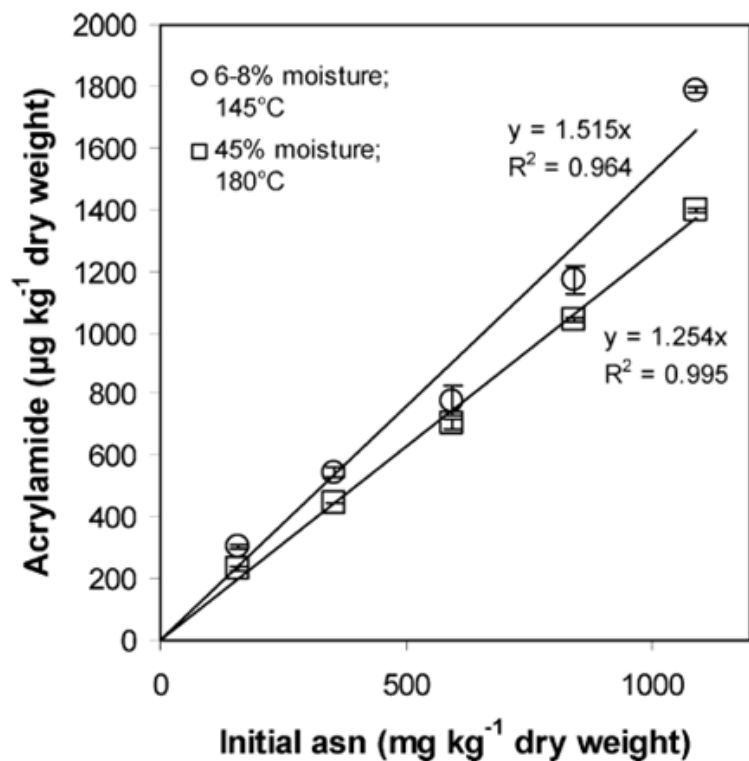
COMPLEJIDAD

UNA SOLUCIÓN AJUSTADA A CADA PRODUCTO

Vincent van Gogh “Campos de Trigo” ©

FACTOR LIMITANTE EN CEREALES

arroz -> maíz -> cebada -> trigo-> avena -> **CENTENO**



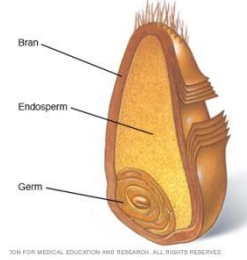
Hamlet et al. (2009)

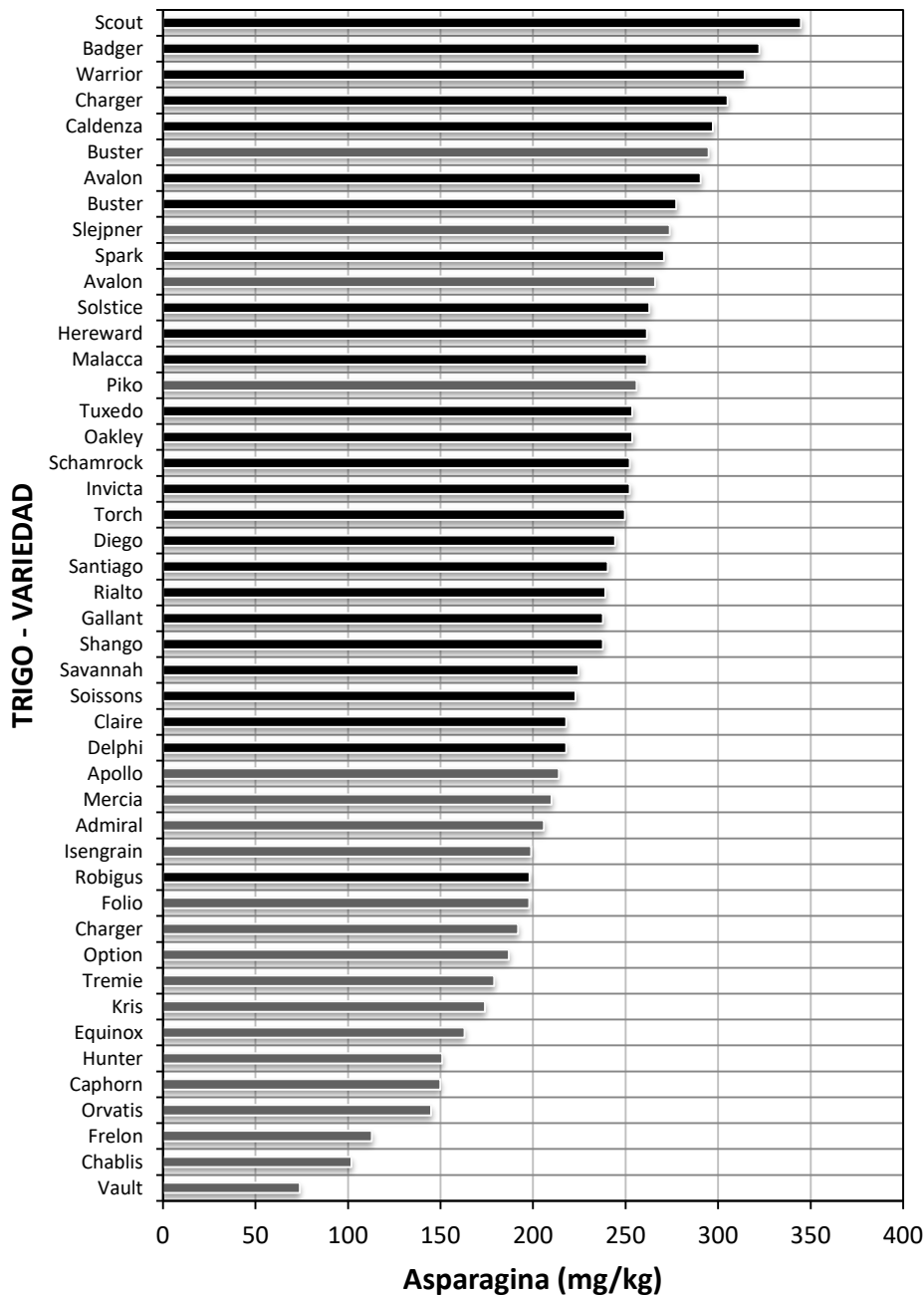
Asparagina

- 30-50% del total aminoácidos libres
- Se concentra en el salvado -> **Implicaciones Nutricionales (R/B)**

Paradoja. Harinas ↑ Refinado -> ↓ AA

- Necesidad de un **método armonizado** de análisis. Disparidad de valores.
 - ACCION COST 2018 – ACRYCER – en evaluación ESF
Reducing acrylamide exposure of consumers by a cereals supply-chain approach targeting asparagine





