

UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS



***“APLICACIÓN DE VISIÓN COMPUTACIONAL PARA ESTIMAR
LA FORMACIÓN DE ACRILAMIDA E HIDROXIMETILFURFURAL
EN GALLETAS SALADAS”***

Tesis presentada a la Universidad de Chile para optar al grado de
Magíster en alimentos, mención gestión, calidad e inocuidad de
los alimentos por:

Darwin Rafael Castillo Benites

**Director de Tesis: M.S. Andrea Bunger Timmermann
Dr. Luis Puente Díaz
Universidad de Chile**

**Codirector de Tesis: Dr. Franco Pedreschi Plasencia
Pontificia Universidad Católica de Chile**

Santiago-CHILE

Diciembre-2023

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS

INFORME DE APROBACIÓN DE TESIS DE MAGÍSTER

Se informa a la Dirección de la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas que la Tesis de Maestría presentada por el candidato

Darwin Rafael Castillo Benites

Ha sido aprobada por la Comisión de Evaluadora de Tesis como requisito para optar al grado de Magíster en Alimentos, mención gestión, calidad e inocuidad de los alimentos, en el examen público rendido el día 05 de Enero de 2024.

Director de Tesis:

Dr. Luis Puente Díaz

Co-director de Tesis:

Dr. Franco Pedreschi Plasencia

Comisión Evaluadora de Tesis:

Dr. Roberto Lemus Moncada

Dr. Patricio R. Santagapita

Dr. Jaime A. Ortiz Viedma

LA PRESENTE MEMORIA ES PARTE DEL
PROYECTO FONDECYT 1190080 TITULADO
“Formation and mitigation of potentially toxic
compounds generated by heat processing in
starchy and protein food matrixes”

AGRADECIMIENTOS

Mi agradecimiento se dirige en primer lugar a quien ha forjado mi camino y me ha dirigido por el sendero correcto, a Dios, el que en todo momento está conmigo ayudándome a aprender de mis errores y a no cometerlos otra vez. Es quien guía el destino de mi vida. Te lo agradezco, padre celestial.

Agradezco a mis padres, personas de gran sabiduría quienes se han esforzado para ayudarme a llegar al punto en el que me encuentro. Sencillo no ha sido el proceso, pero gracias a las ganas de transmitirme sus conocimientos y dedicación que los ha regido, he logrado importantes objetivos como culminar el desarrollo de mi tesis con éxito y obtener afable titulación profesional. A mi hermana, Anthonella, por su apoyo incondicional y por siempre creer en mí.

A mi esposa, Meysi, por permitir enfocarme por completo en mis estudios, por su cariño, amor, comprensión en todo momento, apoyo incondicional y por siempre creer en mí. A mi hija Ariadna, por ser mi mayor motivación para seguir adelante, dándome aliento cada día a través de su amor y cariño.

A mis compañeros de magister, por siempre estar presentes de alguna u otra forma, marcando con buenos momentos esta etapa que concluye. Sobre todo, a mis amigas, Andrea y Adriana, por brindarme su compañía y apoyo, no sólo en los estudios, sino en todo ámbito a lo largo de estos años. Gracias por permitirme crecer como profesional y como persona.

A mis directores de tesis, Luis Puente, Franco Pedreschi y Domingo Mery por su profesionalismo, dedicación y guía en todo este proceso. En memoria de la profesora Andrea Bunger.

INDICE

RESUMEN.....	9
ABSTRACT.....	11
1 INTRODUCCIÓN.....	13
2 MARCO TEÓRICO.....	15
2.1 Procesamiento a altas temperaturas.....	15
2.1.1 Proceso de horneado para la fabricación de galletas saladas.....	16
2.1.2 Reacción de Maillard.....	17
2.1.3 Reacción de Caramelización.....	19
2.2 Neocontaminantes.....	20
2.2.1 Acrilamida.....	20
2.2.2 5-Hidroximetilfurfural.....	21
2.2.3 Mecanismos de formación.....	22
2.2.4 Toxicología y peligro potencial de los neocontaminantes.....	25
2.2.5 Mitigación de neocontaminantes.....	26
2.2.6 Métodos de cuantificación de neocontaminantes.....	28
2.3 Visión computacional.....	29
2.3.1 Adquisición de imágenes.....	32
2.3.2 Pre-procesamiento de imágenes.....	32
2.3.3 Segmentación.....	32
2.3.4 Medición o extracción de características.....	32
2.3.5 Interpretación o clasificación.....	36
2.4 Análisis sensorial.....	37
3 Hipótesis.....	39
4 Objetivos.....	39
4.1 Objetivo general.....	39
4.2 Objetivos específicos.....	39
5 Materiales y equipos.....	40
5.1 Materia prima.....	40
5.2 Reactivos químicos.....	40
5.3 Insumos.....	40
5.4 Equipos e instrumentos.....	40
6 Metodología.....	42
6.1 Diseño experimental y análisis estadístico.....	42
6.2 Preparación de la materia prima.....	43
6.2.1 Materia prima.....	43
6.3 Elaboración de galletas saladas.....	43
6.4 Caracterización química de galletas saladas.....	44
6.4.1 Determinación de AA.....	44

6.4.2	Determinación de HMF	45
6.5	Análisis de imágenes por visión computacional	46
6.5.1	Sistema de adquisición de imágenes.....	46
6.5.2	Análisis de imágenes adquiridas.....	48
6.6	Análisis sensorial	49
6.6.1	Selección y preparación de las muestras.....	49
6.6.2	Ejecución de la prueba.....	49
6.6.3	Cuestionario para prueba con consumidores	50
6.6.4	Análisis estadístico	51
7	Resultados y discusiones	52
7.1	Caracterización química de las galletas saladas	52
7.1.1	Contenido de acrilamida	52
7.1.2	Contenido de HMF	54
7.2	Visión computacional	56
7.2.1	Adquisición de imágenes.....	56
7.2.2	Estimación de neocontaminates por visión computacional	57
7.2.3	Correlación entre métodos tradicionales y visión computacional.....	59
7.2.4	Evaluación del desempeño del modelo de visión computacional aplicado	61
7.3	Análisis sensorial	63
7.3.1	Test con consumidores	63
8	Conclusiones.....	74
9	Bibliografía.....	75
10	Anexos.....	91
10.1	Diseño experimental	91
10.2	Análisis de varianza para AA por GC-MS.....	92
10.3	Efecto de la temperatura y tiempo sobre el contenido medio de AA por GC-MS	92
10.4	Análisis de varianza para HMF por HPLC-DAD	93
10.5	Efecto de la temperatura y tiempo sobre el contenido medio de HMF por HPLC-DAD.....	93
10.6	Modelación para estimar el contenido de AA por visión computacional.....	94
10.7	Modelación para estimar el contenido de HMF por visión computacional.....	95
10.8	Análisis de varianza para AA por visión computacional	96
10.9	Pruebas de múltiple rangos para GC-MS vs. SVC.....	96
10.10	Análisis de varianza para HMF por visión computacional	96
10.11	Pruebas de múltiple rangos para HPLC-DAD vs. SVC.....	96
10.12	Análisis de correlación de Pearson entre métodos de análisis	97
10.12.1	Correlación GC-MS vs. SVC	97
10.12.2	Correlación HPLC-DAD vs. SVC.....	97
10.13	Análisis de validación cruzada de los modelos de visión computacional.....	98
10.13.1	Validación cruzada del modelo de visión computacional para estimar AA	98

10.13.2	Validación cruzada del modelo de visión computacional para estimar HMF	98
10.13.3	Valores de AA ajustados por validación cruzada del modelo de visión computacional para estimar AA.....	99
10.13.4	Valores de HMF ajustados por validación cruzada del modelo de visión computacional para estimar HMF.....	100
10.14	Cuestionario para la evaluación sensorial con consumidores	101
10.14.1	Test con consumidores.....	101
10.14.2	Presentación de test a los consumidores.....	108
10.15	Evaluación sensorial con consumidores	109
10.16	Resultados de pruebas de múltiple rangos Tukey	110
10.17	Análisis de coordenadas principales.	112

Índice de Tablas

Tabla 1. Diseño experimental factorial completo (5x5).	42
Tabla 2. Formulación de galletas saladas horneadas en base a 100 g de muestra.	43
Tabla 3. Condiciones del equipo HPLC-DAD para determinación de HMF.....	46
Tabla 4. Imágenes digitales de galletas saladas por cada tratamiento.	56
Tabla 5. Resultados de Prueba Cochran's Q.....	69
Tabla 6. Resultados de preferencia.	71
Tabla 7. Resultados de las razones de preferencia (pregunta abierta).	72

Índice de Figuras

Figura 1. Diagrama simplificado de formación de productos de reacción de Maillard.	18
Figura 2. Principales reacciones de caramelización de azúcares.....	19
Figura 3. Estructura química de la AA.....	20
Figura 4. Estructura química del HMF.....	21
Figura 5. Reacción de Maillard que involucra asparagina y glucosa y conduce a la formación de AA.....	23
Figura 6. Esquema de reacción propuesto para la formación de HMF.....	24
Figura 7. Caja cúbica y sistema de iluminación.....	30
Figura 8. Espacio RGB representado como un cubo unitario.....	31
Figura 9. Proceso de patrón binario local (LBP).....	34
Figura 10. Histograma de código LBP.....	35
Figura 11. Histograma de características de textura LBP.....	35
Figura 12. Sistema de adquisición de imágenes.....	47
Figura 13. Efecto de la temperatura y tiempo de horneado sobre el contenido de AA de galletas saladas.	52
Figura 14. Efecto de la temperatura y tiempo de horneado sobre el contenido de HMF en galletas saladas. .	54
Figura 15. Estimación de contenido de AA por visión computacional.....	58
Figura 16. Estimación de contenido de HMF por visión computacional.....	58
Figura 17. Correlación de Pearson entre GC-MS vs. SVC.....	60
Figura 18. Correlación de Pearson entre HPLC-DAD vs. SVC.....	60
Figura 19. Validación cruzada dejando uno fuera para el modelo de visión computacional para estimar AA.62	
Figura 20. Validación cruzada dejando fuera uno para el modelo de visión computacional para estimar HMF.	62
Figura 21. Promedios de aceptabilidad de galletas saladas elaboradas en diferentes condiciones de horneado.	64
Figura 22. Gráfico de justo agrado - color.....	65
Figura 23. Gráfico de justo agrado – intensidad de sabor.....	66
Figura 24. Gráfico de justo agrado - dureza.....	67
Figura 25. Gráfico de justo agrado – intención de compra.....	68
Figura 26. Análisis de correspondencia de datos CATA.....	70

RESUMEN

Las galletas saladas son un alimento versátil, ampliamente consumido por un amplio grupo de la población debido a su sabor variado, larga vida útil y costo relativamente bajo. Sin embargo, su tratamiento térmico provoca cambios químicos a través de reacciones como el pardeamiento no enzimático (reacción de Maillard y caramelización); los cuales, además de favorecer el desarrollo de atributos sensoriales atractivos, pueden también promover simultáneamente la formación de compuestos potencialmente tóxicos o “neocontaminantes”, como la acrilamida (AA) y el 5-hidroxi metilfurfural (HMF), que afectan negativamente la inocuidad alimentaria. Entre los métodos de laboratorio tradicionales para detectar estos dos neocontaminantes en alimentos se encuentran la cromatografía de gases conectada a la espectrometría de masas y la cromatografía líquida conectada al detector DAD, respectivamente. Estos métodos son destructivos y requieren de mano de obra especializada. Por lo tanto, en este estudio se aplicó la técnica de visión computacional para estimar la formación de AA y HMF en galletas saladas procesadas a altas temperaturas, mediante el procesamiento digital de imágenes utilizando el software Matlab R2016 y Toolbox de procesamiento de imágenes. Los modelos predictivos obtenidos por visión computacional para estimar estos neocontaminantes utilizaron los resultados de AA y HMF cuantificados mediante métodos tradicionales de laboratorio. Además, estos modelos predictivos fueron evaluados estadísticamente mediante el error medio de una estimación mediante el procedimiento “*leave-one-out*”, que consistió en una validación cruzada con 25 tratamientos. Los contenidos de AA y HMF se obtuvieron previamente al elaborar las galletas saladas a diferentes tratamientos térmicos: (i) temperatura (160°, 170°, 180°, 190° y 200°C); (ii) tiempo (15, 20, 25, 30 y 35 min). La temperatura afectó significativamente ($p < 0.05$) el contenido de AA y HMF; alcanzando las concentraciones más altas a 200 °C y 35 min, 829 y 105416 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectivamente. Por otro lado, los modelos de visión computacional generados obtuvieron un error de estimación bajo de 3,10% y 3,28%, para AA y HMF respectivamente y no se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los métodos tradicionales (GC/MS y HPLC/DAD) y la visión computacional para la cuantificación de los neocontaminantes previamente mencionados. Además, la correlación de los métodos de determinación y la estimación por visión computacional fue bastante alta, 0,990 y 0,986, para AA y HMF respectivamente. Además, los modelos predictivos de estimación obtuvieron

excelentes desempeños al ser evaluados mediante validación cruzada “*leave-one-out*”; donde el modelo para estimar AA obtuvo un desempeño del 98,09 %, mientras que el modelo para estimar HMF obtuvo el 96,78%.

Finalmente, se realizó la evaluación sensorial a 3 muestras de galletas saladas que presentaron bajo, intermedio y alto contenido de AA y HMF, sin exceder el límite máximo de 400 µg/kg para el caso de AA recomendado por la Unión Europea (de esta forma se seleccionaron muestras horneadas a 180°, 190°, 200°C y 25 min). Las características sensoriales de las galletas saladas se vieron afectadas por la temperatura; ya que se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en los atributos sensoriales de las muestras y los consumidores tuvieron preferencia por la muestra horneada a 180 °C y 25 min. Los resultados reportados en este estudio confirman que es posible aplicar la técnica de visión computacional para estimar la formación de AA y HMF en galletas saladas de manera más rápida que los métodos tradicionales.

ABSTRACT

“APPLICATION OF COMPUTER VISION TO ESTIMATE THE FORMATION OF ACRYLAMIDE AND HYDROXYMETHYLFURFURAL IN SALTED COOKIES”

Salted cookies are a versatile food, extensively consumed by a wide range of the population due to their desired flavor, long shelf life and relatively low cost. However, its heat treatment causes chemical changes through reactions such as non-enzymatic browning (Maillard reaction and caramelization); which, in addition to favors the development of attractive sensory attributes, but also promote simultaneously the formation potential toxic compounds or of neo-contaminants, such as acrylamide (AA) and 5-hydroxymethylfurfural (HMF), which negatively affect food safety. Among the traditional laboratory methods to detect these neo-contaminants in foods are gas chromatography connected to mass spectrometry and liquid chromatography connected to the DAD detector, respectively. These methods are destructive and require specialized labor. Therefore, in this study, it was applied the technique of computer vision to estimate the formation of AA and HMF in salted cookies processed at high temperatures, through digital image processing using Matlab R2016 software and its image processing toolbox. The predictive models obtained by computer vision to estimate these neo-contaminants used the results of AA and HMF quantified by traditional laboratory methods. Furthermore, these predictive models were statistically evaluated using the mean error of an estimate using the “leave-one-out” procedure, consisting of a cross-validation with 25 treatments.

The contents of AA and HMF were previously obtained by preparing the salted cookies at different heat treatments: (i) temperature (160°, 170°, 180°, 190° and 200°C); (ii) time (15, 20, 25, 30 and 35 min). The temperature significantly affected ($p < 0.05$) the content of AA and HMF; reaching the highest concentrations at 200 °C and 35 min, 829 and 105416 µg/kg, respectively. On the other hand, the computer vision models generated obtained a low estimation error of 3,10% and 3,28%, for AA and HMF respectively; no significant differences ($p < 0.05$) were found between traditional methods (GC/MS and HPLC/DAD) and computer vision. Additionally, the correlation of the determination methods and the estimation by computer vision is very strong, 0,990 and 0,986 for AA and HMF respectively. In addition, the predictive estimation models obtained excellent performances when

evaluated through “leave-one-out” cross validation; where the model to estimate AA obtained a performance of 98.09%, while the model to estimate HMF obtained 96.78%.

Finally, the sensory evaluation was carried out on 3 samples of salted cookies that presented low, intermediate and high content of AA and HMF, without exceeding the maximum limit of 400 µg/kg in the case of AA; in this way, samples baked at 180°, 190°, 200°C and 25 min were selected. The sensory characteristics of salted cookies were affected by temperature; since significant differences ($p \leq 0.05$) were found in the sensory attributes of the samples and consumers had a preference for the sample baked at 180 °C and 25 min. The results reported in this study confirm that it is possible to apply the computer vision technique to estimate the formation of AA and HMF in salted cookies faster than traditional methods.

1 INTRODUCCIÓN

Los alimentos tratados térmicamente son ampliamente consumidos a nivel mundial y, entre ellos se encuentran el pan y las galletas (Fels-Klerx y cols., 2014). Las galletas saladas son productos de panadería de uso popular debido a su gran practicidad, conveniencia y larga vida útil (Ahmed & Abozed, 2015). Los tratamientos térmicos comunes provocan cambios químicos por reacciones como el pardeamiento no enzimático (reacción de Maillard), la oxidación lipídica y la caramelización de azúcares. Estas reacciones, además de favorecer el desarrollo de colores, aromas y sabores deseados en un alimento (Wang y cols., 2013. Hamzalıođlu y cols., 2019) pueden también tener consecuencias adversas como la pérdida de algunos nutrientes, y además pueden producir compuestos potencialmente tóxicos (neocontaminantes) (Nerín y cols., 2016). La reacción de Maillard también promueve la formación de neocontaminantes tales como la acrilamida (AA) y el 5-hidroxiacetilfurfural (HMF) lo que afecta negativamente la inocuidad química de los alimentos (Leiva-Valenzuela y cols., 2018). Además, es importante destacar que el HMF no sólo se genera en la reacción de Maillard, sino también durante la caramelización (Wei y cols., 2024). Desde su descubrimiento, controlar la formación de la reacción de Maillard y de los productos resultantes de la caramelización en la industria alimentaria se ha convertido en un desafío debido a la gran cantidad de compuestos producidos por muchas vías químicas complejas que muchas veces actúan simultáneamente (Hemmler y cols., 2018; Golon y cols., 2014).

Los neocontaminantes son compuestos tóxicos que pueden desarrollarse en alimentos amiláceos durante los procesos térmicos a temperaturas muy altas por tiempos prolongados (Birlouez-Aragon y cols., 2010). Existen varios métodos de laboratorio tradicionales y convencionales para detectar la presencia de AA y HMF en alimentos sometidos a tratamientos térmicos tales como la cromatografía líquida conectada al detector DAD, cromatografía de gases conectada a espectrometría de masas (Gökmen y cols., 2005, Ghiasvand y cols., 2016, Leiva-Valenzuela y cols., 2019) los cuales son métodos destructivos, requieren largos periodos de tiempo y son complejos procesos de implementar (Yadav y cols., 2018). Por lo cual, la capacidad de percibir visualmente y analizar analitos en función de su color a través de una imagen digital (como por ejemplo usando visión computacional) es una herramienta analítica interesante y prominente para la investigación, el diagnóstico y el análisis de estos neocontaminantes (Fay and Wub, 2024).

En los últimos tiempos, ha habido un aumento del interés en el análisis colorimétrico como medio eficaz y económico de acceder a información química y física de los alimentos (Fay and Wub, 2024). Por lo cual, el empleo de un sistema de visión computacional es una excelente alternativa a los métodos de análisis convencionales (GC/MS y HPLC/DAD) porque permiten obtener resultados objetivos rápidamente y con mínima intrusión y evitando utilizar reactivos químicos, lo que tiene un enorme beneficio para el medio ambiente natural (Modzelewska-Kapituła, y Jun, 2022). Además, la visión computacional se puede utilizar para la estimación rápida de sustancias tóxicas en alimentos (Dutta y cols., 2016). Este tipo de análisis se puede usar en tiempo real en lotes de producción simultáneos a nivel industrial y también puede servir como una herramienta útil en el diagnóstico de la calidad de los alimentos para los consumidores (Dutta y cols., 2016). El objetivo de este trabajo fue estimar la formación de AA y HMF en galletas saladas horneadas a diferentes temperaturas y tiempos, utilizando la visión computacional (tecnología menos costosa, más rápida y menos invasiva que los métodos de análisis químicos tradicionales).

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Procesamiento a altas temperaturas

El procesamiento térmico de alimentos es un proceso dinámico que implica la transferencia de calor y masa simultánea, lo que conduce a una serie de cambios físicos y químicos (Cho y Peterson, 2010), además de mejorar las propiedades sensoriales de los alimentos como su palatabilidad y ampliar su gama de colores, sabores, aromas y texturas. El calentamiento también destruye enzimas y microorganismos relacionados al deterioro, y reduce la actividad del agua de los alimentos, contribuyendo a mejorar su preservación (Boekel y cols., 2010).