Asparagina

VARIABILIDAD

Asn en TRIGO

228 (74 – 581) mg/kg

Variabilidad anual

Trigo	Asn	2011-2013	
variedad	mg/kg Media	min	max
Abbot	403	329	664
Claire	199	163	232
Consort	264	153	326
Rialto	247	178	286
Shango	305	238	443

UK/FR/DE

■ Fertilización (N/S) controlada

Curtis et al. (2018)
Taymans et al., (2004)

PRACTICAS AGRICOLAS

Asparagina - TRIGO

Efecto de la fertilización (N)

130 kg N/Ha → 220 kg N/Ha

Asn x4

Efecto de la fertilización (S)

Azufre deficiencia → **Asn x4 - x30**

Mínimo = 20 kg S/Ha

Curtis et al. (2018)
Taymans et al. (2004)

ASPARAGINA

- **¿eliminación?**. Importante para el ciclo de almacenamiento de N en plantas
- Factores implicados:
 - **GENETICOS**
 - **AMBIENTALES**
 - **AGRONOMICOS**
 - **FITOSANITARIOS**

No se esperan cambios apreciables durante el almacenamiento del grano

El contenido en Asn debería ser indicado en cada partida

**Utilizar variedades de niveles de Asparagina
adecuados para cada uso tecnológico**

Muy diversa complejidad y heterogeneidad



HARINA

Trigo
Avena
Arroz
Mijo
Maíz
Centeno
Malta
Espelta
.....

AGUA

SAL

LEVADURA

GASIFICANTES

NaHCO_3
 NH_4HCO_3
.....

AZUCARES

Sacarosa
Glucosa
Fructosa
az. invertido
(miel)
Almidón
Caramelo
Polioles
oligofructanos
.....

GRASAS

Saturadas
(animal)
(vegetal)
PUFA
....

OTROS/aditivos

Suero lácteo
Leche en polvo
Caseína
L-carnitina
Huevo
enzimas
Frutos secos
Semillas
Cacao
Antioxidantes
Aromas
Patata
COBERTURAS
RELLENOS
....

PROCESO

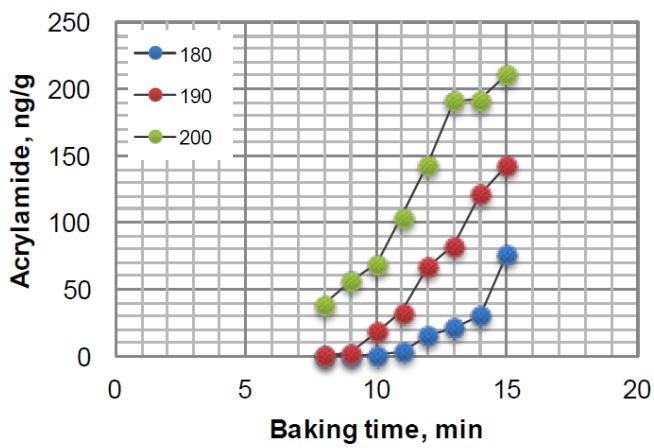
Convección
Conducción
IR
Vacío
Vapor
MIXTOS



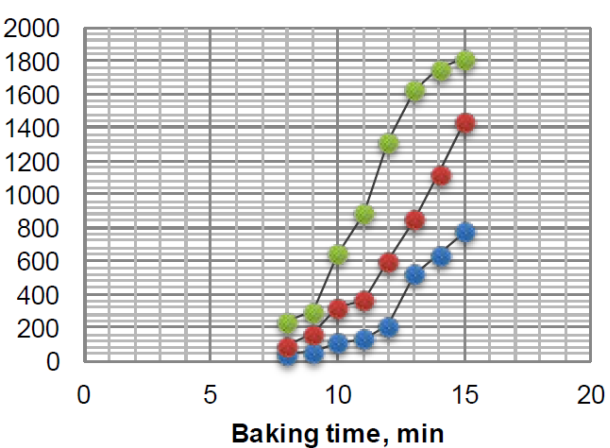
Ingredientes: 200 µg AA /kg -> REGISTRO

Formación dependiente de la temperatura / tiempo

Basic Recipe

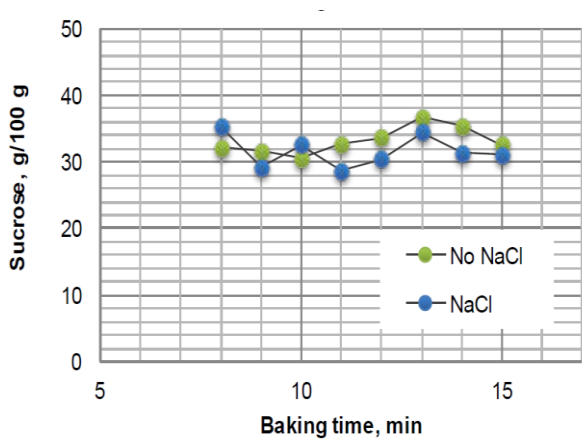
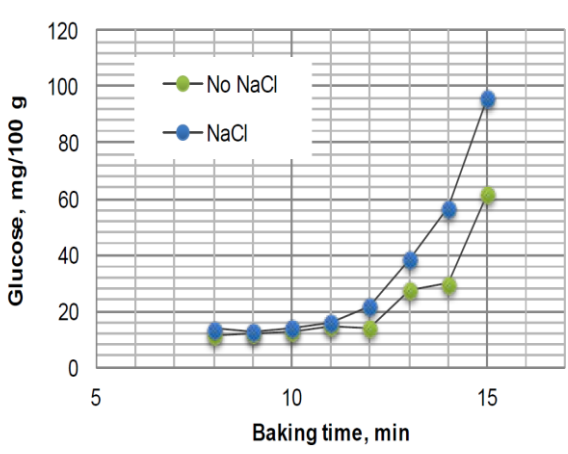
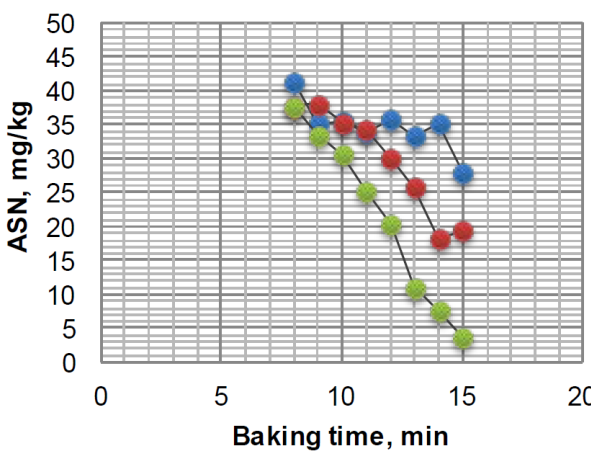


Basic Recipe + ASN



Galleta - Formula básica	g
Harina de trigo (T55/W150)	80
Aceite Palma refinado	20
Sacarosa	35
NaCl	1
Agua	17,6
Na-HCO ₃	0,8
NH ₄ -HCO ₃	0,4

Horno convección



Gokmen et al. (2011)

PROCESADO – impulso térmico

Evento en la superficie del producto (humedad y grosor)

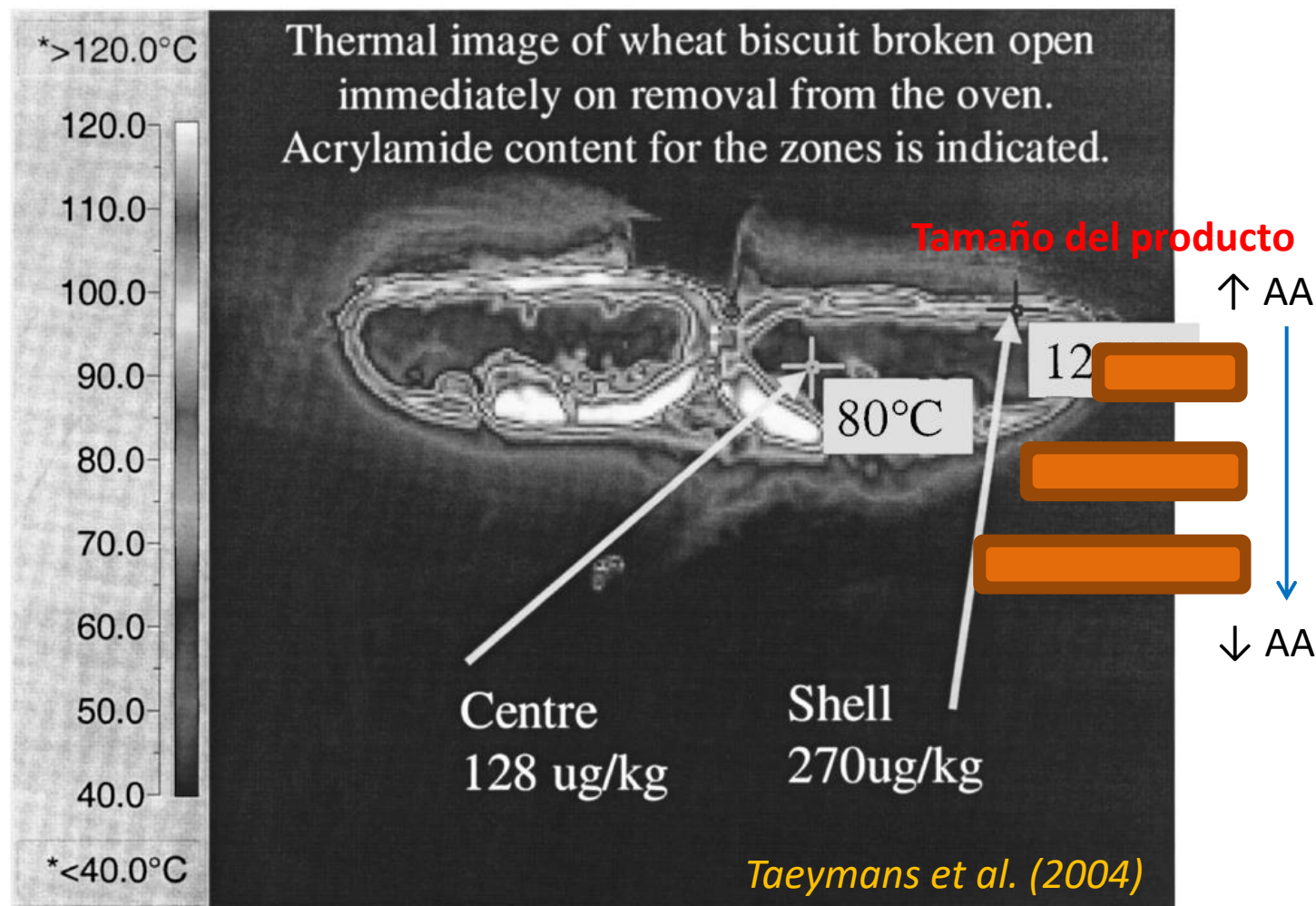
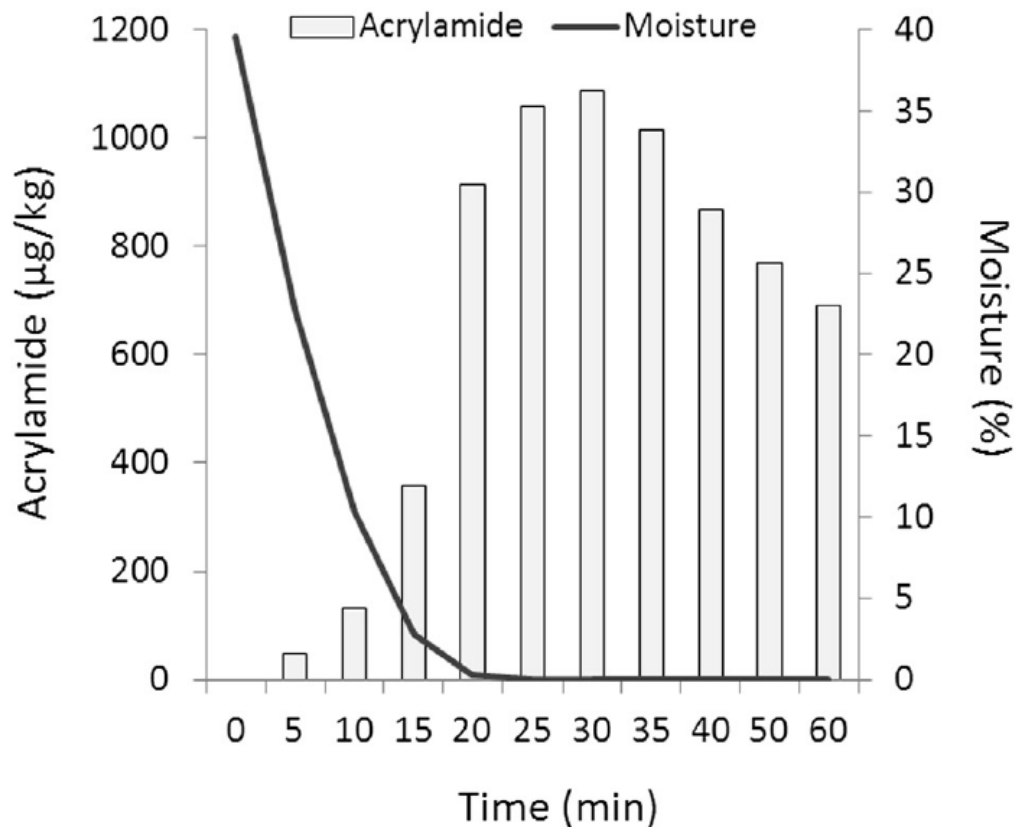


Figure 14 Thermal image of a cross section of wheat biscuit cereal at a point half way through an oven. The cooler centre zone never exceeds 80°C. The acrylamide content of the major temperature zones is indicated for a fully baked biscuit.