Los procesos térmicos se utilizan con frecuencia en la fabricación de alimentos para obtener productos inocuos con una vida útil prolongada y con una alta calidad final de los mismos. Hornear, cocinar, tostar, asar y freír, entre otros, son tratamientos térmicos (que emplean altas temperaturas de procesamiento) comunes que se utilizan para preparar alimentos sabrosos y nutritivos. Estos tratamientos involucran cambios químicos y físicos que son promovidos por reacciones, como la desnaturalización de proteínas, la caramelización de azúcares, la reacción de Maillard y la hidrólisis de la sacarosa a azúcares reductores (glucosa y fructuosa) que son cruciales para el desarrollo de los atributos sensoriales deseables del producto final (Wang y cols., 2013, Hamzalıoğlu y cols., 2019). La principal preocupación que surge de la aplicación de los procesos térmicos proviene de la formación de compuestos no deseados y potencialmente tóxicos (neocontaminantes) que no están presentes de forma natural en los alimentos (Knize y cols., 1999) y pueden ser dañinos en diferente grado de toxicidad para la salud del consumidor. Entre las diversas clases de contaminantes consideradas por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, 2015), algunos de ellos pueden generarse durante tratamientos térmicos comúnmente utilizados en diversas tecnologías agroalimentarias (Singh y cols., 2016).

2.1.1 Proceso de horneado para la fabricación de galletas saladas

Las galletas saladas se definen como alimentos horneados delgados, secos y crujientes, elaborados predominantemente con harina de trigo blando y que contienen bajos niveles de azúcar, grasa y humedad (Giannoutsos, K., y cols., 2023). Las galletas saladas tienen una estructura que se puede formular con varios ingredientes alimentarios; siendo un snack que los consumidores demandan con alta frecuencia debido a su sabor variado, su larga vida útil y su costo relativamente bajo (Ahmed & Abozed, 2015). Además, es un producto listo para comer, delgado y quebradizo hecho a base de masa sin azúcar, con o sin fermentación (Nagi y cols., 2012, Ahmed & Abozed, 2015).

Los ingredientes básicos de las galletas son harina, azúcar, grasa y/o aceite, agua y agentes leudantes. Los ingredientes adicionales pueden incluir huevos, leche en polvo, sal, aromatizantes y emulsionantes (Fels-Klerx y cols., 2014). La harina de trigo contiene asparagina y azúcares reductores (Gökmen y cols., 2008) que son precursores de la formación de acrilamida durante el horneado. Durante el horneado de las galletas, la reacción de Maillard, la oxidación de lípidos y la caramelización del azúcar ocurren simultáneamente en distinto grado (dependiendo de condiciones y composición), lo que da como resultado el desarrollo del color y sabor deseados del producto final. Sin embargo, junto al desarrollo de sabores, texturas y coloraciones superficiales atractivas al consumidor, se forman también simultáneamente neocontaminantes como la AA y el HMF, entre otros (Fels-Klerx y cols., 2014).

2.1.2 Reacción de Maillard

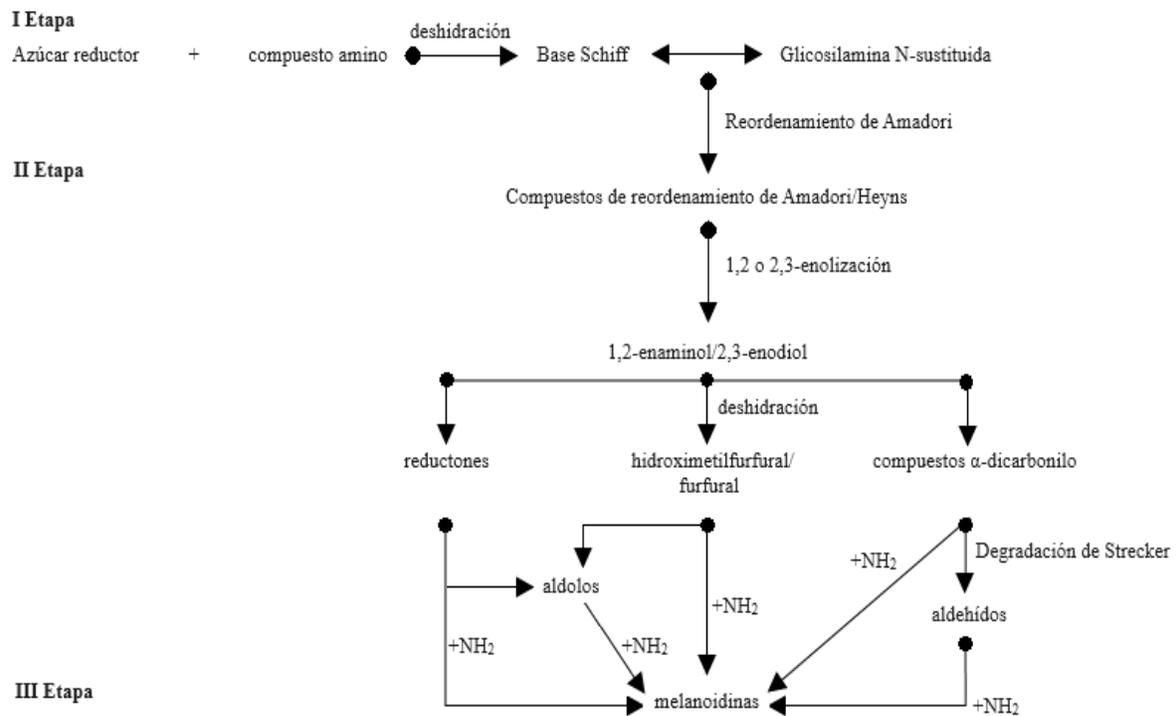
La reacción de Maillard (RM) es una de las reacciones químicas más importantes que ocurre durante el procesamiento de alimentos en operaciones unitarias que emplean altas temperaturas de procesamiento (e.g., fritura, horneado, asado, extrusión, entre otras), ya que es crucial para el desarrollo de atributos sensoriales atractivos del producto final (color, sabor y aroma, entre otros) para el consumidor. Sin embargo, la principal preocupación que surge es que el calentamiento de matrices alimentarias ricas en almidón y proteínas puede generar también simultáneamente varios tipos de compuestos potencialmente tóxicos conocidos neocontaminantes tales como AA, HMF, furano, aminas heterocíclicas, entre otros (Pedreschi & Mariotti, 2023).

La RM, es una reacción de pardeamiento no enzimático debido a la interacción compleja entre los grupos amino libres de aminoácidos/proteínas y el grupo carbonilo de azúcares/carbohidratos bajo la influencia del calor (Starowicz y Zieliński, 2019). El alcance de esta reacción está fuertemente influenciado por el método de procesamiento, el tipo de azúcar y el aminoácido implicado, la temperatura, el pH, la actividad del agua, entre otros (Tamanna & Mahmood, 2015). Esto convierte a la RM sin duda en conjunto de reacciones extremadamente complejas, capaz de producir miles de compuestos químicos distintos a partir de unos pocos precursores iniciales (Hemmler y cols., 2018).

Según Tamanna & Mahmood, (2015) todo el proceso de la reacción de Maillard ocurre en tres etapas diferentes, las cuales son: (i) etapa de iniciación; (ii) etapa de propagación; (iii) etapa avanzada. En la primera etapa (iniciación), el azúcar reductor como la glucosa se condensa con una molécula que contiene un grupo amino libre (de un aminoácido o, en las proteínas, principalmente el grupo amino libre de una proteína). El grupo ϵ -amino de la lisina, así como los grupos α -amino (aminoácidos terminales) de otros aminoácidos producen un producto de condensación glicosilamina con una cadena lateral N-sustituida que se reorganiza para producir productos de reordenamiento de Amadori (ARP) y 1-amino-1-desoxi-2 cetosa. La deshidratación y fragmentación de las moléculas de azúcar ocurren en la segunda etapa (propagación). En esta etapa, los aminoácidos se destruyen y se generan productos de fisión de 5-hidroximetilfurfural como el piruvaldehído y el diacetilo. Los grupos carbonilo se condensan con grupos amino libres, haciendo que se incorpore nitrógeno en los productos de reacción, lo que da como resultado la formación de aldehídos y α -

aminocetonas, conocida como reacción de degradación de Strecker. Después de eso, tiene lugar una serie de reacciones en una etapa avanzada, que incluyen ciclaciones, deshidrataciones, retroaldolizaciones, reordenamientos, isomerizaciones y más condensaciones, lo que eventualmente contribuye a la aparición de polímeros y copolímeros nitrogenados marrones llamados melanoidinas (Tamanna & Mahmood, 2015, Starowicz y Zieliński, 2019).

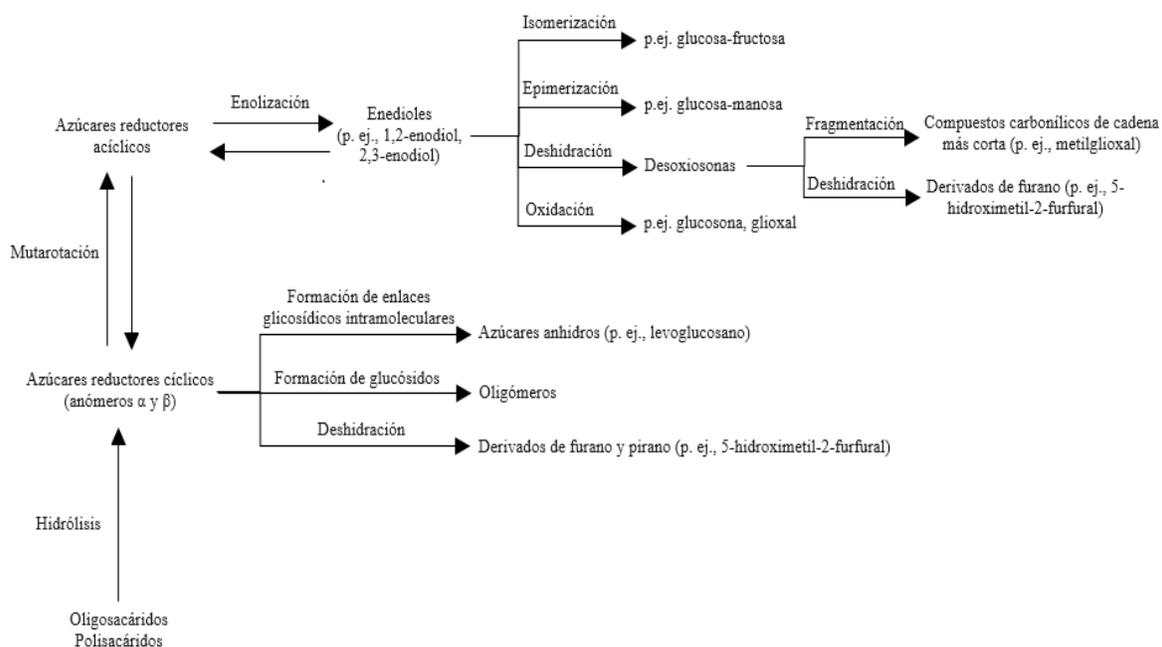
Figura 1. Diagrama simplificado de formación de productos de reacción de Maillard.



2.1.3 Reacción de Caramelización

La caramelización (**Figura 2**) es una reacción de pardeamiento no enzimática que se producen durante el procesamiento térmico a alta temperatura (Kocadağlı y Gökmen, 2019) y el almacenamiento de productos alimenticios (Zhang y cols., 2013). Generalmente, la caramelización ocurre a una temperatura superior a 120°C (Kroh, 1994). Este implica la degradación de moléculas de azúcar y la polimerización de reactivos intermedios (Golon y Kuhnert, 2012). Dentro de los productos de caramelización se incluyen oligómeros con hasta seis unidades de carbohidratos formadas mediante la formación de enlaces glicosídicos no selectivos, productos de deshidratación de oligómeros que pierden hasta un máximo de ocho moléculas de agua, productos de hidratación de oligómeros de azúcar, productos de desproporción y productos aromáticos coloreados (Golon y Kuhnert, 2012). Por otro lado, un problema asociado con el uso de alta temperatura durante la reacción de caramelización es la formación de una serie de contaminantes no deseados, incluidos 4-metilimidazol (4-MEI), 2-acetil-4-tetrahidroxibutilimidazol (THI) y 5-HMF (Zou y cols., 2022).

Figura 2. Principales reacciones de caramelización de azúcares



2.2 Neocontaminantes

Los seres humanos están expuestos a través de su dieta a una gran variedad de sustancias químicas que pueden inducir efectos adversos para la salud. Algunos están presentes en los alimentos crudos, y otros compuestos se pueden generar durante o después del procesamiento, particularmente durante el calentamiento y/o almacenamiento (Sirot, 2019).

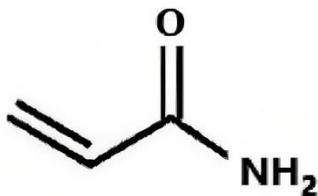
Estos compuestos generalmente se forman durante el tratamiento térmico típico de alimentos ricos en carbohidratos como cereales y pan, papas fritas en tiras y rodajas (Lineback y cols., 2012), y presentan posibles efectos nocivos para la salud de los seres humanos (Capuano y Fogliano, 2011). Por lo tanto, se han realizado importantes investigaciones para comprender los mecanismos de formación de estos neocontaminantes en los alimentos a fin de desarrollar estrategias para mitigar su formación, al tiempo que se preserven los atributos sensoriales atractivos de los alimentos amiláceos expuestos a altas temperaturas (Mariotti y cols., 2012).

Los neocontaminantes son potencialmente cancerígenos en humanos; lo cual determina que su mitigación se está convirtiendo rápidamente en un nuevo desafío para la formulación de los mismos y para la ingeniería de alimentos, ya que debe llevarse a cabo sin afectar significativamente la calidad sensorial de los productos finales (Rannou y cols., 2016).

2.2.1 Acrilamida

La acrilamida (o amida acrílica, prop-2-enamida) es un carbonilo α , β -insaturado con fórmula química C_3H_5NO (**Figura 3**) (Mills y cols., 2009, Hamzahoğlu y cols., 2019), es un sólido cristalino incoloro, no volátil, soluble en agua y tiene un peso molecular de 71,08 kDa (Eriksson, 2005). La acrilamida (AA) se ha utilizado como producto químico industrial en la industria del papel, el tratamiento de aguas, la construcción de represas, túneles y alcantarillas para diferentes fines durante años, pero se descubrió por primera vez en alimentos tratados térmicamente en 2002 (Mills y cols., 2009).

Figura 3. Estructura química de la AA.

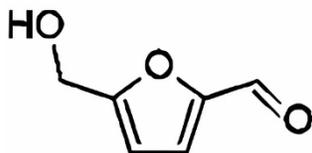


La acrilamida se ha agregado a la lista de sustancias tóxicas transmitidas por los alimentos desde que en 2002 la Administración Nacional de Alimentos de Suecia descubrió una cantidad relevante de acrilamida en varios alimentos ricos en carbohidratos tratados térmicamente, como papas fritas, café y productos horneados (Swedish National Food Administration, 2002).

2.2.2 5-Hidroximetilfurfural

El 5-hidroximetilfurfural (HMF) es un derivado del furano y un componente del color caramelo con fórmula química $C_6H_6O_3$ (**Figura 4**) (Kroh, L., W., 1994, Capuano y Fogliano, 2011). Este compuesto se forma en reacciones químicas de pardeamiento producidas por la aplicación de procesos tecnológicos que generalmente implican aplicación de calor en los alimentos (Kowalski y cols., 2013). Dos reacciones importantes involucradas en la formación de HMF durante el procesamiento térmico de alimentos, dependiendo de la temperatura, tipo de azúcares, pH y actividad del agua, son la RM y la caramelización (Bello, 2008, Gökmen y Morales, 2014, Ramírez-Jiménez y cols., 2000).

Figura 4. Estructura química del HMF.



El HMF es uno de los productos intermedios más comunes de la RM (considerado como un marcador temprano de la RM), formado por el tratamiento térmico de alimentos ricos en azúcares reductores en presencia de proteínas, péptidos o aminoácidos (Gökmen y Senyuva, 2006, Perez-Locas y Yaylayan, 2008). Además, el HMF también se forma por caramelización que consiste en la deshidratación de carbohidratos (fructosa, sacarosa, glucosa) calentándolos por encima de su punto de fusión en ausencia de proteínas (Gökmen y Senyuva, 2006, Rufián-Henares y cols., 2006).

2.2.3 Mecanismos de formación

El principal mecanismo en la formación de AA e HMF involucra la RM entre asparagina y azúcares reductores como glucosa y fructosa (Capuano y Fogliano, 2011, Pantalone y cols., 2021) (**figura 5 y 6**). La AA se produce como subproducto de la RM en alimentos amiláceos procesados a altas temperaturas ($> 120\text{ }^{\circ}\text{C}$) (Pedreschi y cols., 2014). La AA es un compuesto químico tóxico (Meghavarnam y Janakiraman, 2018) que se puede encontrar en altos niveles (150 a $4000\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) en alimentos amiláceos horneados y fritos (Tareke y cols., 2002). Las temperaturas de ebullición del agua no conducen a la formación de acrilamida, mientras que operaciones unitarias como el horneado, la fritura sumergida y el horneado, entre otras, provocan la formación de acrilamida en ciertos alimentos (procesos en que la temperatura está muy por arriba de la temperatura de ebullición del agua a partir de $120\text{ }^{\circ}\text{C}$) (Tornqvist, 2005).

El HMF es un compuesto furánico (hetrocíclico) formado como intermediario en la RM cuando los carbohidratos se calientan en presencia de aminoácidos (asparagina) o proteínas o, alternativamente, por deshidratación térmica de un azúcar en condiciones ácidas (Capuano y Fogliano, 2011, Rosatella y cols., 2011). El HMF se ha identificado en una amplia variedad de alimentos procesados térmicamente, incluidos café, leche, jugos de frutas, licores, miel, etc. También es una sustancia aromatizante [FL-no: 13.139] y está incluida en el Registro comunitario de sustancias aromatizantes utilizadas en productos alimenticios (EFSA, 2011).

Figura 5. Reacción de Maillard que involucra asparagina y glucosa y conduce a la formación de AA.

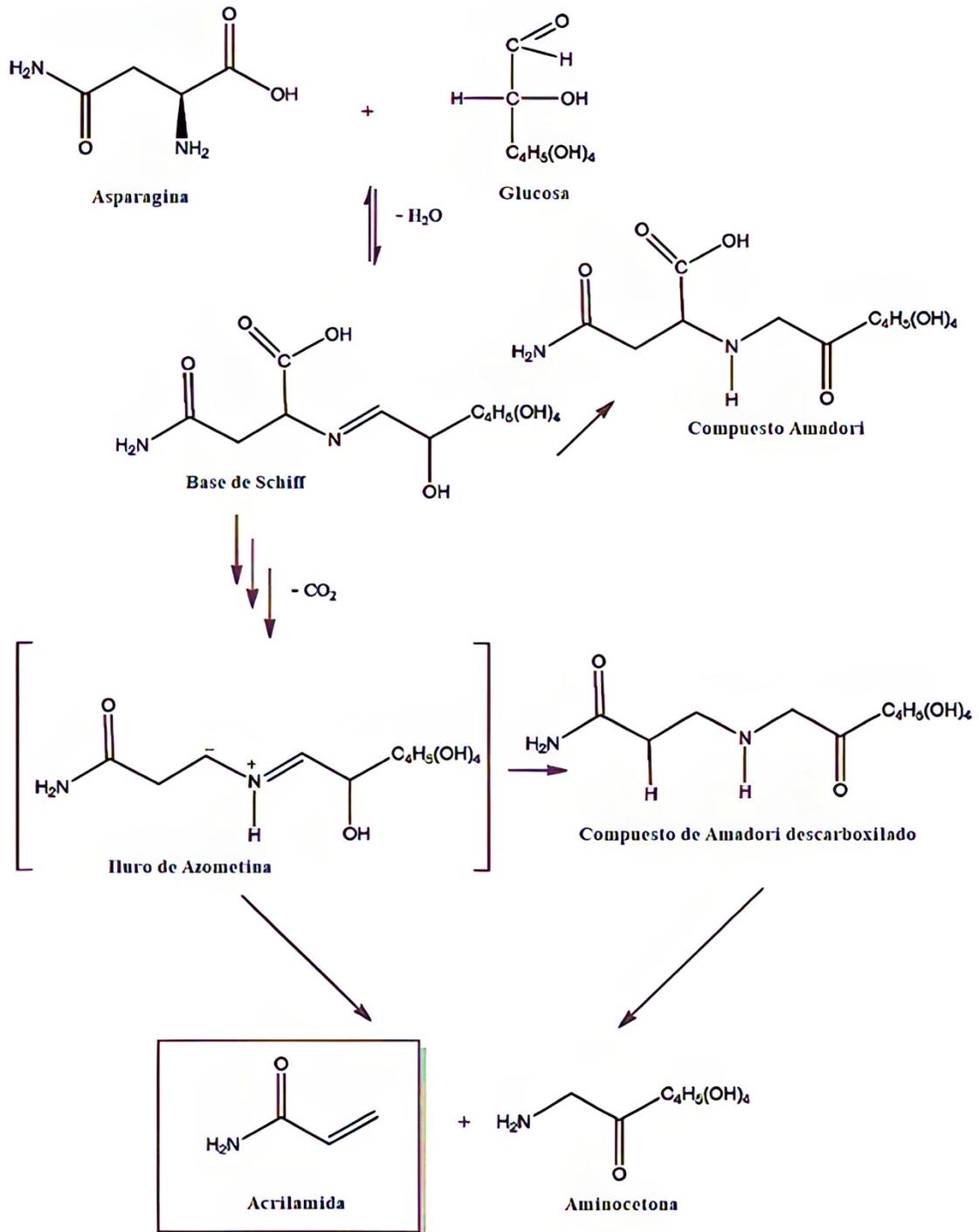
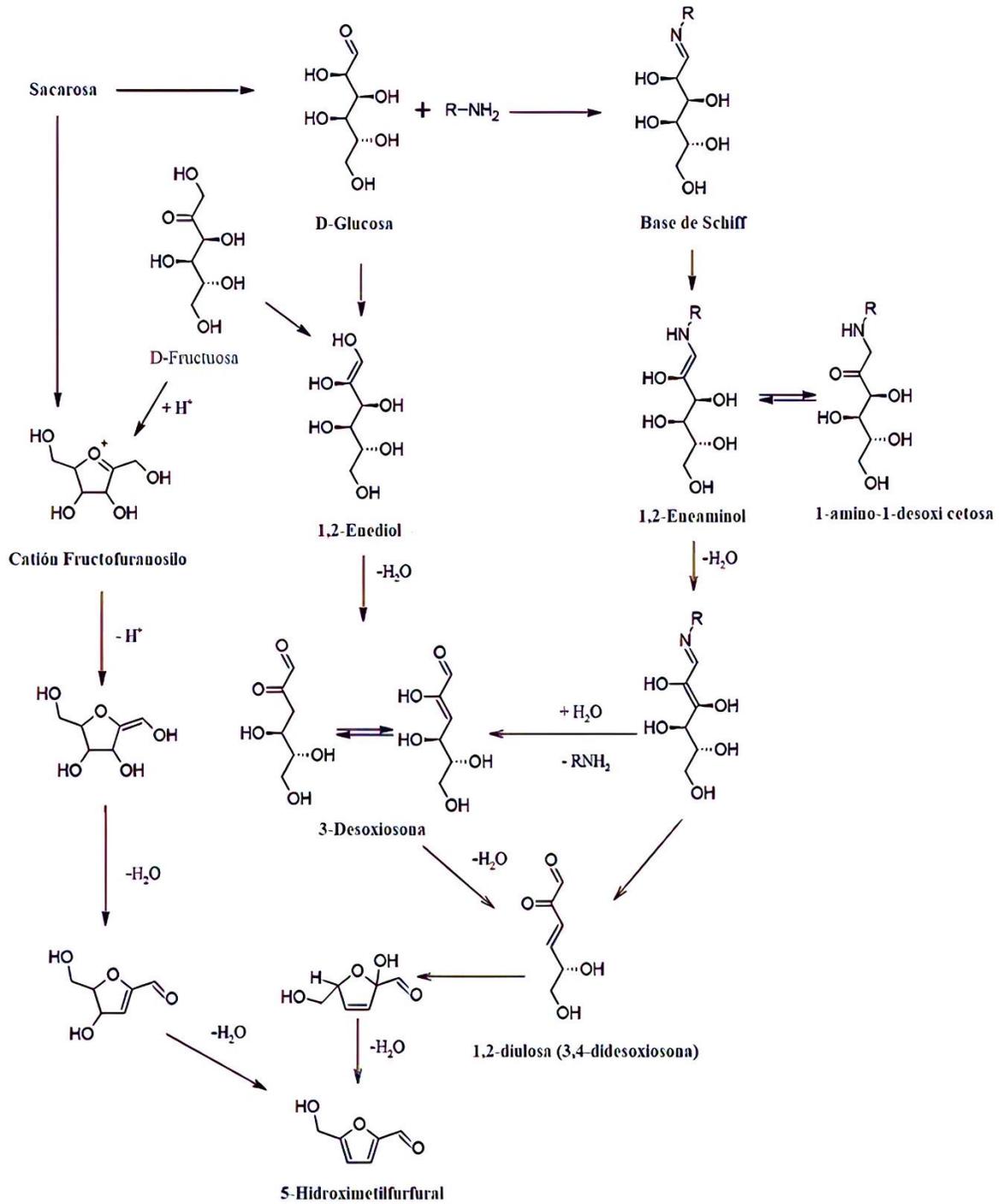


Figura 6. Esquema de reacción propuesto para la formación de HMF.



2.2.4 Toxicología y peligro potencial de los neocontaminantes

La AA es un contaminante peligroso que desde 1996, la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer ha clasificado dentro del Grupo 2^a agente probablemente carcinógeno para seres humanos (IARC, 1994), mientras que la clasificación de acuerdo con el Reglamento (CE) N ° 1272/2008 con respecto a la carcinogenicidad es **Carc. 1B** – indica que puede causar cáncer (European Commission, 2008). El comité mixto de expertos en aditivos alimentarios de la organización para la agricultura y la alimentación/organización mundial de la salud considera que la AA es un problema para la salud humana (JEFCA, 2011). La evidencia de estudios en animales muestra que la AA y su metabolito, la glicidamida, son genotóxicos y cancerígenos (Murkovic y cols., 2019). En 2015, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) confirmó que la AA en los alimentos aumenta potencialmente el riesgo de desarrollar cáncer para los consumidores de todos los grupos de edad. La Comisión Europea estableció en 2017 medidas de mitigación para la reducción de AA en los alimentos e identificó nuevos niveles de referencia para una serie de categorías de alimentos (European Commission, 2017). El Reglamento 2158/2017 obliga a los productores/procesadores de alimentos y a los operadores de empresas alimentarias en Europa a reducir la presencia de acrilamida en sus productos según el principio ALARA, acrónimo del concepto “*As Low As Reasonably Achievable*” (tan bajo como sea razonablemente posible). Este principio implica establecer medidas de mitigación de AA en proporción al tamaño y naturaleza de los establecimientos. Los productos procesados a altas temperaturas derivados de la papa a través de la fritura son los principales contribuyentes a la exposición a la AA (EFSA, 2015). Se han establecido niveles de referencia de AA de 500 y 750 µg/kg para las papas fritas en bastones y rodajas respectivamente (European Commission, 2017). Las rodajas de papas fritas son los alimentos que presentan los mayores niveles de AA.

El HMF es genotóxico en determinadas condiciones experimentales y, en algunos casos, tiene potencial carcinogénico (EFSA, 2011). Diferentes estudios han encontrado actividad carcinogénica y mutagénica del HMF tanto *in vitro* como en ensayos con animales (Kitts y cols., 2012). El HMF es también citotóxico e irritante para los ojos, el tracto respiratorio superior, la piel y las membranas mucosas (Shapla y cols., 2018). El HMF es un derivado del furano y un componente del color caramelo (Capuano y Fogliano, 2011, EFSA, 2011).

2.2.5 Mitigación de neocontaminantes

Las estrategias para la mitigación de neocontaminantes incluyen cambios en las formulaciones de los alimentos a procesar a altas temperaturas (e.g., selección de variedades de papa y especies de cereales o variedades con bajos contenidos de precursores de acrilamida tales como azúcares reductores y asparagina, adición de proteínas, enzimas como la asparagina, glicina, cisteína y otros aminoácidos, ácidos orgánicos y agentes acidulantes, iones de calcio, ciclodextrina, antioxidantes naturales o extractos de antioxidantes, etc., sustitución de azúcares reductores con sacarosa y de bicarbonato de amonio con bicarbonato de sodio) o cambios en las condiciones y/o tecnologías del procesamiento como combinaciones adecuadas de tiempo de procesamiento en operaciones unitarias tales como fritura a presión atmosférica o al vacío, tipo de horneado, fermentación, entre otras (Anese y cols., 2010). Algunas de las estrategias de mitigación que se han propuesto provocan cambios en las propiedades organolépticas de alimentos (pardeamiento excesivo como resultado de la adición de glicina, generación de sabores desagradables, pardeamiento insuficiente como resultado de cambios en el perfil de tiempo-temperatura, etc.) que pueden afectar dramáticamente la calidad sensorial final del producto y la aceptación del mismo por parte de los consumidores (Capuano y cols., 2009). Este es un punto fundamental considerando que las estrategias de mitigación de neocontaminantes no son solo del todo útiles por razones toxicológicas, sino que también están estrechamente y simultáneamente relacionadas y acopladas a la obtención de los atributos sensoriales atractivos a los consumidores de los productos finales (Capuano y Fogliano, 2011).

Diferentes estudios muestran estrategias de mitigación viables a escala de laboratorio. Por ejemplo, Liyanage y cols., (2021) demostraron que numerosas modificaciones simples como de tiempo, temperatura y condiciones de escaldado (agua destilada, ácido acético al 1%, ácido cítrico al 1% o glicina 0,1 M) compatibles con el procesamiento industrial pueden mitigar la formación de AA en las papas fritas. Por otro lado, dado que la vía de formación de AA es compleja, se deben considerar estudios cinéticos adicionales y evaluaciones de calidad (textura, color, sabor y aroma) en la implementación de medidas de mitigación de AA a escala industrial. Pedreschi y cols., (2018b) utilizaron un extracto polifenólico de vainas de tara (*Caesalpinia spinosa*) para mitigar con éxito la formación de AA y HMF en el pan hallulla conservando sus atractivos atributos sensoriales. Cuanto mayor fue la concentración de

extracto añadido, mayor fue la reducción de la formación de AA y HMF en este tipo de pan; así, a una concentración de extracto de 1500 mg/kg de harina de trigo, la formación de AA y HMF en este pan se mitigó en 97% y 40%, respectivamente, preservando su calidad sensorial.

Gökmen y cols., (2007) estudiaron los efectos de la composición de una masa en la que se reemplazó los azúcares reductores por sacarosa y se adicionó ácido cítrico, así como, además, se consideraron las condiciones de horneado sobre la formación de AA y HMF en galletas con el objetivo de encontrar una estrategia para su mitigación. Los resultados sugieren que reemplazar los azúcares reductores por sacarosa es un enfoque factible para reducir el contenido de AA de las galletas. La adición de ácido trae algunas desventajas al incrementar la tendencia a las formaciones de AA y HMF a través de la hidrólisis de la sacarosa y al afectar adversamente la calidad sensorial (sabor ácido no deseado) por lo que no se recomienda como una estrategia de mitigación viable. Por otro lado, es posible producir galletas con una concentración de AA de menos de 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ horneándolas a 160 °C durante 25 min, lo que evitará un oscurecimiento excesivo de la superficie y un aumento en la concentración de HMF.

Mariotti y cols., (2015) estudiaron el efecto del escaldado sobre la formación de furano y AA y la absorción de aceite en rodajas de papas durante la fritura con el objetivo de mitigar la formación de estos neocontaminantes sin aumentar la absorción de aceite. Estos autores obtuvieron como resultado que el proceso de escaldado puede considerarse una alternativa viable para producir chips más saludables con niveles más bajos de furano, acrilamida y aceite. El estudio contribuyó a mejorar la inocuidad química y calidad sensorial de las rodajas de papa frita, así como también, generó nuevos conocimientos relevantes. Este hecho indica que, el estudio de la formación y mitigación de neocontaminantes en diferentes matrices alimentarias puede considerarse como un área emergente y muy interesante de investigación, no solo desde una perspectiva científica sino también tecnológico. Estas investigaciones sugieren considerar enfáticamente la evaluación sensorial de los snacks intervenidos como un aspecto relevante de la función de deseabilidad en paralelo con las tecnologías desarrolladas orientadas a mitigar la formación de neocontaminantes en rodajas de papas fritas y productos amiláceos procesados a altas temperaturas.

2.2.6 Métodos de cuantificación de neocontaminantes

Se han desarrollado muchos métodos analíticos para determinar la presencia de AA en los alimentos (Wawrzyniak y Jasiewicz, 2019). Los métodos comúnmente utilizados se basan en la cromatografía de gases (GC) o la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) junto con la detección por espectrometría de masas (GC-MS y LC-MS) (Soares y cols., 2010, Wenzl y cols., 2009). El método LC-MS requiere un paso de purificación de la muestra, generalmente mediante el uso de extracción en fase sólida (SPE) mientras que GC-MS requiere la obtención de un derivado de acrilamida, generalmente el derivado de bromuro (Wawrzyniak y Jasiewicz, 2019).

Los métodos convencionales para la determinación de HMF en alimentos utilizan cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detección UV (método de referencia de la AOAC n° 980.23) (Gökmen y Senyuva, 2006, Habibi y cols., 2018, Mesias y cols., 2019, Fallico y cols., 2003, De Andrade y cols., 2016) o HPLC acoplada a espectrometría de masas (HPLC-MS) (Jozinović y cols., 2019, Teixidó y cols., 2008) y HPLC conectada a detector DAD (HPLC-DAD) (Toker y cols., 2013). La cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (GC-MS) y la electroforesis capilar con detector UV (CE-UV) también se han aplicado para el análisis HMF como alternativa a la HPLC (Teixidó y cols., 2006, Wu y cols., 2018). Sin embargo, en cualquier caso, muchos compuestos presentes en los alimentos pueden interferir y afectar negativamente a su cuantificación, por lo que el uso de una metodología de extracción eficaz es de gran importancia para esta tarea (González y cols., 2020).

Para la preparación de muestras se ha utilizado extracción sólido-líquido (SLE) (Yang y cols., 2019, Petisca y cols., 2014) o microextracción líquido-líquido (LLME) (Wu y cols., 2018) empleando Carrez I y II reactivos como clarificantes para eliminar interferencias de matriz. Además, la aplicación de un paso de extracción en fase sólida (SPE) para la purificación de extractos es muy útil para mejorar su determinación (González y cols., 2020). Por lo tanto, existe la necesidad de desarrollar un método rápido y económico que pueda aplicarse directamente en muestras de alimentos (intrusión mínima) para la estimación de sustancias tóxicas. Los métodos basados en el procesamiento de imágenes se adaptan a estos requisitos y se están investigando aplicando para tal fin en los últimos tiempos (Dutta y cols., 2016).

2.3 Visión computacional

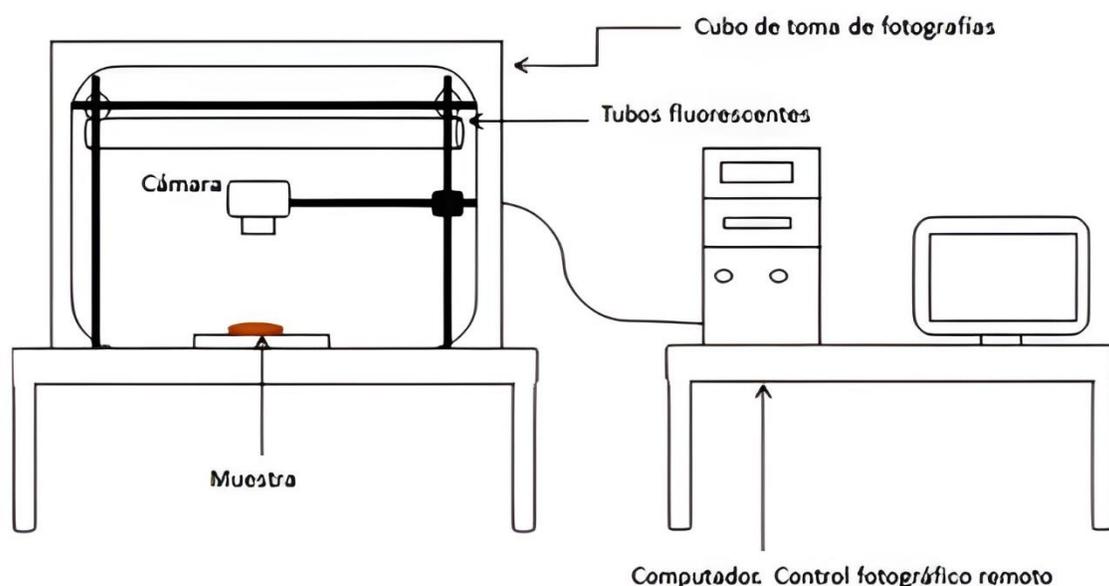
La tecnología de obtener y analizar imágenes ópticas, también denominada "técnica basada en imágenes", ha ganado un gran interés en la detección de la calidad y la inocuidad de los alimentos y se ha convertido en una herramienta valiosa en diversas áreas relevantes para su aplicación debido a los últimos avances y desarrollos tecnológicos (Chen y cols., 2013).

El sistema de visión artificial (por computadora) es una de las principales disciplinas basadas en la adquisición de imágenes digitales que luego son procesadas para la caracterización de la calidad e inocuidad de los alimentos (Zhang y cols., 2014). Es una tecnología de clasificación no destructiva y un método rentable con alta precisión que se puede utilizar para predecir la longitud, el espesor y la masa, así como los defectos tanto del interior como del exterior de una muestra mediante el empleo de diferentes cámaras para la adquisición de las imágenes a analizar (Su y cols., 2018). Los sistemas de visión computacional son esencialmente el desarrollo de sistemas que permiten adquirir imágenes digitales y aplicar programas o rutinas de software que automáticamente procesan las imágenes y extraen y analizan los datos adquiridos con una finalidad específica (Segura y cols., 2023). Además, son herramientas de investigación relativamente nuevas, que aún se están desarrollando y mejorando (Modzelewska-Kapituła y Jun, 2022), por lo cual se han convertido en una tecnología muy promisoría para el futuro (Minz y Saini, 2021).

La visión computacional es eficiente, confiable, objetiva, reproducible y flexible para la medición del color con capacidades que no son posibles con otros métodos instrumentales como los colorímetros y espectrofotómetros que solo pueden medir superficies de las muestras que son bastante uniformes y pequeñas (Mery y cols., 2012, Wu y Sun, 2013b, Modzelewska-Kapituła y Jun, 2022). Además de la medición del color, la visión por computadora permite la evaluación de otros atributos de calidad, como la forma, rugosidad de superficies no homogéneas, tamaño, orientación y defectos, entre otras (Wu y Sun, 2013b). A partir de la combinación de estos atributos, la visión computacional ofrece la posibilidad de diseñar sistemas de inspección para la clasificación automática y determinación de la calidad de los productos alimenticios (Wu y Sun, 2013b). Sí bien se han alcanzado grandes avances científicos-tecnológicos en esta área, aún se necesitan más investigaciones y desarrollos en hardware y software para los sistemas de visión computacional (Garavand y cols., 2019).

El montaje de un sistema de visión computacional consiste en una caja adaptada para la toma de fotografías (con el fin de evitar alteraciones producidas por el brillo sobre la cámara y muestras), un sistema de iluminación, un soporte para cámara fotográfica digital, un computador para el manejo remoto (**figura 7**) (Ahumada, 2011, Pedreschi y cols., 2006b).

Figura 7. Caja cúbica y sistema de iluminación.

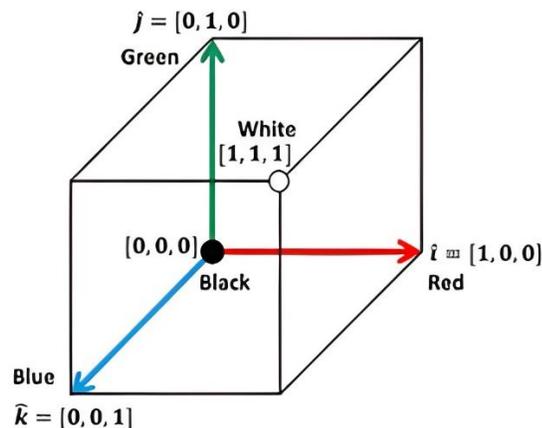


En el ámbito de la química analítica a través de imágenes, la utilización de espacios de color juega un papel fundamental en la obtención de información química colorimétrica esencial pertinente para los ensayos de interés. Numerosas investigaciones científicas han demostrado claramente el inmenso valor de las mediciones de color con el sistema RGB (rojo, verde, azul) generados por el dispositivo de adquisición/procesamiento de imágenes en la detección bioquímica colorimétrica de compuestos y características de interés (Fay and Wub, 2024).

El uso principal de la visión computacional es capturar las imágenes del material basadas en cámaras de color rojo-verde-azul (RGB), similar al ojo humano que es sensible a la longitud de onda visible (Lorente y cols., 2012). En el espacio RGB cada color está representado con los componentes espectrales primarios de rojo, verde y azul, y se basa en un sistema de coordenadas cartesiano en el cual la combinación de colores se fundamenta en la adición de los componentes individuales considerando como base el color negro. Las imágenes representadas en el modelo de color RGB constan de tres imágenes de componentes, una para cada color primario. Cuando se alimentan a un monitor RGB, estas tres imágenes se

combinan en la pantalla para producir una imagen de color compuesta. La intensidad de los diferentes componentes del color determina tanto el tono como el brillo del color resultante (Gonzalez y Woods, 2002). El origen de este modelo se encuentra en la tecnología de la televisión, y puede considerarse como la representación fundamental del color para computadoras, cámaras digitales y escáneres; así como también para el almacenamiento de imágenes. La mayor parte del software desarrollado para procesamiento de imágenes y gráficos emplea este modelo. La forma del espacio RGB es un cubo, cuyas coordenadas corresponden a los tres colores básicos: rojo (R), verde (G) y azul (B). Los valores de cada componente están en el rango $[0, 255]$, donde cada color posible corresponde a un punto sobre o dentro del cubo y se definen mediante vectores que se extienden desde el origen; pero, normalmente, el rango de valores de cada componente de color se normaliza al rango $[0, 1]$; por lo tanto, el color del espacio se representa como el cubo unitario que se muestra en la **figura 8** (Garcia-Lamont y cols., 2018, Gonzalez y Woods, 2002).

Figura 8. Espacio RGB representado como un cubo unitario.



Los colores rojo, verde y azul constituyen los ejes de coordenadas obteniéndose diferentes colores combinando los valores de los colores correspondientes a cada eje de coordenadas. El espacio RGB es un modelo sencillo, en varios estudios se emplea para el procesamiento de color o cuando es necesario transformar colores a un espacio de color diferente (Garcia-Lamont y cols., 2018).