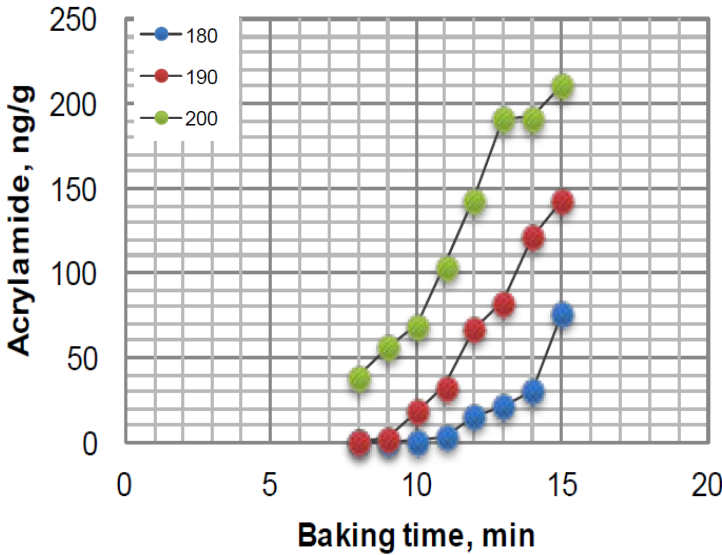
PROCESADO – HUMEDAD

- AA se forma en la etapa final del horneado (< 5% HUMEDAD)
- Registrar el contenido de humedad
- Procesos ALTERNATIVOS o combinados horneado convencional
 - Vacío / Vapor / Radiación Infrarroja

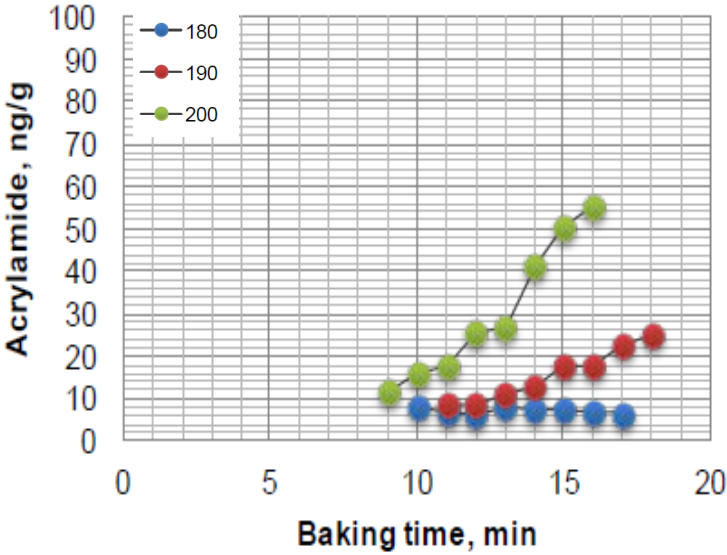


Elmore et al.(2005)

Atmosférica (100 kPa)



vacío (50 kPa)



Gokmen et al. (2011)

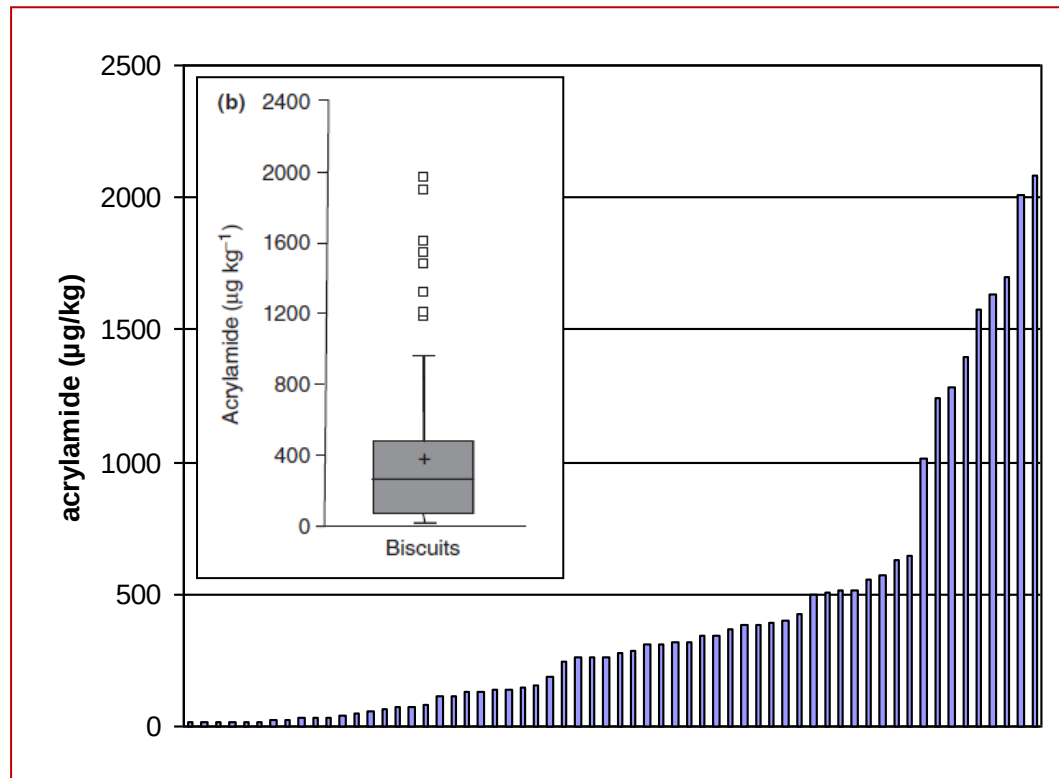
FORMULACION – Bicarbonato amónico

Sustitución NH_4HCO_3 por NaHCO_3

Reducción > 40%

PARADOJA (Salud): ↑ Na (500 mg/100g, valoración nutricional)

Acrilamida en galletas (España, 2007)



Acrilamida (µg/kg)