La visión por computadora juega un papel cada vez más importante en la inspección visual automatizada de alimentos (Mery y cols., 2010). En este sentido, el procesamiento básico de imágenes digitales incluye una serie de operaciones que mejoran la interpretación de estas. Estas operaciones también permiten segmentar la imagen para analizar una región de

interés específica. Además, se pueden extraer, seleccionar y analizar diferentes características de esta imagen (Wu y Sun, 2013a). Al analizar la imagen de una muestra de alimentos, los científicos pueden lograr controlar ciertos procesos o estudiar ciertos fenómenos críticos en el procesamiento de alimentos (Leiva-Valenzuela y cols., 2018).

2.3.1 Adquisición de imágenes

La imagen digital del objeto en estudio es capturada y almacenada en el computador para su procesamiento posterior. Para la adquisición de la imagen es importante considerar el efecto de la intensidad de la iluminación, y la orientación de las muestras en relación a la fuente de iluminación, dado que el nivel de gris del pixel, está determinado no solo por las características físicas de la superficie, sino que también por estos dos parámetros de intensidad y orientación (Peleg, 1993).

2.3.2 Pre-procesamiento de imágenes

Las imágenes digitales adquiridas deben ser pre procesadas para mejorar su calidad antes de ser analizadas. Usando filtros digitales, puede ser removido el ruido de la imagen y se puede aumentar el contraste. En esta etapa, la imagen en color es convertida en una imagen en escala de grises, llamada intensidad de imagen (I) (Ahumada, 2011).

2.3.3 Segmentación

La segmentación de la imagen se define como una separación de la imagen en varias regiones en donde los pixeles tienen características similares. La intensidad de la imagen (I), es usada para dividir las imágenes en regiones con el fin de separar la región de interés a analizar del fondo o resto de la imagen (Ahumada, 2011).

La imagen segmentada (S), es una imagen binaria, la cual consiste solo en pixeles blancos y negros, donde 0 (negro) y 1 (blanco), indican el fondo y el objeto respectivamente (Mery y Pedreschi, 2005).

2.3.4 Medición o extracción de características

Las características de una imagen se utilizan en la clasificación automática de imágenes y en el proceso de toma de decisiones. Muchas de estas características de una imagen, como diferencias de textura, diferencias de forma, fluctuaciones de luz, cambios de color en la imagen, brindan información útil para generar algoritmos de clasificación apropiados (Öztürk & Akdemir, 2018).

El propósito de los algoritmos de extracción de características es identificar las características que pueden representar mejor la imagen y contener menos parámetros. Se puede realizar una clasificación más rápida y exitosa con menos demanda computacional al eliminar parámetros sin importancia (Nagarajan y cols., 2016). Según Öztürk & Akdemir, (2018) y la elección de qué características se usarán varía según la especificidad del problema. Por esta razón, existen muchos algoritmos exitosos de extracción de características con diferentes enfoques en la literatura, tales como: Matriz de coocurrencia de nivel de gris (GLCM), Patrón binario local (LBP), Matriz de co-ocurrencia de nivel de gris binario local (LBGLCM), Matriz de longitud de ejecución de nivel de gris (GLRLM) y Análisis de textura fractal basado en segmentación (SFTA) (Öztürk & Akdemir, 2018). Güner y cols., (2019) han indicado que el algoritmo patrón binario local (LBP) se puede utilizar como un método de extracción de características de textura de imagen, por lo cual es un método efectivo y relevante para aplicaciones de procesamiento de imágenes.

Tradicionalmente, la textura de una imagen es una representación macroscópica de un patrón local repetitivo de intensidad de valor propio en una imagen, y la repetición y estabilidad del patrón local son sus principales características. La textura de la imagen se puede procesar por computadora y digitalizar, y luego se puede obtener la señal del análisis y procesamiento de la imagen (Wang y cols., 2019).

2.3.4.1 Descriptor patrón binario local

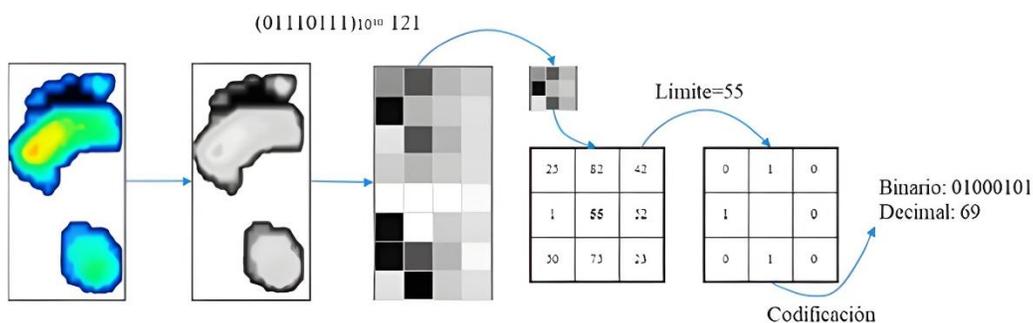
El patrón binario local (LBP) es un descriptor de textura de imágenes que ha demostrado ser bastante efectivo para diversas tareas de análisis de imágenes digitales, incluidas aplicaciones de clasificación de texturas, reconocimiento facial, recuperación de imágenes, segmentación de imágenes, entre otras (Pietikäinen, 2005, Liu y cols., 2016a, Ojala y cols., 2002). El LBP es un método efectivo de extracción de características que expresa las características espaciales de las imágenes en escala de grises (Ojala y cols., 2002). El operador basado en LBP puede extraer la información de textura de una imagen considerando los valores de píxeles vecinos (Liu y cols., 2017). La idea básica detrás de la aplicación del LBP es que describe una imagen por patrones locales (Liu y cols., 2016a).

El LBP tiene varias ventajas atractivas como el haber demostrado ser un poderoso discriminador con bajo costo computacional, el ser robusto frente a cambios en la intensidad de la imagen y capacidad de ser implementado fácilmente (Liu y cols., 2016a). Además, los patrones binarios locales mejorados tienen las siguientes ventajas: invariancia de escala de

grises, invariancia de rotación, análisis multiresolución, y por su baja complejidad computacional, es un método de procesamiento de imágenes muy práctico (Liu y cols., 2017, Mahale y cols., 2017).

El descriptor LBP es como una ventana de 3×3 píxeles (Ojala y cols., 2002). El valor de nivel de gris de ocho píxeles adyacentes se compara con el valor de umbral del píxel central de la ventana. Si el valor del píxel circundante es mayor que el valor del píxel central, la posición del píxel se marca como 1; de lo contrario, 0. De esta manera, se pueden comparar ocho puntos en una vecindad de 3×3 para producir ocho dígitos binarios (generalmente convertidos a dígitos decimales, es decir, códigos LBP, por un total de 256). El código LBP del píxel central de la ventana se puede obtener como se muestra en la **Figura 9** (Wang y cols., 2019). Esto también se realiza para otros píxeles vecinos.

Figura 9. Proceso de patrón binario local (LBP).



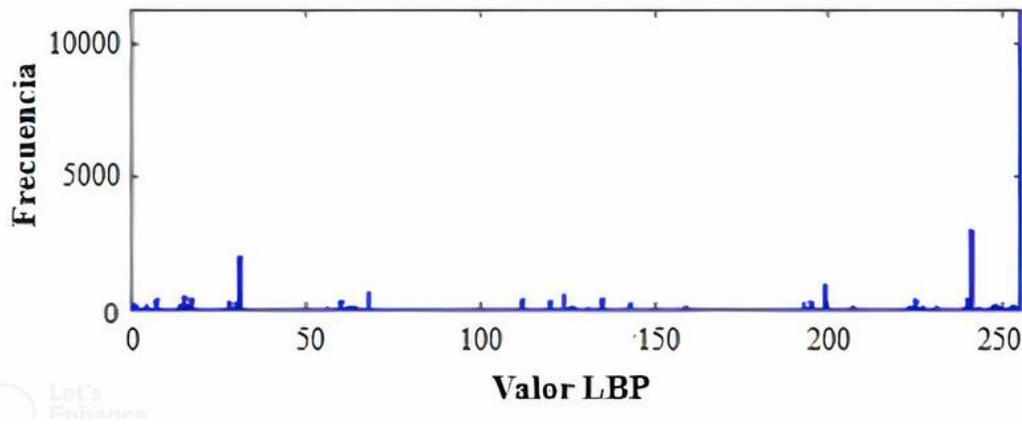
Según Wang y cols., (2019) los pasos principales para extraer vectores de características LBP:

Paso 1: primero divide la ventana de detección en un área pequeña de 16×16 (celda).

Paso 2: para un píxel en cada celda, comparar el valor de gris de ocho píxeles adyacentes. Si el valor del píxel circundante es mayor que el valor del píxel central, la posición del píxel se marca como 1; de lo contrario, 0. De esta manera, se pueden generar dígitos binarios de 8 bits comparando 8 puntos en una vecindad de 3×3 , es decir, se puede obtener el código LBP del píxel central de la ventana.

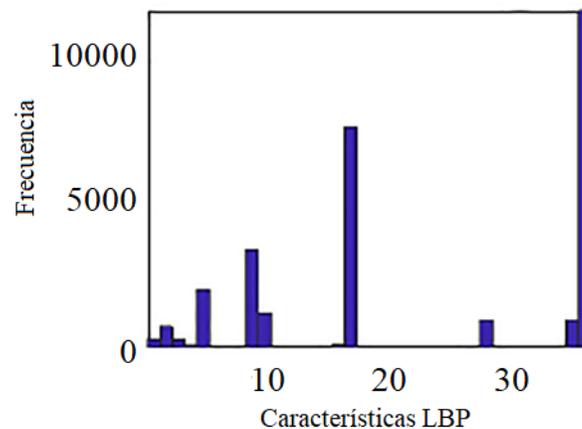
Paso 3: luego calcule el histograma de cada celda, es decir, la frecuencia de aparición de cada número (se supone que es el código LBP del número decimal) (**Figura 10**), donde el eje “x” son los códigos LBP y el eje “y” es la frecuencia (cuantas veces aparece el código LBP en la imagen); luego normalice el histograma por la distancia euclidiana.

Figura 10. Histograma de código LBP.



Paso 4: Finalmente, se adquiere el vector de características de textura LBP de toda la imagen, es decir, se adquiere el histograma estadístico de cada celda (**Figura 11**); donde el eje “x” son las características de textura LBP y el eje “y” es la frecuencia (cuantas veces aparece la característica de textura LBP en la imagen).

Figura 11. Histograma de características de textura LBP



Luego se puede clasificar mediante el uso de algoritmos de aprendizaje automático (Wang y cols., 2019).

2.3.5 Interpretación o clasificación

La clasificación de imágenes es una nueva tecnología desarrollada en los últimos años (Wang y cols., 2019). Como una de las tareas básicas de visión por computadora, la clasificación de imágenes es reconocer objetos de una imagen y clasificar la imagen en una de las categorías predefinidas (Zhao y cols., 2019). Los métodos de clasificación basados en el espacio de la imagen utilizan principalmente las características subyacentes de la imagen, como el color, el nivel de gris, la textura, la forma y la posición para clasificar las imágenes (Wang y cols., 2019).

La clasificación de imágenes basada en características de textura describe las características de distribución del espacio gris de la imagen (Zhao y cols., 2019). La clasificación de imágenes de textura se refiere a la designación de una categoría de textura predefinida basada en el contenido de la imagen o la región de la imagen a clasificar; se utiliza en navegación visual y en clasificación de imágenes (clasificación de escenas, reconocimiento de objetos, reconocimiento de rostros, análisis de video inteligente, detección industrial, análisis de imágenes médicas y clasificación de texto) (Wang y cols., 2019). Por otro lado, el rendimiento de los algoritmos de clasificación puede ser evaluado mediante el método de validación cruzada (Wong, 2015).

2.3.5.1 Validación cruzada

Según Seraj y cols., (2023) la validación de un modelo evalúa cómo los resultados de un análisis estadístico se generalizarán a un conjunto de datos independiente. Existen varias técnicas para la validación de modelos. Un método familiar y famoso para la validación de modelos es la validación cruzada. Esta técnica se aplica principalmente en entornos donde se predice la salida y determina la precisión del modelo predictivo en la práctica (Seraj y cols., 2023).

Por lo tanto, según Cawley & Talbot, (2003), la validación cruzada hace un buen uso de los datos disponibles, ya que cada patrón utilizado se utiliza tanto como datos de entrenamiento como de prueba. Además, la validación cruzada es especialmente útil cuando la cantidad de datos disponibles es insuficiente para formar las particiones habituales de entrenamiento, validación y prueba requeridas para el entrenamiento de muestra dividida, cada una de las cuales representa adecuadamente la distribución real de los patrones que pertenecen a cada clase. La forma más extrema de validación cruzada, donde k es igual al número de clases de

entrenamiento, se conoce como validación cruzada *leave-one-out* y ha sido ampliamente estudiada debido a su simplicidad matemática (Cawley & Talbot, 2003).

2.3.5.1.1 Validación cruzada *leave-one-out*

Se ha demostrado que la Validación Cruzada *Leave-One-Out* (LOO-CV) proporciona un estimador casi imparcial de las propiedades de generalización de los modelos estadísticos y, por lo tanto, proporciona un criterio sensato para la selección y comparación de modelos (Cawley & Talbot, 2004); asimismo, Shao & Er, (2016) indicaron que la LOO-CV es un procedimiento altamente confiable en términos de selección de modelos. La selección de modelos busca con frecuencia optimizar una estimación de validación cruzada de una estadística adecuada que mide la capacidad de generalización de datos no vistos, por ejemplo, la tasa de clasificación errónea en el caso del reconocimiento de patrones o el error de suma de cuadrados en una configuración de regresión (Cawley & Talbot, 2004).

Por otro lado, muchos estudios adoptan la LOO-CV para evaluar el rendimiento de un algoritmo de clasificación cuando el número de instancias en un conjunto de datos o el número de instancias para un valor de clase es pequeño. Dado que no existe la aleatoriedad de dividir las instancias para entrenamiento y prueba, la estimación puntual de la precisión para un conjunto de datos dado es constante. Esta sección derivará las distribuciones de muestreo para la LOO-CV para hacer inferencias estadísticas sobre las precisiones medias de los algoritmos de clasificación (Wong, 2015).

2.4 Análisis sensorial

Uno de los principales pasos en el desarrollo de productos alimenticios es la determinación de los atributos sensoriales (Zay & Gere, 2019). El análisis descriptivo cuantitativo es el método descriptivo más utilizado y presenta ventajas en comparación con otros métodos, como el uso de evaluadores capacitados capaces de evaluar todos los atributos sensoriales presentes en el producto (Stone & Sidel, 2004); pero también ha crecido el interés en las metodologías basadas en el consumidor para la caracterización sensorial de productos, motivado por la necesidad de reducir el tiempo y los recursos requeridos para la implementación del análisis descriptivo, y de incluir directamente los aportes de los consumidores en el proceso de desarrollo de nuevos productos (Valentin y cols., 2012, Varela & Ares, 2012). La metodología Check-All-That-Apply (CATA) es una técnica reciente, que permite la elaboración de perfiles sensoriales de productos a través de la selección de términos donde a los consumidores se les presenta una lista de términos y se les pide que

indiquen qué palabras o frases describen adecuadamente su experiencia con la muestra que se está evaluando (Ares y cols., 2010, Dooley y cols., 2010, Ribeiro y cols., 2019). Los términos pueden incluir no solo atributos sensoriales sino también respuestas emocionales, intención de compra, aplicaciones potenciales o posicionamiento del producto (Meyners & Castura, 2014). Por esta razón la metodología CATA está ganando protagonismo como un método rápido y fácil para obtener caracterizaciones sensoriales de productos válidas y confiables derivadas del consumidor (Ares y cols., 2015, Varela & Ares, 2012). Adicionalmente, este método requiere entre 50 a 100 consumidores para la caracterización sensorial del producto (Ares y cols., 2010, Dooley and Meullenet, 2010, Plaehn, 2012).

Por otro lado, en la evaluación sensorial con consumidores, no solo se utiliza un método o un único test sino que generalmente conlleva una combinación de estos. En esta combinación se puede considerar el método hedónico (proporciona una medida de agrado) y de preferencia (determina qué productos se prefieren) el cual ayuda a recopilar información sobre los atributos del producto. Adicionalmente, también se hace uso de la escala de “Justo agrado” donde los consumidores deben asignar puntajes o proporcionar respuestas a preguntas relacionadas específicamente a un atributo en si esta menos o más fuerte de lo que le gusta o si esta justo como le gusta y se pueden también utilizar preguntas abiertas (Delareu y cols., 2015). El objetivo principal de hacer toda esta combinación de métodos, pruebas o tests es entender de la mejor manera cuál es la percepción del consumidor hacia el producto (Doblado, 2022).

3 Hipótesis

Es posible aplicar la técnica de visión computacional para estimar la formación de neocontaminantes (acrilamida e hidroximetilfurfural) en galletas saladas de manera más simple que con la medición a través de las técnicas químicas analíticas tradicionalmente empleadas.

4 Objetivos

4.1 Objetivo general

Aplicar la técnica de visión computacional para estimar la formación de acrilamida e hidroximetilfurfural en galletas saladas a partir del análisis de imágenes digitales empleando visión computacional.

4.2 Objetivos específicos

1. Determinar el contenido de acrilamida e hidroximetilfurfural con los métodos químicos tradicionales en galletas saladas obtenidas bajo diferentes condiciones de tiempo-temperatura de horneado, para usarlos como base de datos para el sistema de visión computacional.
2. Adquirir imágenes digitales de las galletas saladas obtenidas bajo diferentes condiciones y diseñar un modelo para estimar la formación de neocontaminantes a partir del procesamiento de imágenes digitales aplicando visión computacional.
3. Evaluar el desempeño del modelo propuesto a través de visión computacional mediante validación cruzada leave-one-out y estimar la formación de neocontaminantes en galletas saladas utilizando el programa computacional Matlab R2016 y Toolbox de procesamiento de imágenes.
4. Realizar un estudio sensorial de galletas saladas procesadas a altas temperaturas con baja, intermedia y alta formación de neocontaminantes para determinar si las distintas condiciones de tiempo-temperatura de horneado afectan negativamente la percepción sensorial del producto final por los consumidores.

5 Materiales y equipos

5.1 Materia prima

- Harina de trigo sin polvos de hornear.
- Manteca vegetal.
- Sal.
- Agua potable.

5.2 Reactivos químicos

- Solución de trabajo SI (20mg/L AA-D3) (Estándar de Acrilamida)
- Metanol grado para cromatografía líquida, Merck.
- n-Hexano para cromatografía líquida, Merck.
- Solución Carrez I (15g de $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$ en 100 ml de agua)
- Solución Carrez II (30g de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ en 100 ml de agua)
- Agua desmineralizada.

5.3 Insumos

- Filtro de nylon 0,2 μm .
- Jeringas desechables, Cranberry de 3ml con aguja CALIBRE 21g X 11/2.
- Material de vidrio (vasos precipitados, matraz aforado, probeta, tazas).
- Papel filtro Watman No. 1.
- Tubos falcon cónicos 15ml.
- Cartridge, Tubos de PP de 3 ml (LICHROLUT®RP-18 (40-63 MYM) 500 mg)
- Viales de 2 ml.

5.4 Equipos e instrumentos

- Vortex, DLAB MXF.
- Baño Ultrasonido, ELMA P300H, 28 litros con calefacción.
- Centrifuga, MIKRO 220R Hettich Zentrifugen.
- Balanza analítica, KERN ABJ220-4-NM.
- Columna Agilent DB-FFAP 122-3232 de 30 m x 0.25 mm ID, 25 micras.
- Cromatógrafo de Gas-MS, Agilent 7890^a/Agilent 597C XL EI/CI MSD.
- Fase móvil: ácido acético al 1%/acetonitrilo (proporción 95/5%)
- Columna Agilent HPLC-DAD, C18 (5 μm 129 A 4.6 X 150 mm).

- Micropipetas, DISCOVERY Comfort (20-200 μ L, 100-1000 μ L, 0.5-5ml).
- Refrigerador, Whirlpool.
- Horno Garbin, modelo 43 DX UMI.
- Máquina mezcladora, modelo 4169/4297, Braun AG, Kronberg, Alemania.
- Lavadora RAM, modelo Q50B/700, N° de serie 15015.
- Procesador de alimentos, marca Cuisinart, modelo ECH4CL, China.

6 Metodología

6.1 Diseño experimental y análisis estadístico

Se desarrolló un diseño experimental factorial completo (5x5) con dos factores (**Anexo 10.1**) y con tres repeticiones para investigar el efecto de las condiciones de horneado (temperatura: 160°, 170°, 180°, 190°, 200°C; tiempo: 15, 20, 25, 30, 35 min) sobre la generación de AA e HMF en galletas saladas (**Tabla 1**). Luego, se adquirieron imágenes de las muestras de galletas saladas utilizando un sistema de adquisición de imágenes de laboratorio (**según 6.5.1**), para posteriormente ser sometidas a técnicas de procesamiento de imágenes, utilizando Matlab R2016 y Toolbox de procesamiento de imágenes (**según 6.5.2**). Finalmente, las muestras que presentaron menor contenido de AA y que no superaron el límite máximo establecido por European Commission para galletas saladas (<400 µg/kg), fueron sometidas a evaluación sensorial. Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente mediante el programa computacional Minitab Statistical Versión 2019.11.14 de la empresa Minitab Inc, para determinar por medio de ANOVA Multifactorial y Prueba de Múltiple Rangos de diferencias significativas según Tukey a un nivel de confianza del 95%, si existe diferencias significativas entre los factores y sus interacciones.

Tabla 1. Diseño experimental factorial completo (5x5).

Contenido de Neocontaminantes		Temperatura (°C)					Factores= 2 Muestras= 25 Réplicas= 3 Total de corridas= 75
		160	170	180	190	200	
Tiempo (min)	15						
	20						
	25						
	30						
	35						

El proceso de horneado y la adquisición de imágenes (cara superior de la galleta) se realizaron por triplicado. Para los análisis de AA e HMF se homogenizaron las 3 repeticiones de cada tratamiento, y se tomaron 2 muestras por tratamiento para realizar los análisis de estos neocontaminantes por los métodos químicos tradicionales (GC-MS y/o HPLC-DAD). Así también, se estimó el contenido de AA y HMF en galletas saladas utilizando visión computacional en cada uno de los tratamientos establecidos. Los resultados de las

estimaciones por visión computacional se compararon con los valores experimentales obtenidos por los métodos químicos tradicionales (GC-MS y/o HPLC-DAD) mediante pruebas de Tukey, con un intervalo de confianza del 95 % utilizando el programa computacional Minitab Statistical Versión 2019.11.14 de la empresa Minitab Inc. Los modelos predictivos construidos con 25 tratamientos se evaluaron estadísticamente por el método de validación cruzada *leave-one-out* (dejando fuera en cada modelación un tratamiento) utilizando el programa computacional Minitab Statistical Versión 2019.11.14 de la empresa Minitab Inc.

6.2 Preparación de la materia prima

6.2.1 Materia prima

Para las galletas saladas se utilizó harina de trigo sin polvo de hornear marca Selecta, manteca vegetal (manteca de palma, aceite de canola (30%), oleína de palma, mezcla de aceites vegetales interesterificados de semilla de palma y soya, aceite soya completamente hidrogenado, triglicéridos, BHT y saborizante idéntico al natural) marca Astra, sal (cloruro de sodio, dióxido de silicio y yodato de potasio) marca Lobos y agua potable; los cuales fueron comprados en supermercado. Estos ingredientes fueron trasladados al Laboratorio de Inocuidad Química de Alimentos de la Pontificia Universidad Católica de Chile, a temperatura ambiente y al llegar al laboratorio la manteca vegetal se colocó en refrigeración.

6.3 Elaboración de galletas saladas

Las galletas se elaboraron en base a la formulación y metodología desarrollada por Matus, (2017) con algunas modificaciones la que se describe para una preparación a partir de 100 g de harina de trigo (considerando que tiene una humedad del 14 %) en la **Tabla 2** (ver detalle de formulación).

Tabla 2. Formulación de galletas saladas horneadas en base a 100 g de muestra.

Ingredientes	Cantidad (g)	%
Harina de trigo	66,23	66,23
Manteca vegetal	4,64	4,64
Sal	1,32	1,32
Agua	27,81	27,81
Total	100	100

Los ingredientes se mezclaron durante 4 minutos hasta obtener una masa homogénea, la cual no reposó ni fermentó. Luego la masa fue laminada hasta un grosor de 1 mm aproximadamente, para darle forma con un sacabocados (molde circular de 40 mm de diámetro) y las piezas obtenidas se colocaron en una bandeja (20 muestras por bandeja). Posteriormente se horneó 1 bandeja bajo las 25 condiciones experimentales planeadas (temperaturas de 160°, 170°, 180°, 190° y 200 °C por tiempos de 15, 20, 25, 30 y 35 min, respectivamente). Con el fin de lograr un calentamiento uniforme primero se calentó y estabilizó la temperatura del horno de convección forzada durante 1 hora. Finalmente, las galletas horneadas ya elaboradas para cada condición se almacenaron en bolsas de cierre hermético de polietileno de baja densidad; para el posterior análisis de neocontaminantes (se mantuvieron congeladas a aproximadamente -18 °C) y la evaluación sensorial (se mantuvieron a temperatura ambiente, por no más de 1 día hasta el momento de la evaluación).

6.4 Caracterización química de galletas saladas

6.4.1 Determinación de AA

El contenido de AA se cuantificó por cromatografía de gases – espectrometría de masas (GC – MS) según el método desarrollado por Mariotti y cols., (2015) con algunas modificaciones.

6.4.1.1 Extracción de AA

Se realizó la extracción de AA de las galletas saladas mediante el siguiente tratamiento: las galletas saladas fueron previamente molidas en un procesador durante 3 min posteriormente se tomaron 2 g de muestra en un tubo de centrifuga y se adicionó 40 µl de la solución de trabajo SI (20 mg/l AA-D3) y 10 ml de metanol. Las muestras se agitaron por 30 segundos en vortex y se dejaron en ultrasonido a 60°C por 20 minutos. Se centrifugaron las muestras a -4°C y 6000 rpm por 10 min. Se extrajeron 5 ml de sobrenadante y se hicieron pasar por un cartridge de fase reversa C18 con la ayuda de un manifold con vacío para recuperar el extracto. Posteriormente se pasaron 5 ml de metanol y se juntó al volumen de extracto obtenido anteriormente en un tubo de centrifuga de 50 ml y se adicionaron 10 ml de n-hexano, para ser sonicado por 5 min y posteriormente centrifugado a -10°C y 6000 rpm por 10 min. Luego se tomó solo la fase inferior (metanol) y llevado a un balón esmerilado de 100 ml. Se evaporó a 40°C el solvente hasta sequedad. Se adicionó 1 ml de metanol y se extrajo la mayor cantidad del reconstituido. Se filtró el reconstituido a través de una jeringa de 3 ml y un filtro de 0,2 µm y se dispuso en viales de 2 ml para su posterior inyección al GC – MS.

6.4.1.2 Condiciones del equipo GC-MS para la medición de AA

Las muestras fueron analizadas por el método GC-MS – ionización química (CH_4) en modo SIM negativo. Los equipos utilizados son: cromatógrafo Agilent 7890A GC Sistema con detector masa Agilent 597C XL EI/CI MSD y con una columna Agilent DB-FFAP 122-3232 de 30 m x 0,25 mm ID, 25 μm .

Las condiciones del GC-MS para la cuantificación de acrilamida son:

- **CTC CombiPal**

Volumen de inyección 2 μl , pulsado sin división.

- **Condiciones Cromatográficas**

Inicio: 60 °C durante 1 min, 10 °C/min a 190 °C durante 0 min, luego 50 °C/min a 240 °C durante 0 min. Tiempo de funcionamiento: 15 min. Flujo de la columna de GC: 0,8 ml/min de helio (flujo constante). Temperatura de entrada del GC de 200 °C. Bajo estas condiciones el tiempo de retención de Acrilamida y Acrilamida-d3 aproximadamente es 13 min.

- **Parámetros MS**

Temperatura de fuente de MS: 150 °C, temperatura de cuadrupolo de MS: 150 °C e interfase de MS: 250 °C, relación masa carga (M/z) 70, 73. Permanencia de 50 ms.

Entrada gc > inyector.

6.4.2 Determinación de HMF

El contenido de HMF se cuantificó por HPLC-DAD según el método desarrollado por Toker y cols., (2013) con algunas modificaciones.

6.4.2.1 Extracción de HMF

Se realizó la extracción de HMF de las galletas saladas mediante el siguiente tratamiento: las galletas saladas fueron molidas en un procesador durante 3 min y posteriormente se pesó 1 g de muestra que se colocó en un tubo de centrifuga de 50 ml al cual se le añadieron 20 ml de agua destilada, 1,5 ml de Carrez I (15 g de $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ en 100 ml de agua) y 1,5 ml de Carrez II (30 g de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en 100 ml de agua) agitando por medio de un vortex en cada adición. Posteriormente se centrifugó la muestra por 15 min a 6000 rpm y el sobrenadante obtenido se pasó por filtros de nylon de 0,22 μm a viales de 2 ml para su posterior inyección al HPLC-DAD.

6.4.2.2 Condiciones del equipo HPLC-DAD para la medición de HMF

La determinación de HMF se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución acoplada a detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD). Las condiciones del cromatógrafo se detallan en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Condiciones del equipo HPLC-DAD para determinación de HMF.

Parámetro	Condición
Fase móvil	Ácido acético al 1% / acetonitrilo (proporción 95/5%)
Flujo fase móvil	1 ml/min
Longitud de onda del detector	284 nm
Volumen de inyección	20 µl
Columna	Acclaim™ 120 C18, 5 µm 120 Å 4,6x150 mm.

6.5 Análisis de imágenes por visión computacional

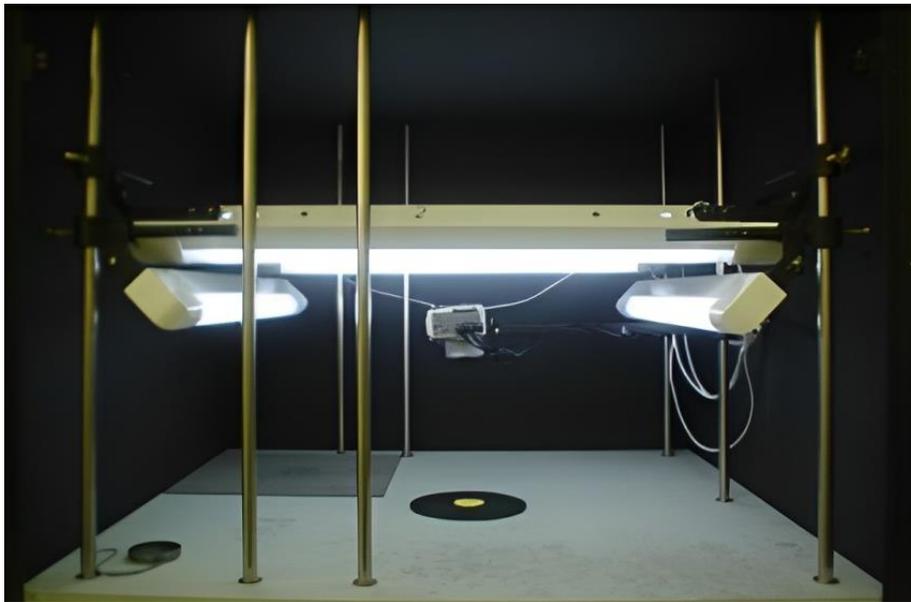
6.5.1 Sistema de adquisición de imágenes

Las imágenes de las muestras de galletas saladas utilizadas para la experimentación se adquirieron utilizando un sistema de adquisición de imágenes de laboratorio (DVS-Computer Vision System, Divisol, Santiago, Chile), implementado por Pedreschi et al. (2006b) con algunas modificaciones. Este sistema se conforma de cuatro lámparas fluorescentes (Halux, 18 W, de 60 cm de longitud) con una temperatura de color de 6500 °K y un índice de reproducción cromática (Ra) cercano al 95%. Estas lámparas se dispusieron como un cuadrado a 35 cm por encima de la muestra y en un ángulo de 45° con el plano de la muestra dando una intensidad de luz uniforme sobre la muestra. La cámara digital en color (CDC) D5600 (Nikon, Japón) se colocó verticalmente a una distancia de 22,5 cm de la muestra, con un ángulo de unos 45° entre el eje de la lente de la cámara y las fuentes de iluminación. Las lámparas y la CDC se colocaron dentro de una caja de madera cuyas paredes internas están pintadas de negro para evitar la luz y el reflejo de las paredes de la cámara. Las imágenes fueron capturadas con la CDC mencionada configurada de manera manual a su máxima resolución: 6016 × 4016 píxeles; velocidad ISO: ISO-100, punto F: f/5,6, tiempo de exposición: 1/60 s, modo flash: sin flash, obligatorio, distancia focal: 55 mm, y conectada a

un disparador remoto ITR-N3 (Godox, China) mediante el puerto N3 de la cámara. Las imágenes en formato NEF se almacenaron directamente en la memoria extraíble (marca PNY, 64 GB) de la cámara digital.

En total se tomaron $16 \times 3 \times 25 = 1200$ imágenes digitales (16 galletas saladas por tratamiento, 3 repeticiones, 25 tratamientos) por la cara superior de las galletas saladas, una a la vez en las condiciones antes mencionadas.

Figura 12. Sistema de adquisición de imágenes.



6.5.2 Análisis de imágenes adquiridas

Las imágenes de las muestras de galletas saladas capturadas fueron sometidas a técnicas de procesamiento de imágenes para su análisis, utilizando Matlab R2016 y Toolbox de procesamiento de imágenes (The Mathworks, Inc., Natick, MA, EE. UU.). En el procesamiento de imágenes se aplicaron algunos pasos previos para resaltar el objeto de interés en las imágenes, siguiendo los pasos que se detallan a continuación:

- a) **Conversión de imágenes:** Las imágenes originales en formato NEF fueron convertidas a formato PNG usando el software Lightroom de Adobe (versión 2022), y luego usando el Toolbox de procesamiento de imagen de Matlab (2016) fueron redimensionadas a un tamaño de 600 x 400 píxeles.
- b) **Segmentación:** Cada imagen fue segmentada usando el algoritmo implementado por Mery y Pedreschi, 2005, para Matlab R2016 usando la librería Balu (Mery, 2011).
- c) **Extracción de características:** En los canales R, G y B de cada imagen segmentada se extrajeron las características LBP (Ojala y cols., 2002) en su variante invariante a la rotación usando la librería Balu (Mery, 2011). De esta manera por cada imagen se obtiene un descriptor LBP de $36 \times 3 = 108$ elementos (3 canales de colores, y un descriptor LBP invariante a la rotación de 36 elementos).
- d) **Normalización de entrada:** Cada una de las 108 características es escala linealmente entre 0 y 1.
- e) **Promedio de características por tratamiento:** se procedió a promediar cada una de las 108 características extraídas en las 48 imágenes de cada tratamiento; obteniendo así 108 características para cada uno de los 25 tratamientos. Además del promedio, se calculó la desviación estándar para calcular la variación entre las características.
- f) **Filtrado:** Se usó la desviación estándar para filtrar las 108 características extraídas de los tratamientos, donde las características con una desviación estándar superior a 0,15 fueron eliminadas; de esta manera se mantienen aquellas características que son relativamente constantes en cada tratamiento, quedando solo 29 de estas características.
- g) **Normalización de salida:** La variable física a medir (AA e HMF) que cuenta con 25 mediciones fue escalada no linealmente usando la raíz cuadrada y luego linealmente entre 0 y 1.

h) Selección de características: Usando el método de Sequential Forward Selection (Jain y cols., 2000) implementado en la librería Balu (Mery, 2011), se seleccionan las $m=5$ características que maximizan la correlación entre la salida con una combinación lineal de las características seleccionadas (cada característica se multiplica por un escalar y se suma para comparar con el valor de la medición).

El proceso descrito anteriormente se realizó 25 veces, una vez para cada tratamiento. Finalmente, se evaluó el desempeño de método propuesto mediante validación cruzada *leave-one-out*, estimando la medición de un tratamiento usando los 24 tratamientos restantes. En este método se deja un tratamiento fuera (para dejarlo como prueba) y se seleccionan las cinco características usando los datos de los 24 tratamientos restantes.

6.6 Análisis sensorial

Se realizó el análisis sensorial de tres muestras de galletas saladas. Para ello se seleccionaron tratamientos que presentaron bajo, intermedio y alto contenido de AA, sin superar el límite máximo de 400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ para AA establecido por la European Commission en el 2017. No se consideró el contenido de HMF debido a que hasta el momento los organismos reguladores no han establecido un límite máximo en su contenido en este tipo de productos horneados. Se realizó un test con consumidores para obtener información sobre los atributos y la percepción de los consumidores sobre las galletas saladas elaboradas con los diferentes parámetros de horneado (tiempo y temperatura).

6.6.1 Selección y preparación de las muestras

Las tres muestras se identificaron y almacenaron herméticamente a temperatura ambiente por 24 horas para ser evaluadas.

Las muestras de galletas saladas se proporcionaron de forma monádica a cada uno de los consumidores que participaron. Además, utilizaron agua purificada (Agua Vida) como medio de neutralización entre muestras.

6.6.2 Ejecución de la prueba

La evaluación sensorial se realizó en un espacio del laboratorio de Procesos Alimentarios de la universidad de Chile en la Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas.

Previo a esta evaluación, a cada consumidor se le entregó un código QR (**Anexo 10.14.2**) para acceder al cuestionario de la evaluación a través de Google Forms y posteriormente se les presentó las muestras de manera monádica y aleatoria, en platos de vidrio identificados

con códigos numéricos de 3 dígitos; adicionalmente, se proporcionó agua purificada y se indicó a cada consumidor que tome unos sorbos de agua antes de probar cada muestra. Las evaluaciones sensoriales fueron realizadas por estudiantes y personal de la Universidad de Chile, los cuales recibieron un obsequio (barra energética) por su participación.

6.6.3 Cuestionario para prueba con consumidores

El cuestionario consistió en las siguientes partes:

- Filtro: Primero se les preguntó a los consumidores si consume habitualmente alguna de las siguientes galletas saladas (cracker, grill (clásica), selz (sabor clásico), crackelet); y posteriormente, una frecuencia de consumo de galletas saladas de una vez al mes.
- Preguntas de agrado: En una escala hedónica de 7 puntos (7= me gusta mucho hasta 1= me disgusta mucho) se les preguntó sobre la aroma, sabor, textura y agrado en general de las muestras.
- Preguntas de justo agrado (JAR): Se les preguntó en una escala de 5 puntos (-2 = Mucho menos intenso hasta +2 = Mucho más intenso de lo que me gusta) sobre el color, intensidad de sabor y dureza de las muestras.
- Pregunta de intención de compra: se realizó esta pregunta en una escala de Likert de cinco puntos, donde “1” es definitivamente no la compraría y “5” es definitivamente si la compraría.
- Test CATA (Check All That Apply): Se presentaron los descriptores (palabras o frases) según lo desarrollado por Vidal y cols., (2014) para galletas saladas, con algunas modificaciones. Los atributos seleccionados fueron: color tostado, color claro, delgada, gruesa, sensación grasa, seca, crujiente, suave, dura, quebradiza, salada, sabor a tostado, sabor amargo, insípida, sabor residual, la consumiría con frecuencia, no la consumiría, se la recomendaría a mi familia o amigos, siendo 1 si el atributo es seleccionado por el consumidor y 0 si no es seleccionado.
- Preferencia, se les pidió que ordenaran las muestras de galletas saladas según preferencia (de la que más le gustó al que menos le gustó).
- Pregunta abierta: Debían indicar porque razón seleccionó esa muestra en primer lugar de preferencia, se les pidió detallar su respuesta.

En el **Anexo 10.14.1** se encuentra el cuestionario completo.

6.6.4 Análisis estadístico

Los datos recopilados se analizaron de la siguiente manera: los datos de la escala hedónica se analizaron por medio de ANOVA multifactorial y prueba de rango múltiple Tukey a un nivel de confianza al 95% utilizando el programa computacional Minitab Statistical Versión 2019.11.14 de la empresa Minitab Inc. Los resultados de justo agrado fueron analizados por medio de comparación de frecuencias por distribución normal; y la preferencia se analizó mediante el test no paramétrico de Friedman. Por otro lado, los datos obtenidos en el test CATA, se analizaron mediante el análisis de correspondencia para datos no paramétricos (CA) por medio de la prueba Cochran's Q utilizando el programa XLSTAT Versión 2014.5.03 de la empresa Addinsoft. Finalmente, las respuestas de los consumidores a la pregunta abierta pasaron por un proceso de codificación para luego ser analizados por medio de comparación de frecuencias por distribución normal.

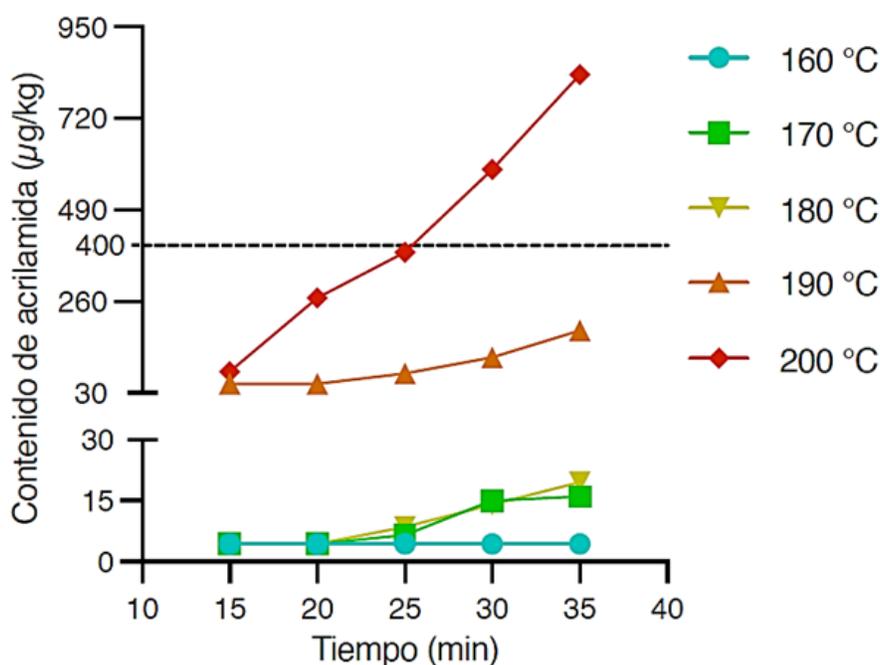
7 Resultados y discusiones

7.1 Caracterización química de las galletas saladas

7.1.1 Contenido de acrilamida

Se evaluó el efecto de la temperatura y tiempo de horneado sobre el contenido de AA (**Anexo 10.3**), encontrándose diferencias significativas ($p < 0,05$) para ambos factores (**Figura 13**) (**Anexo 10.2**), siendo la temperatura de horneado el factor con mayor significancia sobre la formación de AA (**Anexo 10.3**).