Media **423**

Mediana **268**

Tipo

Desayuno 247^a

Enriquecida 83^b

Fibra 284^a

Bicarbonato amónico

Si 1549^a

No 230^b

Contenido en fibra

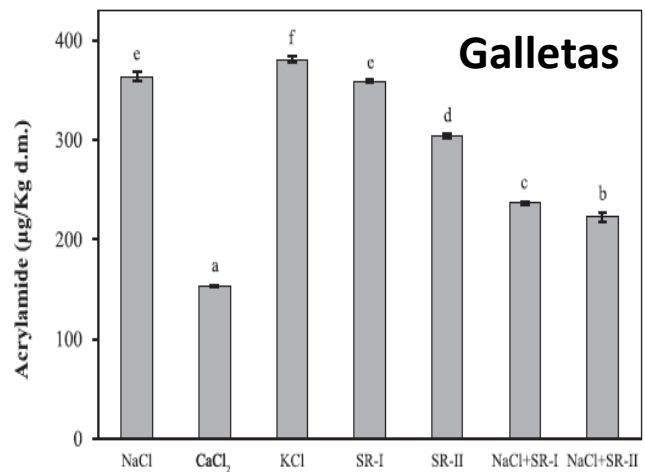
>5% 283^a

<5% 166^b

Rufián-Henares y col. (2007)

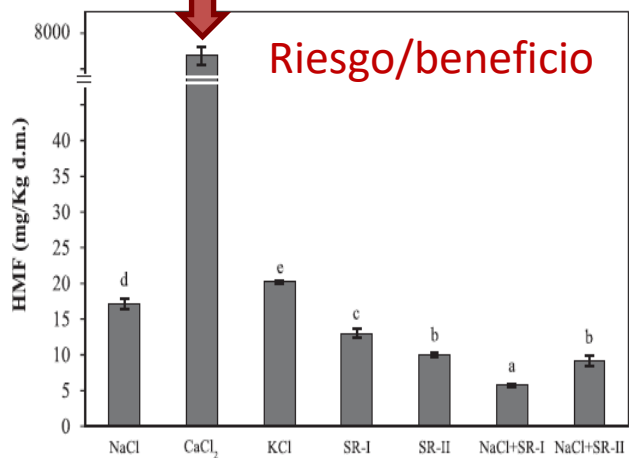
FORMULACION – CATIONES BIVALENTES

- Ca^{++} y Mg^{++} reduce la solubilidad de la Asn + “Bloqueo iónico” → Estabilidad



↑ degradación Glucosa

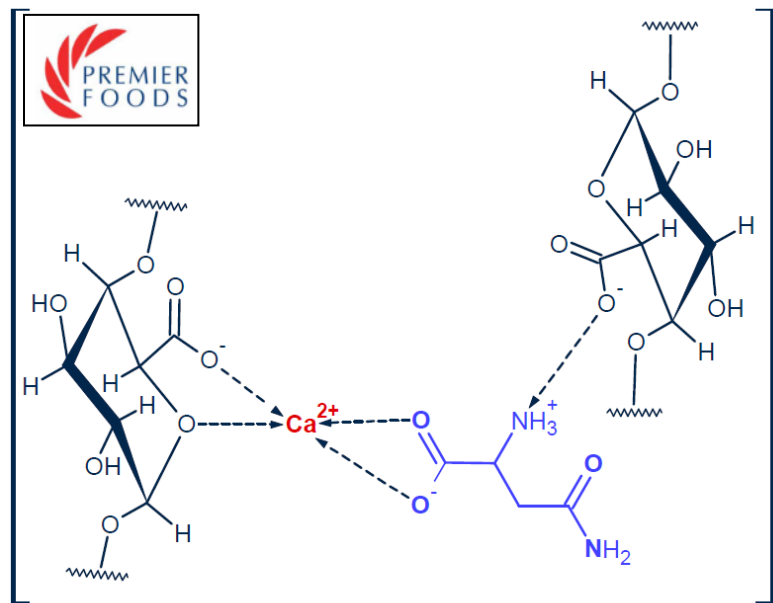
HMF



PAN

Fortificación harina (0,3 – 1% CaCl_2 , CaCO_3)

Aplicar en superficie



Hamlet et al. (2009)

Mesías y col. (2015)

- **Efecto ambivalente (pan)**
 - **< 2%:** inhibición de actividad enzimática (amilasa) → ↓ **Azúcares**
 - **> 2%:** inhibición del desarrollo de la levadura → ↑ **Asn**

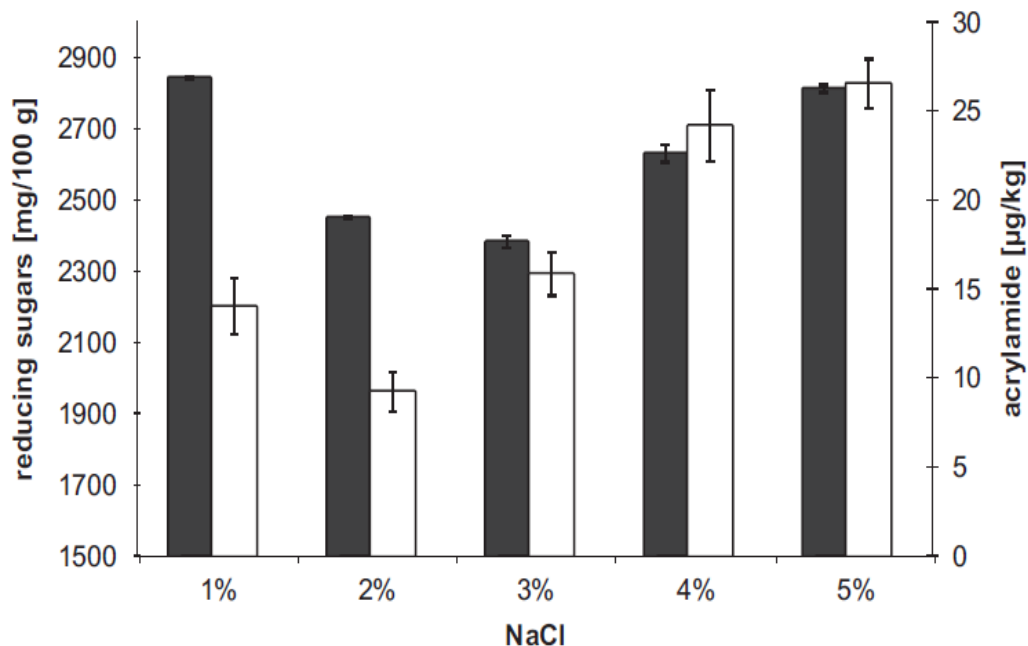


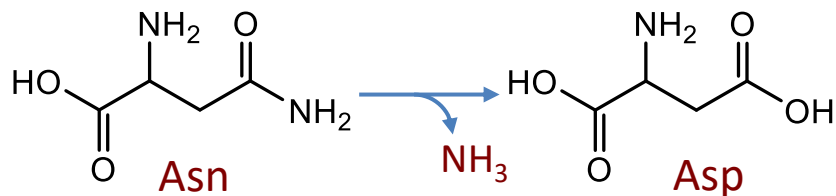
Fig. 1. Influence of added NaCl on reducing sugars (black) in dough and acrylamide (white) in bread rolls

PROCESADO - FERMENTACION

- **Prolongar la fermentación -> ↓Asn -> ↓ Acrilamida (80%)**
- Efectivo en pan, pan tostado y crackers
- **Riesgo:**
 - 3MCPD
 - cambios sensoriales (aroma, textura)
- Levaduras adaptadas no-GMO (AR-yeast, Reinassance Bioscience®)
- Reúso de masa fermentada es menos efectiva
- Vigilar niveles de NaCl

Claus et al.(2008)

PROCESADO - ASPARAGINASA



Actividad (masa)

pH: 4 a 6-7 (max.)