Figura 13. Efecto de la temperatura y tiempo de horneado sobre el contenido de AA de galletas saladas.



La **Figura 13** muestra el contenido de AA obtenidas a partir de las condiciones experimentales planteadas observándose que, al aumentar la temperatura y el tiempo de horneado, el contenido de AA también aumenta; lo cual concuerda con las observaciones realizadas por Van Der Fels-Klerx y cols., (2014). Asimismo, Hamzalıoğlu y cols., (2019) indicaron que los alimentos ricos en carbohidratos y asparagina, procesados a alta temperatura y que contienen poca humedad tienen el mayor potencial para formar AA.

Por otro lado, se muestra que no hay diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las temperaturas de 160°, 170° y 180 °C; pero estas presentan diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto a las temperaturas de 190° y 200 °C (**Anexo 10.3**). Además, en las galletas saladas horneadas a 160 °C, 170 °C, 180 °C, 190 °C y 200 °C por 15 min se formaron bajas concentraciones de

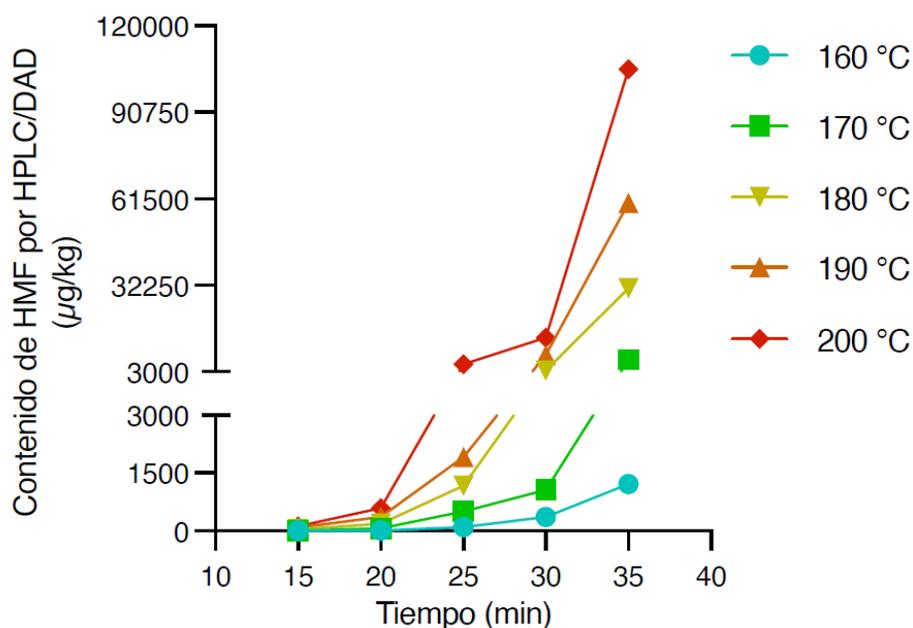
AA entre 4,35 a 83 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (**Figura 13**). De manera similar, Van Der Fels-Klerx y cols., (2014) estudiaron la formación de AA en galletas saladas con tratamientos térmicos de 180°, 190° y 200 °C por 15 min, encontrando también la formación de bajas concentraciones de AA (76, 142 y 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ respectivamente). Según Gökmen y cols., (2007) el periodo inicial de horneado se caracteriza por la rápida evaporación de la humedad; lo que evita un aumento excesivo de la temperatura en los productos horneados, limitando probablemente la hidrólisis de sacarosa en glucosa y fructosa y, por lo tanto, la formación de AA dentro de este período. La **Figura 13** muestra que las galletas saladas horneadas a 200 °C por 30 y 35 min alcanzaron las concentraciones más altas de AA (591,50 y 829 $\mu\text{g}/\text{kg}$ respectivamente, mayores al valor de referencia de 400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (European Commission, 2017) coincidentemente con reportado por Hamzalıoğlu y cols., (2019) ya que la formación de AA depende en gran medida de los tratamientos térmicos excesivos a altas temperaturas aplicados. Por esta razón la European Commission, (2017) mediante el reglamento de la comisión (EU) 2017/2158 publicó niveles de referencia de AA para diferentes productos alimentarios, entre ellos las galletas saladas, que pueden contener hasta 400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de AA; siendo en nuestro experimento superado por las galletas saladas horneadas a 200 °C por 30 y 35 min. Considerando lo indicado anteriormente, estas galletas saladas podrían presentar un mayor peligro a la inocuidad al ser consumidas; sin embargo, todos estos contenidos de AA de las galletas saladas deben considerarse en conjunto con las cantidades consumidas para evaluar el riesgo total y la exposición dietaria de la población a la AA (Hamzalıoğlu y cols., 2019). Por esta razón, la European Commission, (2017) ha indicado que las empresas alimentarias deberán aplicar tratamientos térmicos eficaces para minimizar la formación de AA sin comprometer el sabor, la textura, el color, la inocuidad y la vida útil del producto.

Finalmente, en la formulación de las galletas saladas se utilizó NaCl (sal de cocina), el mismo que tiene un efecto reductivo en la formación de AA en productos horneados el cual, depende principalmente de la temperatura de horneado (Van Der Fels-Klerx y cols., 2014, Gökmen & Şenyuva, 2007, Kolek, y cols., 2006, Claus y cols., 2008, Levine & Smith, 2005). Este fenómeno se puede atribuir a la inhibición de la formación de la base de Schiff entre la asparagina y los azúcares reductores por cationes monovalentes (Gökmen & Şenyuva, 2007).

7.1.2 Contenido de HMF

Se evaluó el efecto de la temperatura y tiempo de horneado sobre la formación de HMF (**Anexo 10.5**), encontrándose diferencias significativas ($p < 0,05$) para ambos factores (**Figura 14**) (**Anexo 10.4**), siendo la temperatura de horneado el factor con mayor significancia sobre la formación de HMF (**Anexo 10.5**).

Figura 14. Efecto de la temperatura y tiempo de horneado sobre el contenido de HMF en galletas saladas.



La **Figura 14** muestra las concentraciones de HMF obtenidas a partir de las condiciones experimentales planteadas observándose que el contenido de HMF generado durante el horneado fue muy sensible a la temperatura, con concentraciones más altas de HMF a mayor temperatura, y aunque el HMF es aceptable en algunos alimentos debido a su relación con las propiedades sensoriales del producto (color, sabor y olor) y como marcador de calidad del procesamiento térmico y/o condiciones de almacenamiento inadecuadas (Albouchi & Murkovic, 2019, Zhang & Li, 2019), las reacciones de Maillard y de caramelización durante el horneado de productos de panadería pueden aumentar significativamente su concentración a niveles excesivamente altos (Martins y cols., 2022).

Por otro lado, se muestra que no hay diferencias significativas ($p < 0,05$) respecto a la formación de HMF entre las temperaturas de 160°, 170°, 180° y 190 °C con un tiempo de horneado de 20 min; pero estas presentan diferencias significativas ($p < 0,05$) con la temperatura de 200 °C (**Anexo 10.5**). Además, en las galletas saladas horneadas a 160°, 170°,

180°, 190° y 200 °C por 15 min se formaron bajas concentraciones de HMF (**Figura 14**). En este sentido, Van Der Fels-Klerx y cols., (2014) reportaron mayores concentraciones de HMF en galletas saladas que en galletas dulces; las mismas que fueron elaboradas bajo las mismas condiciones de horneado 180°, 190° y 200 °C por 15 min. De manera similar, Gökmen & Şenyuva, (2007) y Fiore y cols., (2012) indicaron que la presencia de NaCl promueve la formación de HMF en sistemas modelo y galletas. Finalmente, la muestra horneada a 200 °C por 35 min alcanzó el nivel más alto de HMF, siendo varias veces mayor en comparación a las concentraciones obtenidas en las demás muestras (**Figura 14**). Gökmen y cols., (2007) reportaron de que el HMF se forma a partir de tratamientos térmicos excesivos a través de la deshidratación de monosacáridos. Por otro lado, Ameer y cols., (2006) han informado que la formación de HMF en las galletas comienza con una actividad de agua promedio de 0,40, independientemente de la temperatura; siendo la actividad del agua un parámetro fundamental en la producción de HMF (Kroh, 1994).

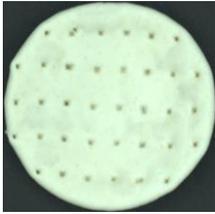
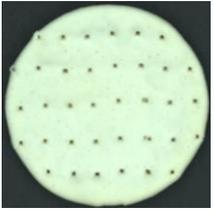
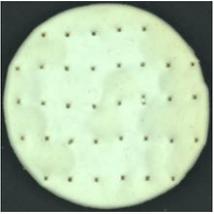
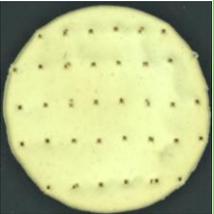
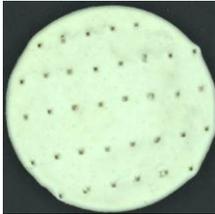
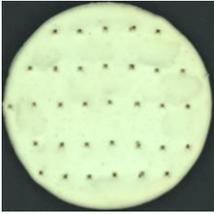
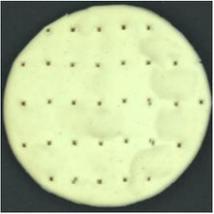
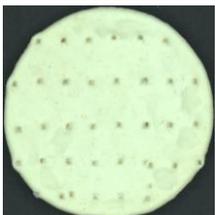
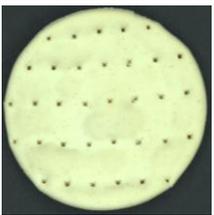
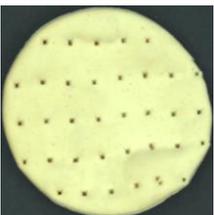
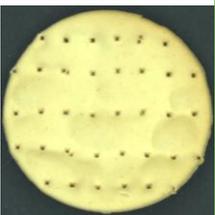
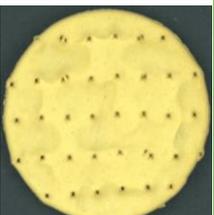
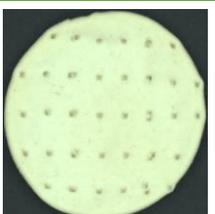
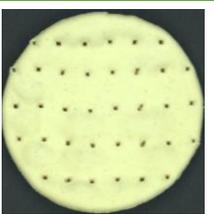
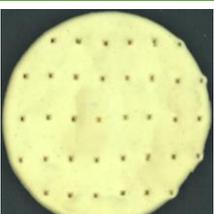
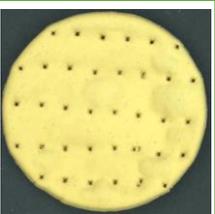
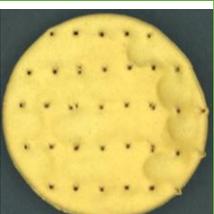
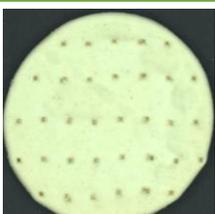
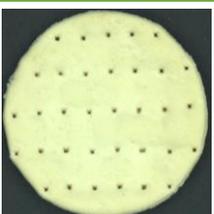
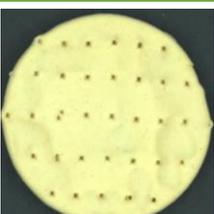
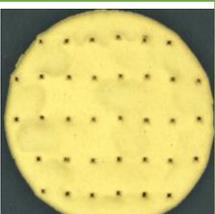
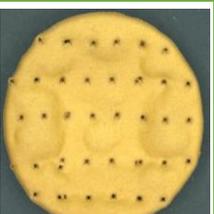
Por otro lado, y a pesar de su relevancia, las regulaciones del Codex Alimentarius, la Unión Europea (UE) y los Estados Unidos establecieron el límite de HMF solo para la miel de abeja (Martins y cols., 2022), y no para otros alimentos (Lee y cols., 2019), pero su acumulación en productos horneados es considerada indeseable por ser un compuesto potencialmente riesgoso en alimentos (Gökmen y cols., 2007).

7.2 Visión computacional

7.2.1 Adquisición de imágenes

En la **Tabla 4** se presentan las imágenes digitales de las galletas saladas elaboradas (1200 en total), observándose el efecto de la temperatura y tiempo de horneado sobre el color de las galletas saladas; donde al aumentar la temperatura y el tiempo, aumentó la intensidad del color.

Tabla 4. Imágenes digitales de galletas saladas por cada tratamiento.

Imágenes		Temperatura (°C)				
		160	170	180	190	200
Tiempo (min)	15					
	20					
	25					
	30					
	35					

7.2.2 Estimación de neocontaminates por visión computacional

Las imágenes digitales de las muestras de galletas saladas obtenidas fueron evaluadas cumpliendo con los criterios mencionados en la **Sección 6.5.2**, con lo cual se obtuvieron los valores directos de estimación de AA y HMF por visión computacional (**Anexo 10.6 y 10.7**). Posteriormente, se evaluó el mejor modelo de estimación para cada neocontaminante que minimice el error estándar entre lo medido y lo modelado; por lo cual se utilizaron tres formas de modelación: directa, normalizada e inversa; siendo la modelación inversa la que obtuvo el mínimo error estándar (**Anexo 10.6 y 10.7**). El error estándar de esta modelación es 3,10% y 3.28%, para la AA y HMF respectivamente; donde el 100% fueron las concentraciones máximas obtenidas, es decir 829 y 105420 µg/kg, para AA y HMF respectivamente. En la modelación inversa se utilizó la modelación normalizada (el resultado de la medición modelado entre 0 y 1), al mismo que se le realizó la operación inversa (Ec. 1) (se eleva al cuadrado y se escala linealmente):

$$z = y^2(x_{m\acute{a}x.} - x_{m\acute{i}n.}) + x_{m\acute{i}n.} \quad (1)$$

Donde:

z: Estimación de la concentración de AA o HMF a partir de la modelación inversa.

y: Estimación de la concentración de AA o HMF a partir de la modelación normalizada (entre 0 y 1).

x_{máx.}: Concentración máxima de AA o HMF obtenido por los métodos tradicionales (GC-MS o HPLC-DAD).

x_{mín.}: Concentración mínima de AA o HMF obtenido por los métodos tradicionales (GC-MS o HPLC-DAD).

También se evaluaron los métodos de análisis (GC-MS o HPLC-DAD) y de estimación (visión computacional) de los neocontaminantes, encontrándose que no hay diferencias significativas ($p < 0,05$) para estos factores (**Anexo 10.8 y Anexo 10.10**), además los resultados de las estimaciones por visión computacional se compararon con los valores obtenidos con los métodos tradicionales (GC/MS o HPLC/DAD) mediante pruebas de Tukey, con un intervalo de confianza del 95%, donde tampoco se encontraron diferencias significativas (**Anexo 10.9 y Anexo 10.11**). Finalmente, la **Figura 15** y **Figura 16** muestran la estimación por visión computacional del contenido de AA y HMF en galletas saladas obtenidas en las condiciones de horneado establecidas.

Figura 15. Estimación de contenido de AA por visión computacional.

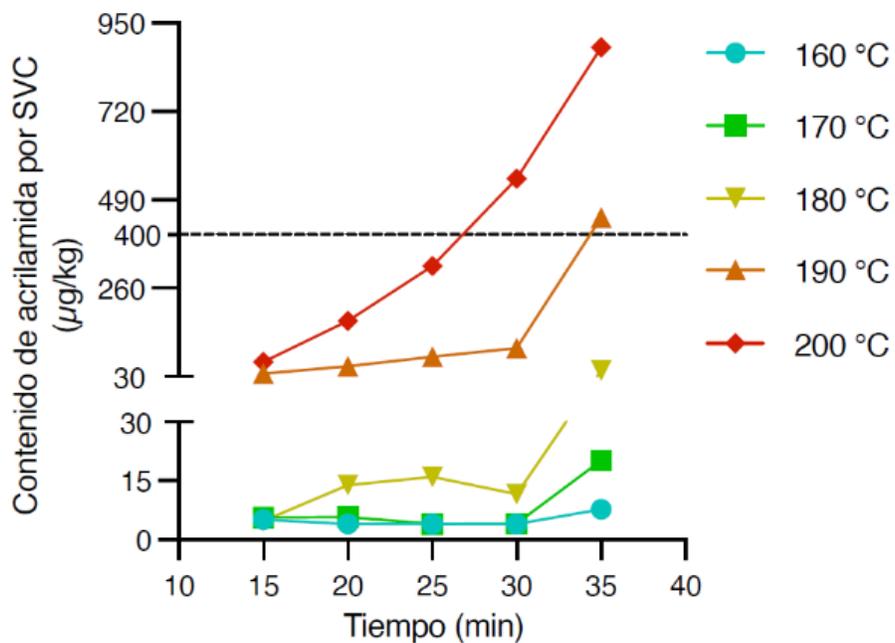
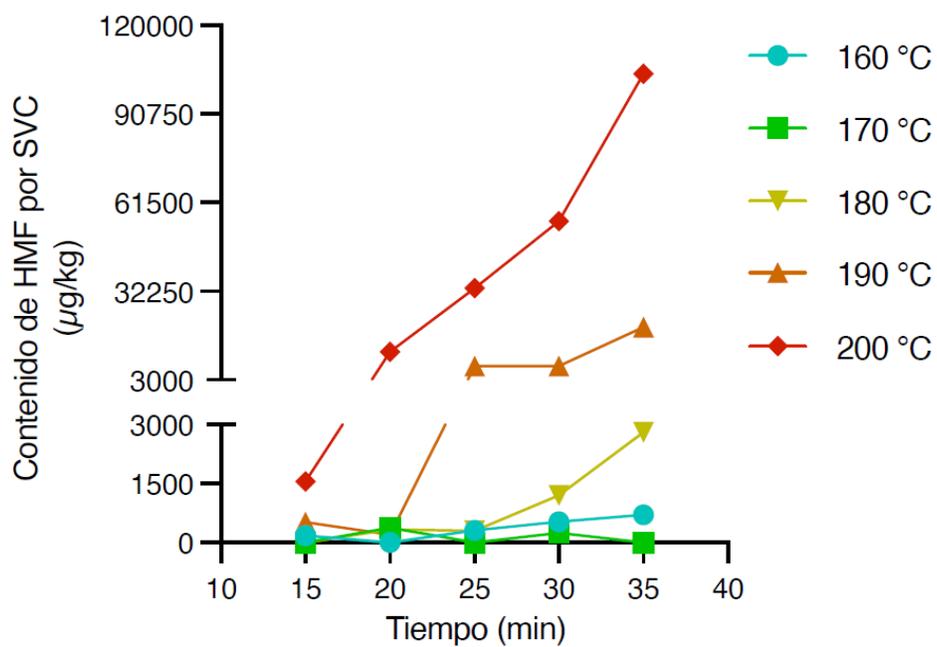


Figura 16. Estimación de contenido de HMF por visión computacional.



7.2.3 Correlación entre métodos tradicionales y visión computacional

Se determinaron y estimaron las concentraciones de los neocontaminantes (AA o HMF) por los métodos de medición químicos usado tradicionalmente (GC-MS o HPLC-DAD) y por visión computacional de las galletas saladas elaboradas con las condiciones de horneado planteadas. Así, fue posible obtener cuatro conjuntos de datos para evaluar su correlación utilizando el software Minitab 19. En esta correlación, se eliminaron del conjunto de pruebas dos valores atípicos (combinación 20 y 25 para de AA y HMF respectivamente (**Anexo 10.1**)) con valores residuales estándar altos.

Los valores del coeficiente de correlación de Pearson (r) entre la concentración de neocontaminantes obtenidas por los métodos tradicionales (GC/MS o HPLC/DAD) y por visión computacional son +0,990 y +0,986 para AA y HMF (**Anexo 10.12.1** y **Anexo 10.12.2**), respectivamente. El signo positivo del coeficiente indica que, a medida que aumenta la concentración de neocontaminantes obtenida por los métodos tradicionales, aumenta también la obtenida por visión computacional (**Figura 17** y **Figura 18**). Estos coeficientes revelan que la intensidad de la asociación entre estos métodos es bastante alta, ya que son el 99,0 y 98,6% de la máxima posible (siendo el mínimo posible 0 y el máximo 1). Por tanto, existe una fuerte relación lineal positiva entre estos métodos. Por otro lado, tenemos un nivel de confianza del 95% en que el verdadero coeficiente de correlación lineal de Pearson entre el método GC/MS y la visión computacional, para la AA, varía entre 0,978 y 0,996 (**Anexo 10.12.1**); y entre el método HPLC/DAD y la visión computacional, para la HMF, varía entre 0,968 y 0,994 (**Anexo 10.12.2**). Finalmente, como estos intervalos de confianza no contienen el valor cero, se concluyó que la asociación encontrada es estadísticamente significativa (con un nivel de significación de 0,05) (**Anexo 10.12.1** y **10.12.2**). En consecuencia, se dilucidó que existe una probabilidad muy pequeña de que la asociación encontrada entre los métodos tradicionales (GC/MS y HPLC/DAD) y la visión computacional se deba únicamente al azar.

Figura 17. Correlación de Pearson entre GC-MS vs. SVC.

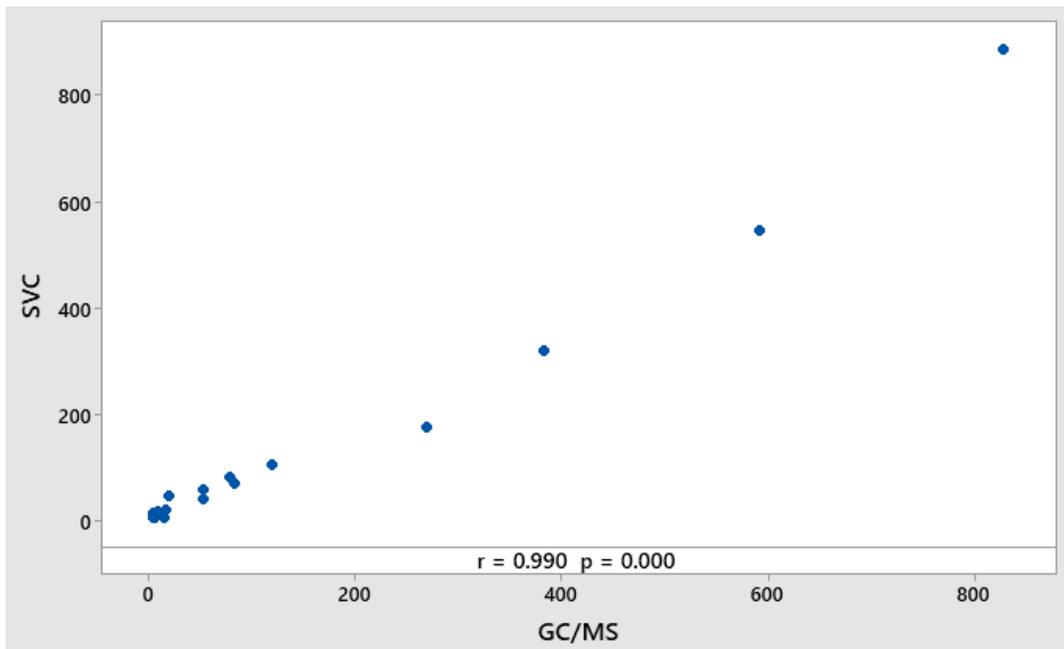
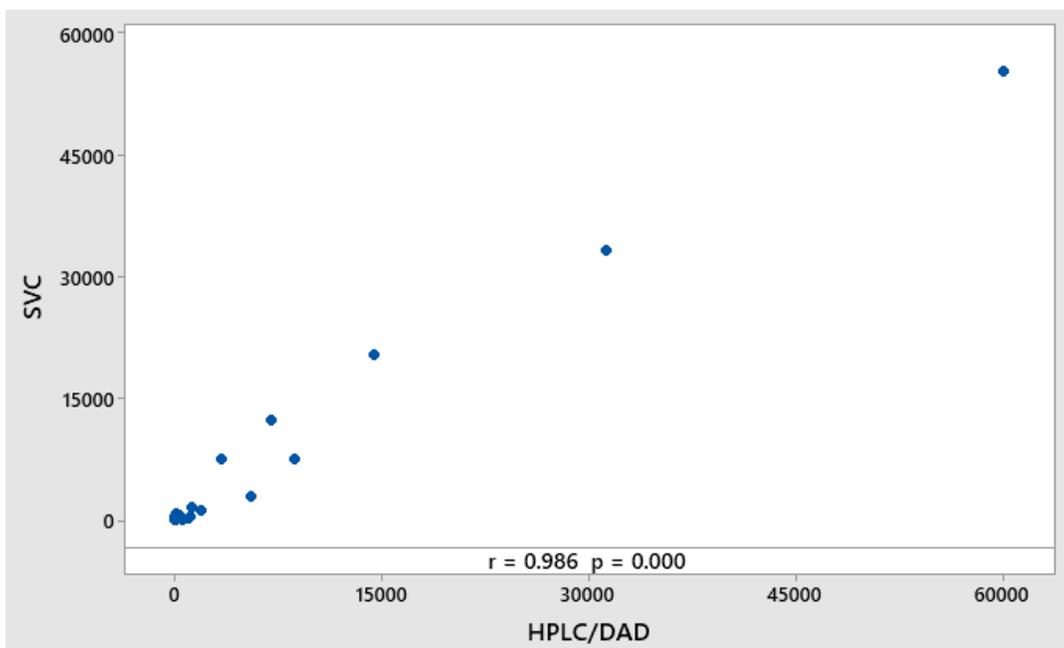


Figura 18. Correlación de Pearson entre HPLC-DAD vs. SVC.



7.2.4 Evaluación del desempeño del modelo de visión computacional aplicado

Los modelos de visión computacional desarrollados se validaron para confirmar su confiabilidad y aplicabilidad para el propósito previsto utilizando el enfoque de validación interna (validación cruzada de dejar uno fuera) (Peres, y cols., 2017). Por lo cual, se aplicó un procedimiento de validación cruzada con exclusión de uno, calculado utilizando Minitab 19, para definir el coeficiente de determinación de predicción del modelo (Por, y cols., 2018).

Para cada validación interna, se utilizaron 24 determinaciones del neocontaminante (AA o HMF) por los métodos tradicionales (GC/MS o HPLC/DAD) y 24 estimaciones del neocontaminantes (AA o HMF) por visión computacional como conjuntos de prueba, donde cada determinación y estimación se eliminan una por una del conjunto de datos y se construye un modelo con las determinaciones y estimaciones restantes. Este procedimiento se repite hasta que se prueben todas las determinaciones y estimaciones (Peres, y cols., 2017). La validación cruzada permite definir un modelo con la complejidad adecuada, evitando así un modelo muy simple (underfitting) o un modelo súper ajustado a los datos de calibración (overfitting) (Varmuza, y cols., 2013). En la validación interna de los modelos de visión computacional (para AA o HMF), se eliminaron del conjunto de pruebas dos valores atípicos (combinación 20 para el modelo de estimación de AA y combinación 25 para el modelo de estimación de HMF (**Anexo 10.1**)) con valores residuales estándar altos.

El coeficiente de validación cruzada al cuadrado deja uno fuera (R^2) para la validación interna se calculó utilizando el software Minitab19, implicó eliminar conjunto de pruebas uno por uno del conjunto de datos, y desarrollar el modelo nuevamente y calcular Q^2 ($R^2_{\text{pred.}}$ con validación cruzada). Para un buen modelo de predicción, Q^2 debe ser $> 0,5$ y R^2-Q^2 no debe exceder $0,3$ (Veeratomy, y cols., 2011, Tropsha, A., 2010). Sin embargo, para un modelo excelente se requiere un valor de Q^2 superior o igual a $0,9$ (Singh, y cols., 2008). Tomando en consideración lo indicado anteriormente, los modelos de visión computacional para estimar el contenido de AA y HMF son excelentes, ya que los valores Q^2 son $0,955$ y $0,936$ (**Anexos 10.13.1** y **10.13.2**), respectivamente. Cabe señalar que solo se encontraron % de error del $1,91$ % y $3,22$ % para los modelos de estimación por visión computacional de AA y HMF respectivamente (**Anexos 10.13.3** y **10.13.4**). Además, ambos modelos son estadísticamente significativos ($p < 0,05$) (**Anexos 10.13.1** y **10.13.2**).

En las **Figura 19** y **Figura 20** se utilizó validación cruzada, por lo que estas figuras muestran los valores ajustados y los valores ajustados con validación cruzada (**Anexos 10.13.3** y **10.13.4**). Estas figuras no revelan grandes diferencias entre las respuestas ajustadas y las respuestas ajustadas con validación cruzada.

Figura 19. Validación cruzada dejando uno fuera para el modelo de visión computacional para estimar AA.

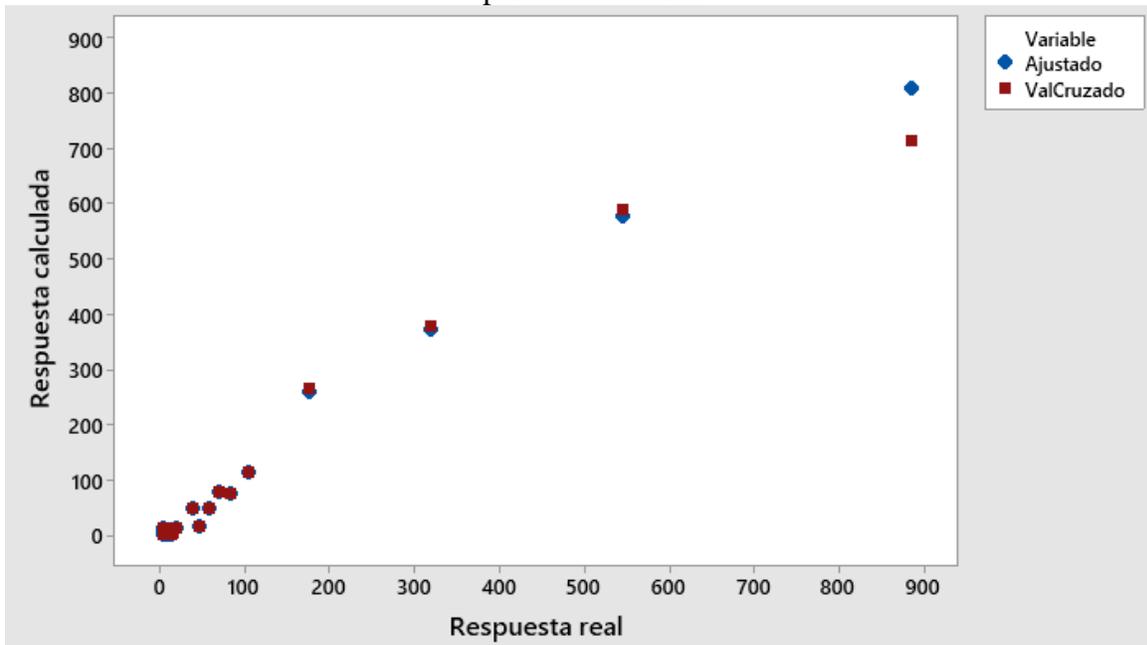
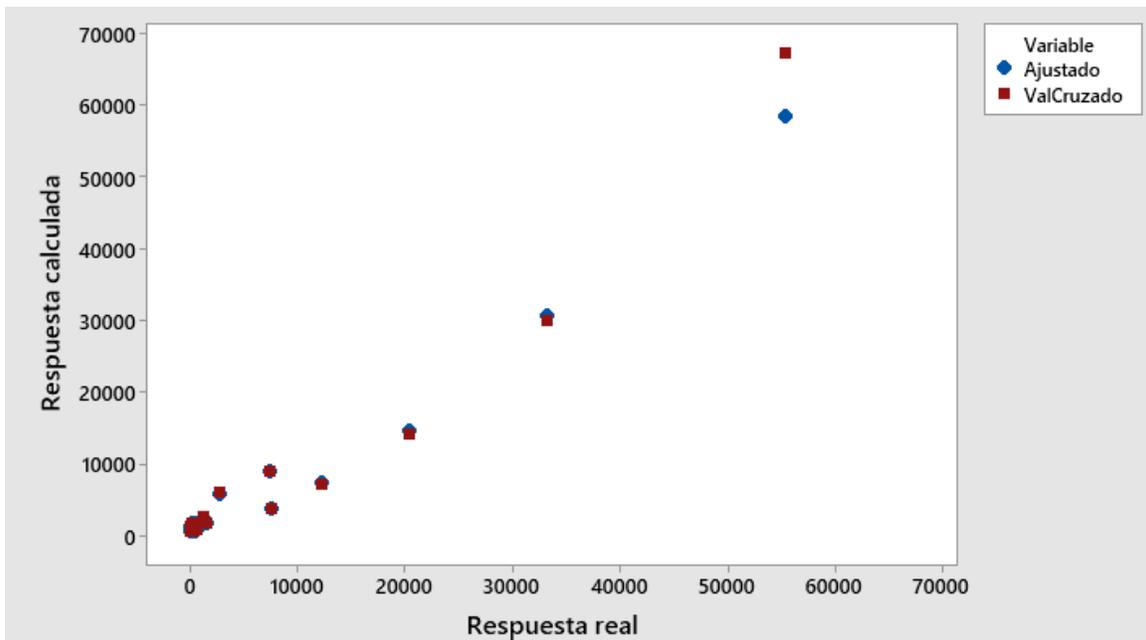


Figura 20. Validación cruzada dejando fuera uno para el modelo de visión computacional para estimar HMF.



7.3 Análisis sensorial

Las muestras de galletas saladas fueron seleccionadas de acuerdo a: (i) una evaluación visual del color, (ii) un contenido de AA menor a 400 µg/kg de AA, cumpliendo con los criterios mencionados en la **Sección 7.3**. Fueron seleccionadas las galletas saladas horneadas a 180°, 190° y 200 °C, y se limitó un tiempo único de horneado de 25 min para evitar el oscurecimiento excesivo de la superficie de las galletas saladas por lo que de ahora en adelante se omite el tiempo en los resultados que se presentan y solo se considera 25 min.

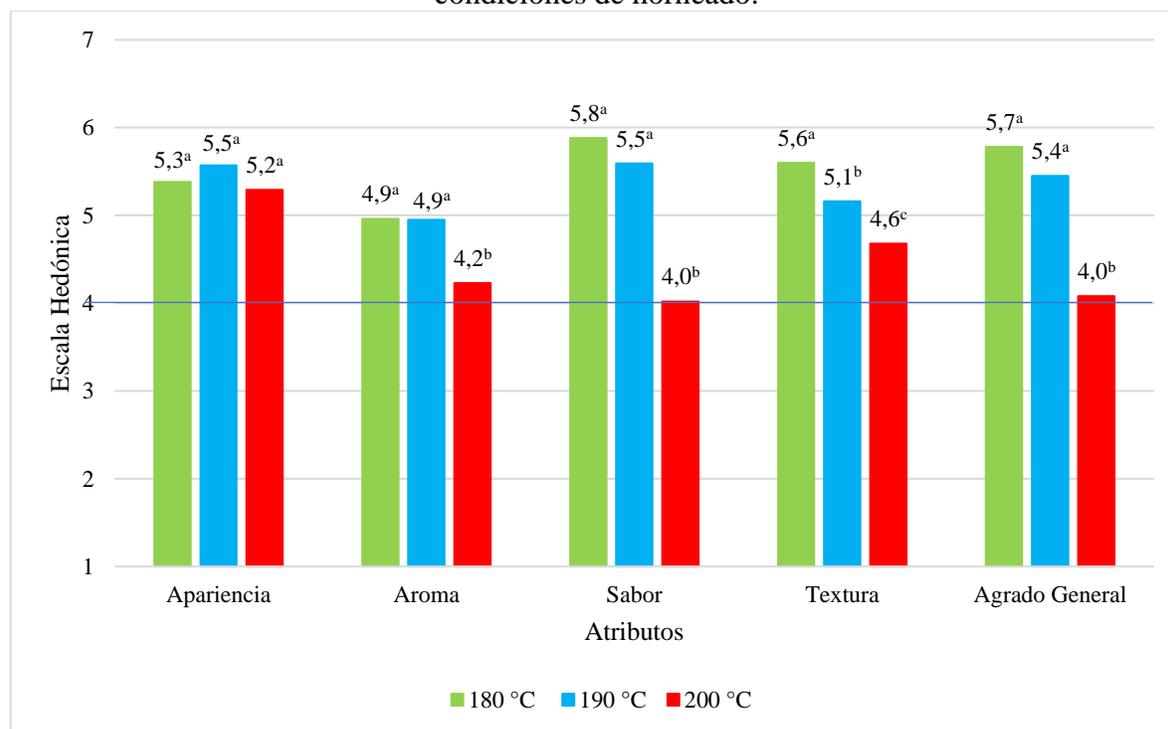
7.3.1 Test con consumidores

En el estudio participaron un total de 113 consumidores (**Anexo 10.15**), de los cuales: los resultados de 12 consumidores fueron descartados por su baja frecuencia de consumo (menos de una vez al mes), por lo que se consideraron las respuestas de 101 consumidores que indicaron consumir galletas saladas al menos 1 vez al mes. De ellos, 52 % fueron mujeres, 46 % hombres y 2 % “sin declaración de género”. Finalmente, 43 % de estos consumidores estaban en un rango de edad de 18-20 años, 44 % de 21-25 años, 10 % de 26-30 años, 2 % de 31-40 años y 1 % de 41 a más.

7.3.1.1 Agrado

La **Figura 21** muestra los valores promedio de aceptabilidad de las muestras de galletas saladas.

Figura 21. Promedios de aceptabilidad de galletas saladas elaboradas en diferentes condiciones de horneado.



Los superíndices en minúsculas muestran diferencia significativa ($p \leq 0,05$) entre muestras.

Las tres muestras de galletas saladas fueron horneadas por 25 min.

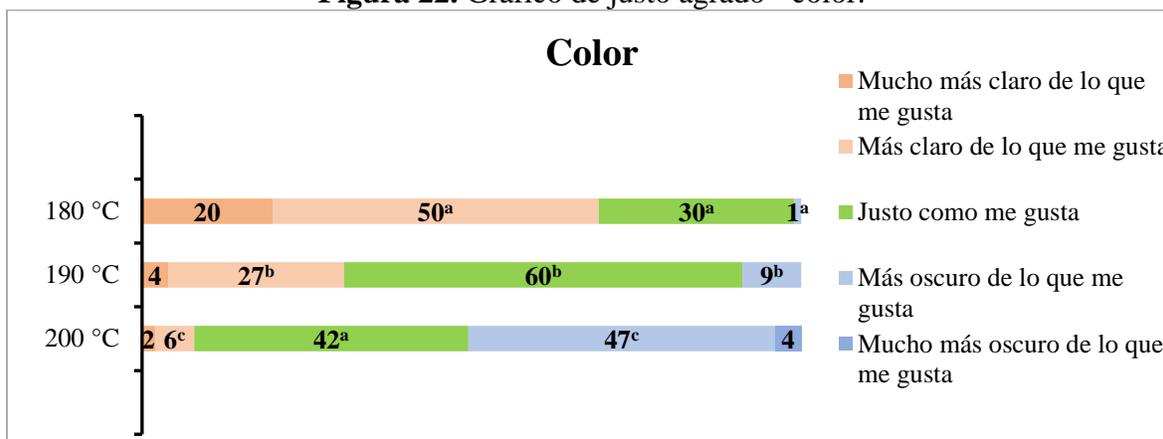
Escala: desde 7=me gusta mucho a 1=me disgusta mucho.

El análisis de la aceptabilidad de las galletas saladas indicó diferencias significativas ($p \leq 0,05$) para los atributos de aroma, sabor, textura y agrado general entre la temperatura de horneado (**Anexo 10.16**). Sin embargo, no hubo diferencias significativas en la apariencia de las muestras, para el nivel de confianza de 95 %, con puntuaciones que exceden la escala de "me gusta poco". En general las muestras horneadas a 180° y 190 °C obtuvieron mejor aceptabilidad por parte de los consumidores. Además, en el atributo de textura las muestras presentaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$), probablemente debido a la eliminación de humedad generada por el horneado a diferentes temperaturas; siendo la textura un parámetro de importancia, especialmente en los productos horneados (Roudaut, y cols., 2002).

7.3.1.2 Justo agrado (JAR)

Esta sección es un análisis complementario por comparación de frecuencias por distribución normal. Se muestran los resultados de los 4 atributos (color, intensidad de sabor, dureza e intención de compra) analizados en escala de justo agrado.

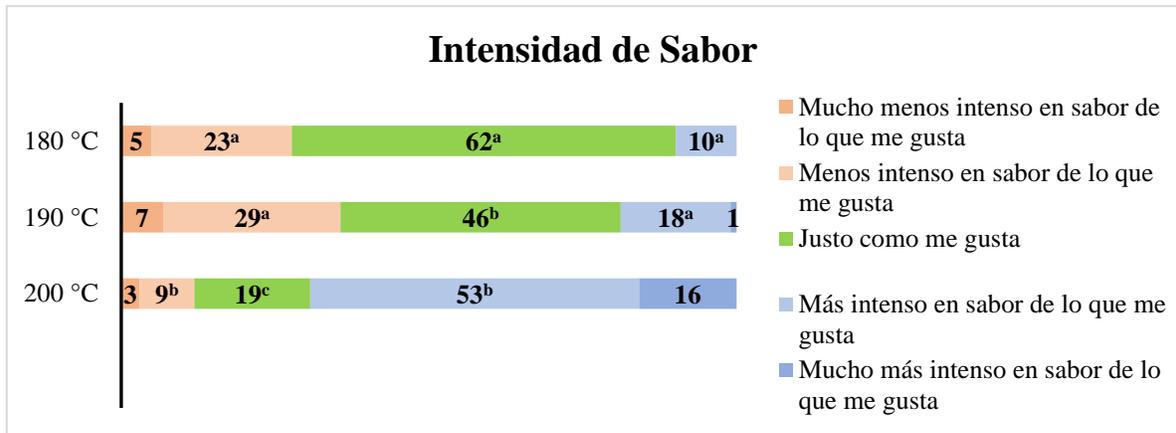
Figura 22. Gráfico de justo agrado - color.



Los superíndices en minúscula muestran diferencia significativa entre muestras.
Las tres muestras de galletas saladas fueron horneadas por 25 min.

En la **Figura 22** se observan diferencias significativas en el color entre las muestras; donde el 60 % de los consumidores indicó que la muestra horneada a 190 °C presentó el mejor balance de color, ya que “justo como me gusta”, el 70 % de los consumidores indicó que la muestra horneada a 180 °C es “más clara de lo que les gusta”, y finalmente, el 51 % de los consumidores indicó que la muestra horneada a 200 °C es “más oscura de lo que les gusta”.

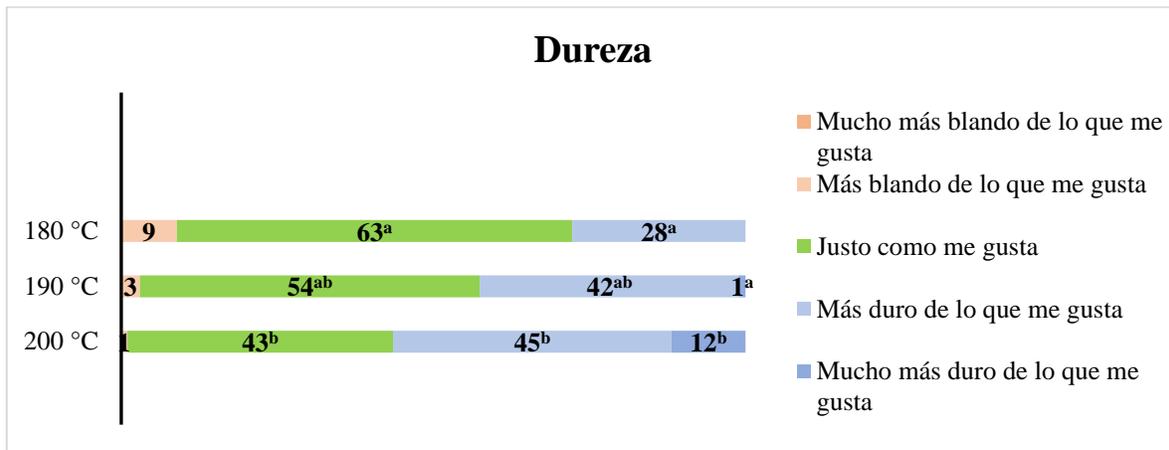
Figura 23. Gráfico de justo agrado – intensidad de sabor.



Los superíndices en minúscula muestran diferencia significativa entre muestras. Las tres muestras de galletas saladas fueron horneadas por 25 min.

En la **Figura 23** se observan diferencias significativas en la intensidad de sabor entre las muestras; donde la muestra horneada a 180 °C presenta mayor justo agrado, ya que el 62 % de los consumidores indicó que esta muestra es “justo como que me gusta”, seguida de la muestra horneada a 190 °C con el 46 % de los consumidores. Por otro lado, el 69 % de los consumidores indicó que la muestra horneada a 200 °C es “Mucho más intenso en sabor de lo que me gusta”. Lo mencionado anteriormente tiene relación con lo indicado en la **Figura 21**, donde los consumidores también indicaron diferencias significativas en aceptabilidad de sabor entre las muestras.

Figura 24. Gráfico de justo agrado - dureza.

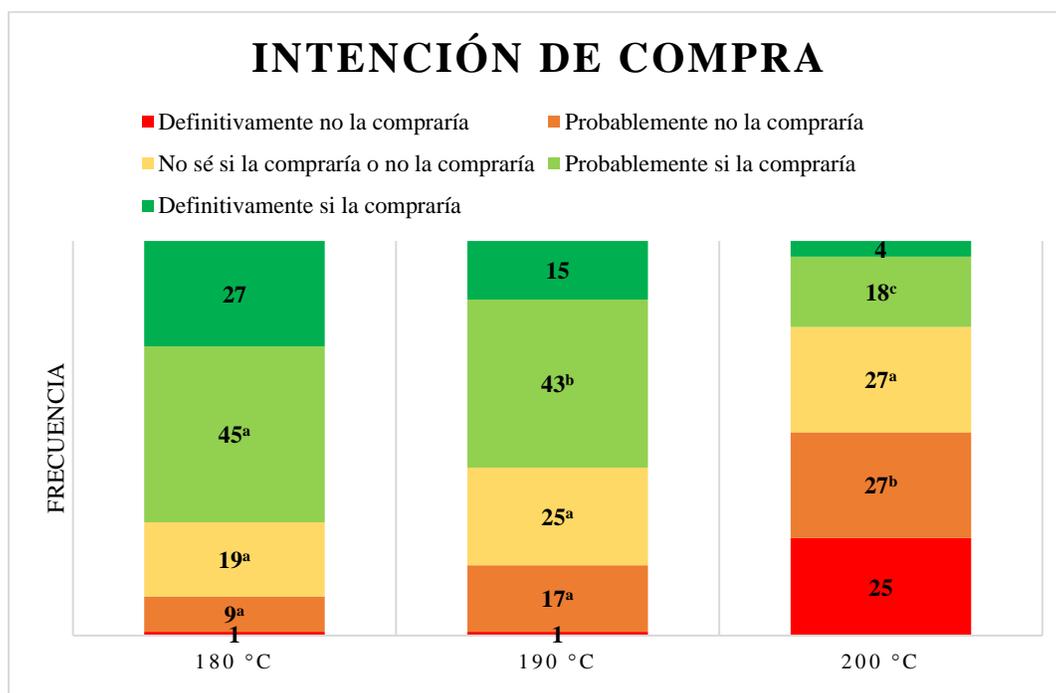


Los superíndices en minúscula muestran diferencia significativa entre muestras.
Las tres muestras de galletas saladas fueron horneadas por 25 min.

En la **Figura 24** se observan diferencias significativas en la dureza entre las muestras; donde la muestra horneada a 180 °C presenta mayor justo agrado, ya que el 63 % de los consumidores indicó que esta muestra es “justo como que me gusta”, seguida de la muestra horneada a 190 °C con el 54 % de los consumidores. Por otro lado, el 57 % de los consumidores indicó que la muestra horneada a 200 °C es “Mucho más dura de lo que me gusta”. Estos resultados tienen relación con lo indicado en la **Figura 21**, donde los consumidores indicaron diferencia significativa en la aceptabilidad de textura entre las muestras.

7.3.1.3 Intención de Compra

Figura 25. Gráfico de justo agrado – intención de compra.



Los superíndices en minúscula muestran diferencia significativa entre muestras.

Las tres muestras de galletas saladas fueron horneadas por 25 min.

En la **Figura 25** se observan diferencias significativas en la intención de compra entre las muestras (**Anexo 10.16**); donde la muestra horneada a 180 °C presenta mayor intención de compra, ya que el 72 % de los consumidores indicó que esta muestra “Probablemente si la comprarían” y “Definitivamente si la comprarían” seguida de la muestra horneada a 190 °C con 58 % de los consumidores. Por otro lado, el 52 % de los consumidores indicó que no tenían intención de comprar la muestra horneada a 200 °C.

Probablemente esta muestra horneada a 180 °C obtuvo la mayor intención de compra debido a que fue considerada como la muestra más clara (**Figura 22**), con una intensidad de sabor “justo como que me gusta” (**Figura 23**) y una dureza “justo como me gusta” según los consumidores (**Figura 24**). Asimismo, la muestra horneada a 190 °C obtuvo el segundo lugar, debido a que esta muestra tiene un color “justo como me gusta” (**Figura 22**) según los consumidores. Finalmente, la muestra horneada a 200 °C es la más oscura (**Figura 22**), es más intensa en sabor (**Figura 23**), es más dura (**Figura 24**), y en la evaluación de agrado general obtuvo “No me gusta ni me disgusta” (**Figura 21**), lo que indica que esta muestra no fue del agrado de los consumidores.

7.3.1.4 CATA (Check All That Apply)

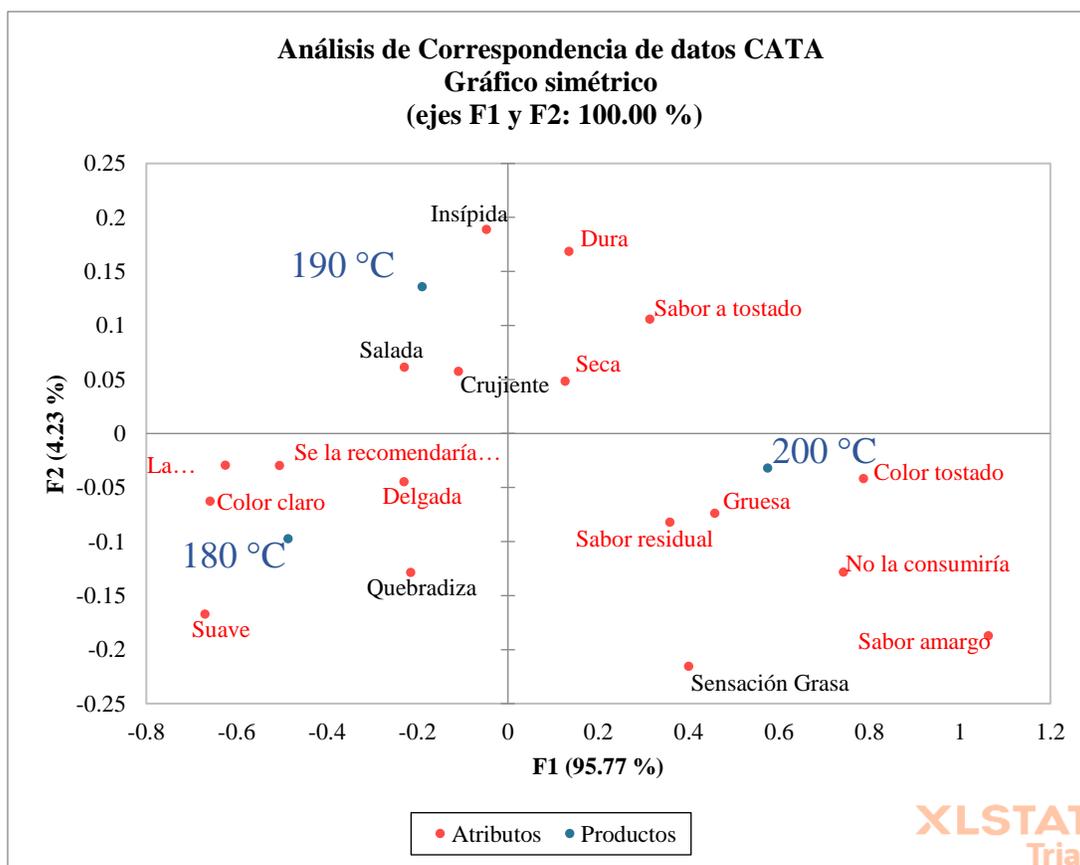
La **Tabla 5** presenta los resultados del método de CATA por medio de la Prueba Cochran's Q, en el cual se encontró diferencia significativa ($p \leq 0,05$) para 13 de las 18 características referentes a los atributos, siendo estas características: color tostado, color claro, delgada, gruesa, seca, suave, dura, sabor a tostado, sabor amargo, sabor residual, la consumiría con frecuencia, no la consumiría y se la recomendaría a mi familia o amigos.

Tabla 5. Resultados de Prueba Cochran's Q.

Atributos	Temperatura (°C)			Valores-P
	180	190	200	
Color tostado	0,059 ^a	0,178 ^a	0,683 ^b	<0,0001
Color claro	0,782 ^c	0,525 ^b	0,099 ^a	<0,0001
Delgada	0,495 ^b	0,396 ^{ab}	0,327 ^a	0,007
Gruesa	0,050 ^a	0,059 ^a	0,158 ^b	0,005
Sensación Grasa	0,030	0,020	0,069	0,122
Seca	0,446 ^a	0,554 ^a	0,733 ^b	<0,0001
Crujiente	0,762	0,812	0,713	0,236
Suave	0,376 ^c	0,208 ^b	0,050 ^a	<0,0001
Dura	0,218 ^a	0,376 ^b	0,416 ^b	0,001
Quebradiza	0,178	0,119	0,119	0,223
Salada	0,347	0,347	0,238	0,052
Sabor a tostado	0,287 ^a	0,525 ^b	0,822 ^c	<0,0001
Sabor amargo	0,010 ^a	0,050 ^a	0,475 ^b	<0,0001
Insípida	0,099	0,149	0,119	0,482
Sabor residual	0,208 ^a	0,218 ^a	0,515 ^b	<0,0001
La consumiría con frecuencia	0,386 ^b	0,277 ^b	0,059 ^a	<0,0001
No la consumiría	0,059 ^a	0,089 ^a	0,406 ^b	<0,0001
Se la recomendaría a mi familia o amigos	0,426 ^b	0,317 ^b	0,119 ^a	<0,0001

Valor-P en rojo, significa diferencia significativa ($p \leq 0,05$)
 Las tres muestras de galletas saladas fueron horneadas por 25 min.

Figura 26. Análisis de correspondencia de datos CATA.



Uso de CATA con galletas saladas. Evaluación con 101 personas no entrenadas.

Los descriptores en rojo son los que presentan diferencia significativa.

Las tres muestras de galletas saladas fueron horneadas por 25 min.

La **Figura 26**, muestra el análisis de correspondencia para los datos CATA donde el eje horizontal es más importante ya que presenta un (95,77%) de la variabilidad de los datos, así mismo se puede observar que este eje separa la muestra horneada a 200 °C de las muestras horneadas a 180 ° y 190 °C, siendo los atributos en rojo, los que presentan diferencias significativas entre muestras ($p \leq 0,05$). Las muestras horneadas a 180° y 190 °C se caracterizan por ser delgadas, consumidas con frecuencia y las recomendarían a su familia y amigos; y adicionalmente, la muestra horneada a 180 °C también fue caracterizada por tener un color claro y ser suave, ya que presenta una menor temperatura de horneado, por lo cual su pérdida de humedad fue menor con respecto a las otras dos muestras. Por otro lado, la muestra horneada a 200 °C fue caracterizada por tener un color tostado, ser gruesa, sabor residual y no la consumirían por lo que un horneado con esta temperatura influye sobre estas características en el producto final.

Finalmente, los consumidores no encontraron diferencias significativas para los atributos sensación grasa, salada, insípida, crujiente y quebradiza entre las muestras. Los atributos crujiente y quebradiza; a menudo, se relacionan con provocar emociones positivas al consumidor en productos horneados (Szczeniak, 2002).

7.3.1.5 Preferencia

Se analizó la preferencia de los consumidores mediante un Ordenamiento de Friedman (**Tabla 6**); para ello, se pidió a los consumidores que ordenaran las muestras de galletas saladas de la que más le gustó a la que menos le gustó.

Tabla 6. Resultados de preferencia.

	Temperatura (°C)		
	180	190	200
*Sumatoria de Ordenes	155 ^a	179 ^b	272 ^c
Orden	% Consumidores		
1^{er} lugar	58	32	10
2^{do} lugar	30	58	10
3^{er} lugar	12	10	80
Total	100	100	100

Si hay diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre muestras por test de Friedman.

N= 101 consumidores

Las tres muestras de galletas saladas fueron horneadas por 25 min.

Como se observa en **Tabla 6**, la muestra horneada a 180 °C fue la más preferida por los consumidores, donde el 58 % de los consumidores colocó esta muestra en el primer lugar; al relacionar este resultado con la intención de compra (**Figura 25**), el 72 % de los consumidores indicó que esta muestra “probablemente si la comprarían” y “definitivamente si la comprarían”. Además, esta muestra también obtuvo la puntuación media más alta en la evaluación de agrado general (**Figura 21**), y los consumidores la caracterizaron en el análisis CATA como de color claro, suave, delgada, consumida con frecuencia y la recomendarían a su familia y amigos (**Tabla 5**). En otras palabras, las condiciones de proceso de 180 °C por 25 min se considera un tratamiento térmico deseable para el horneado de galletas

saladas. Finalmente, el 80 % de los consumidores colocaron en tercer lugar a la muestra horneada a 200 °C, lo que tiene relación con los defectos ya mencionados anteriormente.

7.3.1.6 Razones de preferencia

Después que los consumidores evaluaron la preferencia, se le solicitó a cada uno que indicaran las razones de preferencia por las que habían seleccionado la muestra en primer lugar, a través de una pregunta abierta. En la **Tabla 7** se presenta un resumen de las razones de preferencia indicadas por los consumidores.

Tabla 7. Resultados de las razones de preferencia (pregunta abierta).

Atributo	N		
	58	33	10
	Temperatura (°C)		
	180	190	200
SABOR			
Buen sabor	32 ^a	13 ^b	5 ^c
Mejor Sabor	9 ^a	6 ^a	0 ^b
Sabor más suave	7 ^a	1 ^b	0 ^b
Sabor salado equilibrado	5	4	1
Sabor no amargo, poco amargo	5 ^a	2 ^{ab}	0 ^b
Sabor tostado equilibrado	2	4	1
Sin sabor residual	4 ^a	3 ^{ab}	0 ^b
Sabor inesperado, diferente, neutral	3	3	0
Sabor más intenso	3	3	1
Sabor no tan salado	3	1	0
Sabor no tan tostado, no muy tostado	3	0	0
Sabor residual agradable	3	3	2
Sabor más salado	2	1	1
OTRAS RESPUESTAS DE SABOR	1	1	1
APARIENCIA			
Buen Color	6 ^a	15 ^b	2 ^a
Un poco seca	10 ^a	6 ^a	0 ^b
Buena Apariencia	6	6	2
Color tostado perfecto	1 ^{ab}	5 ^a	0 ^b
Color muy claro	4 ^a	1 ^{ab}	0 ^b
Delgada	2	0	0
OTRAS RESPUESTAS DE APARIENCIA	2	2	0

AROMA			
Buen olor	2	2	0
Olor suave	0	2	0
Mayor olor	1	1	0
TEXTURA			
Buena textura	15^a	9^a	1^b
Buena crujencia, crocancia perfecta	13^a	8^{ab}	2^b
Blanda	9^a	7^a	1^b
Dureza agradable	3	2	0
Textura menos harinosa	2	0	0
No quebradiza	2	0	1
Más fácil de comer	2	1	0
OTRAS RESPUESTAS DE TEXTURA	3	2	1

N=número de consumidores que indicaron la muestra en primer lugar.

Los valores indicados en cada atributo son números absolutos.

Los superíndices en minúscula muestran diferencia significativa entre muestras.

Las tres muestras de galletas saladas fueron horneadas por 25 min.

La **Tabla 7** detalla las razones de preferencia mediante atributos de sabor, apariencia, aroma y textura; donde los consumidores encontraron diferencias significativas solo en algunos de los atributos. La mayoría de los consumidores (N=58) colocó a la muestra horneada a 180 °C en primer lugar, indicando las siguientes razones de preferencia: Buen sabor, mejor sabor, sabor más suave, sin sabor residual, buen color, un poco seca, color tostado perfecto, color muy claro, buena textura, buena crujencia y blanda. Por otro lado, 33 consumidores colocaron a la muestra horneada a 190 °C en primer lugar, caracterizándola por su buen color; finalmente, solo 10 consumidores colocaron a la muestra horneada a 200 °C en primer lugar. Además, cuando los consumidores describen un producto alimenticio, suelen utilizar nociones compuestas que pueden referirse a los beneficios, que son consecuencias del consumo del producto (por ejemplo, saciar la sed, llenar) y que suelen confundirse con consideraciones hedónicas. Por lo tanto, suele ser difícil para los desarrolladores de alimentos saber cómo se pueden traducir estos conceptos en características específicas del producto (Van Kleef y cols., 2005). Por el contrario, cuando se impone una lista de atributos a los consumidores, no hay garantía de que entenderán estos atributos de manera similar, y tal vez no de la forma en que el experimentador cree que lo harán (Veinand y cols., 2011).

8 Conclusiones

- El contenido de AA y HMF aumentó con el tiempo y la temperatura durante el horneado de las galletas saladas, siendo la temperatura el factor con mayor efecto significativo que el tiempo. Además, de todas las muestras evaluadas solo 2 superaron el nivel de referencia de 400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de AA establecido por la European Commission, (2017).
- Los modelos de visión computacional y los métodos tradicionales (GC/MS y HPLC/DAD) presentaron coeficientes de correlación de Pearson de 0,990 y 0,986 para AA y HMF respectivamente, por lo que existe una fuerte relación lineal positiva entre estos métodos; además estos modelos presentaron un bajo error de estimación de 3,10% y 3.28%, para la AA y HMF respectivamente. Por lo tanto, este método no destructivo representa una alternativa válida a los análisis de laboratorio destructivos, costosos y que requieren mucho tiempo.
- Los resultados de visión computacional obtenidos de acuerdo a la metodología descrita confirman la posibilidad de estimar el contenido de AA y HMF en galletas saladas de forma no destructiva utilizando el procesamiento digital de imágenes.
- La temperatura en el proceso de horneado afectó significativamente los atributos sensoriales (apariencia, aroma, sabor, textura, agrado general) de las tres muestras seleccionadas para hacer el análisis sensorial. Además, se observó una preferencia significativa por parte de los consumidores hacia la muestra horneada a 180 °C por 25 min, la misma que tuvo la menor concentración de AA y HMF entre las muestras evaluadas en la parte sensorial.
- La estimación de AA y HMF por visión computacional en diversas matrices alimentarias puede considerarse como un campo de estudio emergente y sumamente atractivo para la investigación, no solo desde una óptica científica, sino también desde la perspectiva tecnológica.

9 Bibliografía

- Albouchi, A., & Murkovic, M., 2019. LC method for the direct and simultaneous determination of four major furan derivatives in coffee grounds and brews. *Journal of Separation Science*, Vol. 42(