Temp: 10 a 50-60°C (max.)

Humedad: 11 a 45% (max.)

Tiempo: según $[\text{Asn}]_0$

Amplio espectro de uso,
excepto en cereales de
desayuno

Grado alimentario - “GRAS status”

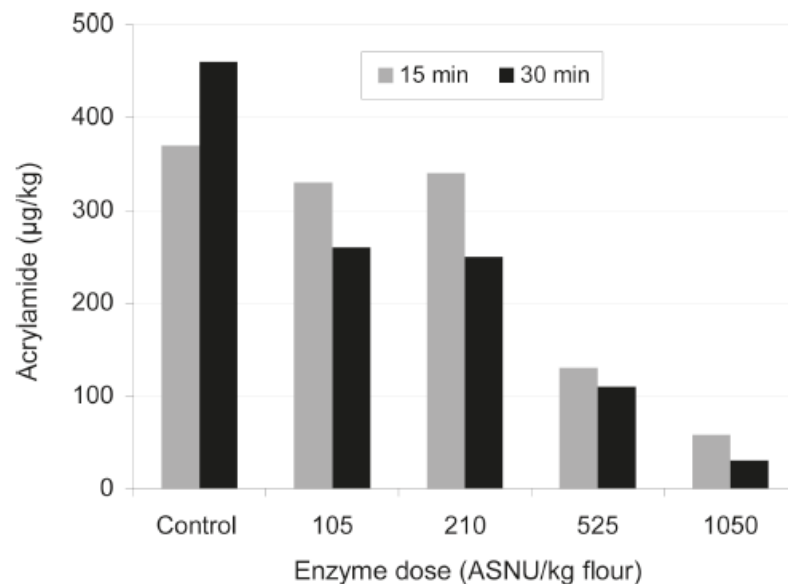
Utilidad reconocida por FDE

Aparaginasa (*Aspergillus sp.*)

Galleta

Tratamiento Asnasa: 105 -1050 525 ASNU/kg harina

Reposo de la masa (40°C, 15 o 30 min)



Parámetros críticos

- Dosis
- Tiempo de acción en masa
- Humedad
- Grasa
- pH

Hendriksen et al. (2009)

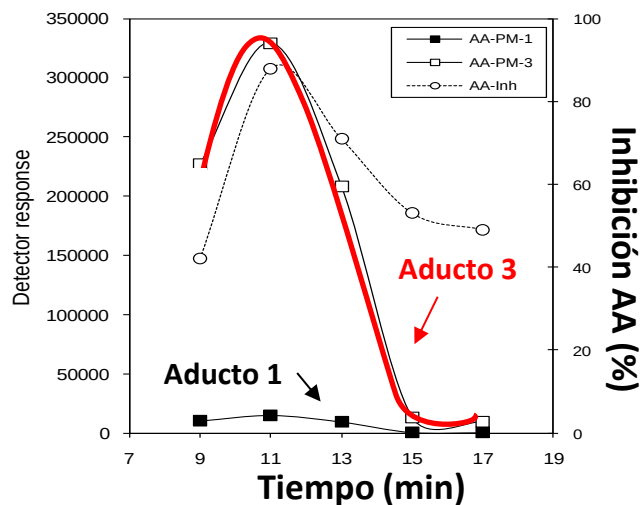
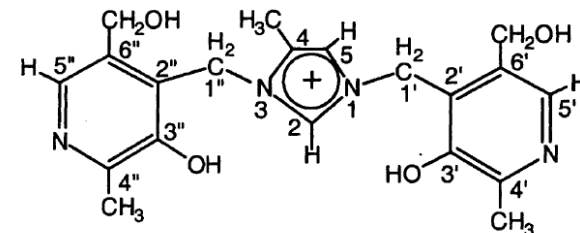
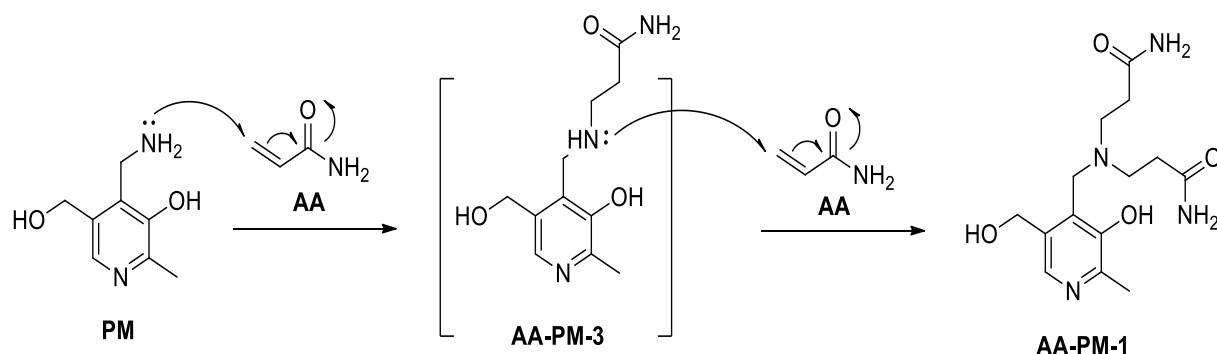
FORMULACION – AMINOACIDOS / Proteínas

- Lisina, Glicina, Cisteína → 20-30 % de reducción
- **Mecanismos de acción:**
 - Dilución
 - Competición
 - Eliminación
- Cambios organolépticos (COLOR)
- Sustitución parcial del cereal por otra proteínas (Lys, Cys)

Importante. Verificar contenido en asparagina libre (mg/100g)

FORMULACION – POLIFENÓLES Y VITAMINAS

- Diferentes Mecanismos
 - Atrapamiento de MRPs reactivos (**dicarbonilos**)
 - Inhibición de oxidación lipídica (PUFA) → carbonilos
 - **Eliminación → Formación de aductos**



Piridoxamina (B₆)

Aductos identificados en modelos de galleta

Arribas-Lorenzo et al. (2011)

Complejidad y Heterogeneidad

FUENTES DE VARIABILIDAD

RECETA

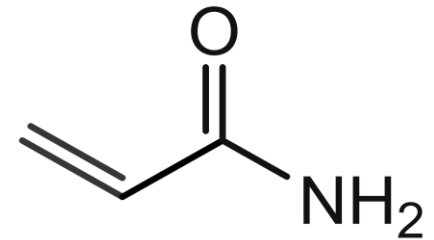
Materia prima

Receta

Proceso



RANGO ESPERADO

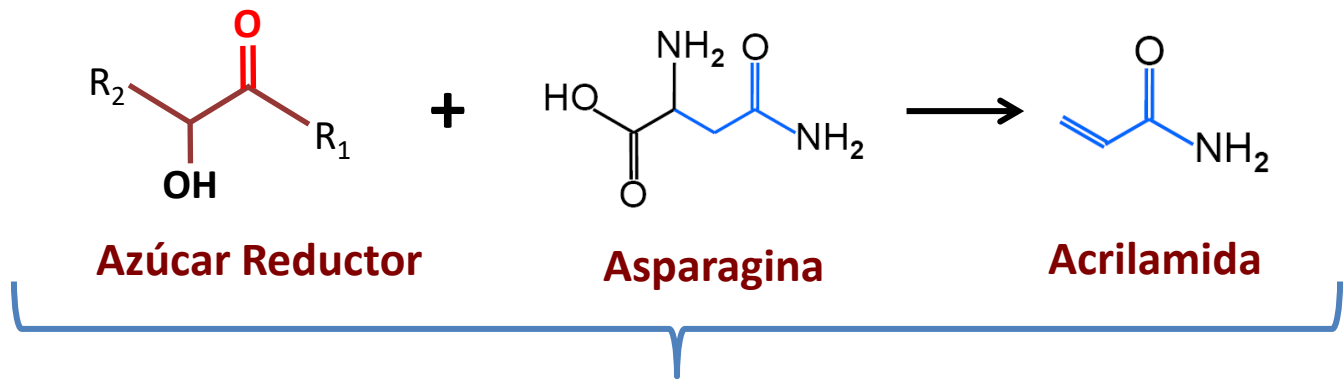


Media (min, P95, max)
U (valor) < V.I.

Conocimiento mas profundo del Producto

Control de toda la cadena, incluido producto final
(Instrucciones de elaboración)

TECNICAS DE CLASIFICACION – métodos quimiométricos



Cambios físico-químicos en los constituyentes

Pardeamiento

Cambios globales de constituyentes

Análisis de Imagen



Espectrofluorescencia

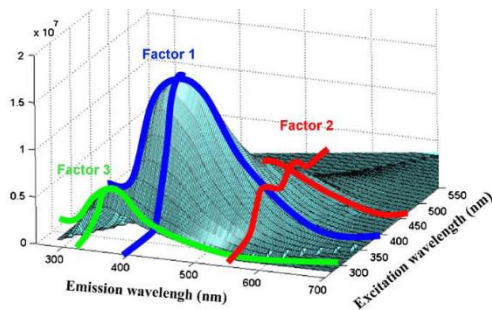
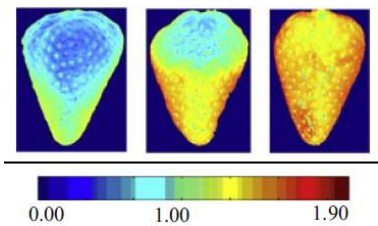


Imagen Hiperespectral (UV - NIRS)

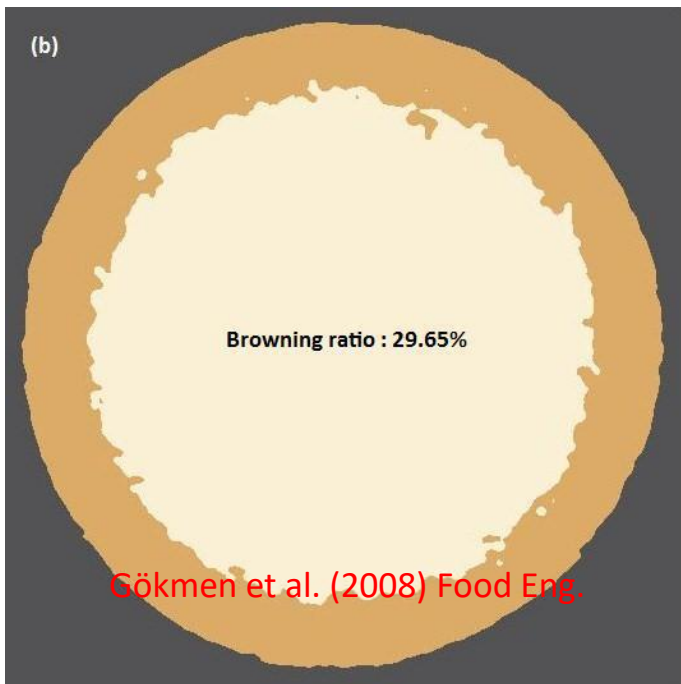
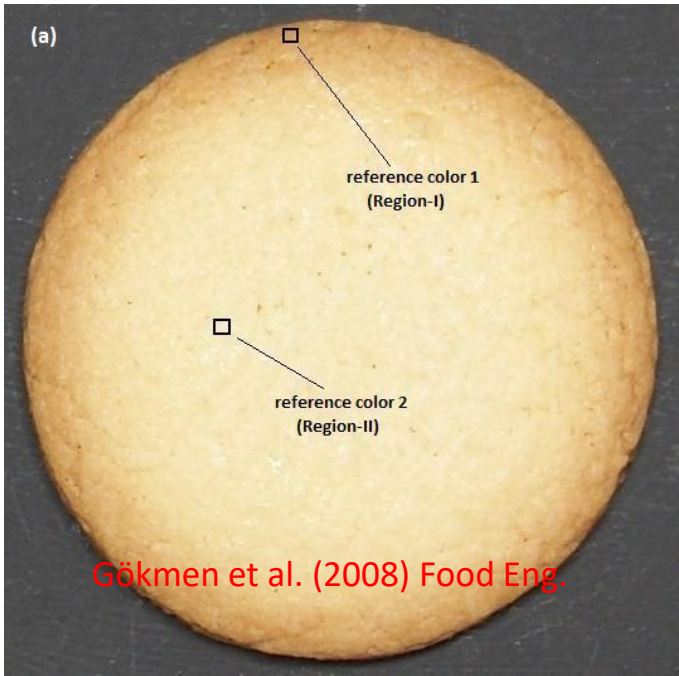


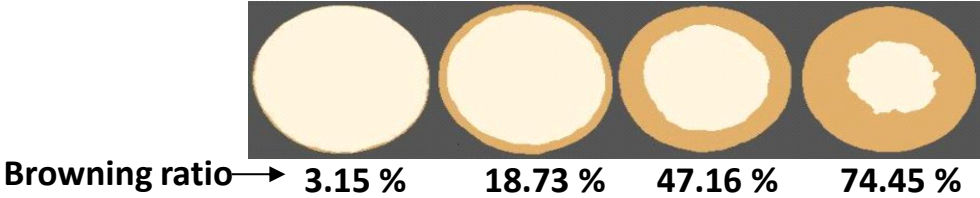
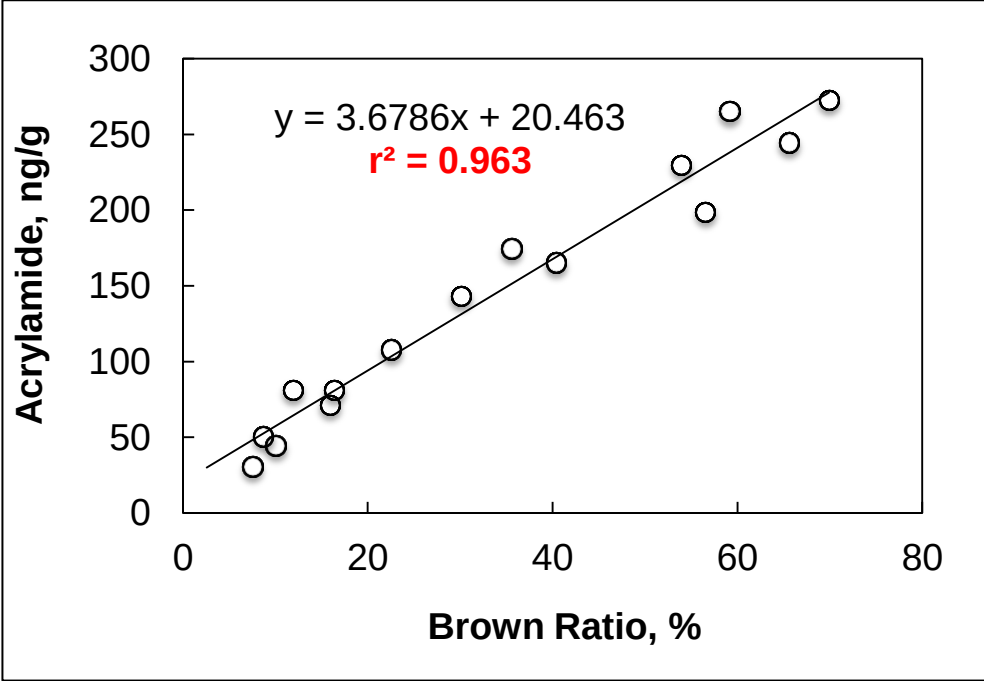
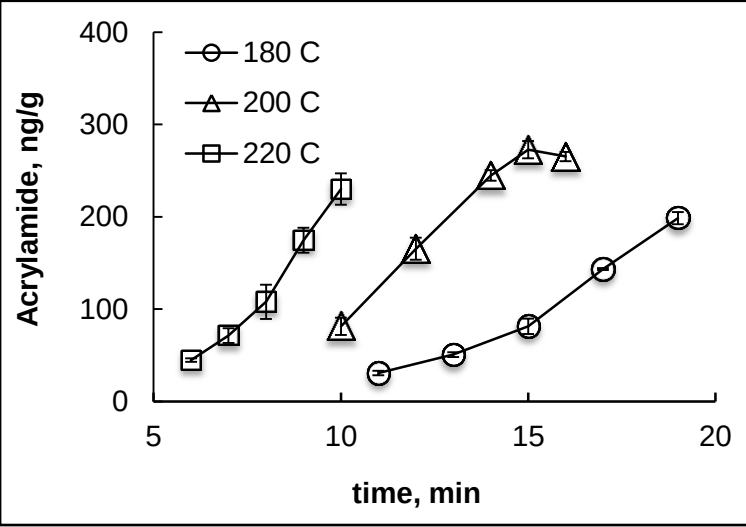
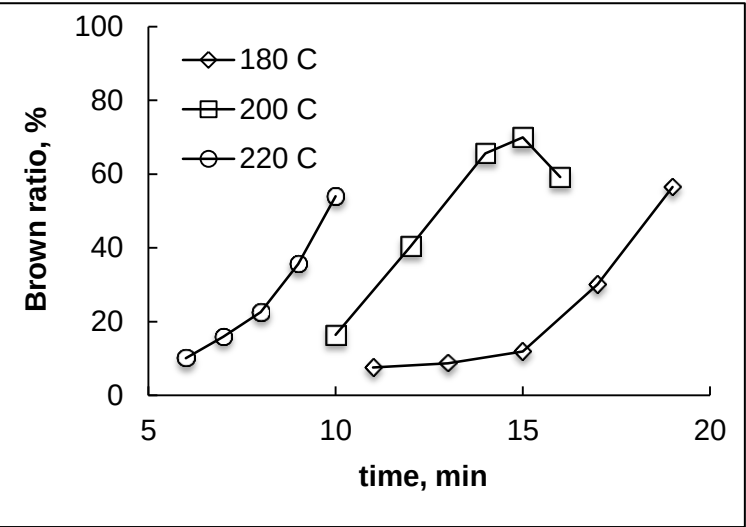
TECNICAS DE CLASIFICACION – VISION ARTIFICIAL

Matriz de información / pixel

$$X [n,m] = \begin{pmatrix} X_{\text{red}} (n,m) \\ X_{\text{green}} (n,m) \\ X_{\text{blue}} (n,m) \end{pmatrix}$$

Color regions		Mean RGB values [x_r x_g x_b]
Region-I		[0.980 0.941 0.853]
Region-II		[0.863 0.326 0.333]
Backgorund		[0.326 0.326 0.333]





CERTEZAS

Reglamento UE
2017/2018

Registro

Análisis

APPCC

MITIGACION

Reformulación

INCERTIDUMBRES

Materia prima

Asparagina

Variabilidad

Precusores

Coste

V.I. → L.M.

Consumidor



La reducción de la presencia de acrilamida en los alimentos es una historia inacabada

.....

Debemos ocuparnos y ¿preocuparnos?



Francisco J. Morales Navas
Gloria Márquez-Ruiz
Cristina Delgado Andrade
Marta Mesías García
Francisca Holgado Arroyo
Rebeca Alonso Olalla
Lucía Gonzalez Mulero

Grupo de investigación **MODIFICACIONES QUÍMICAS EN ALIMENTOS PROCESADOS**

Investigamos desde la química de los alimentos, las propiedades beneficiosas/perjudiciales de compuestos generados a partir de la **Reacción de Maillard** y de la **Oxidación Lipídica**.

www.ictan.csic.es/chemprofood



8.Nov.2018



JORNADA SOBRE ACRILAMIDA

“Con la acrilamida
no desentones. Elige
dorado, elige salud”

MADRID - 8 DE NOVIEMBRE DE 2018

Francisco J. Morales

Investigador Científico CSIC

fjmorales@ictan.csic.es / +34 91 549 2300

Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición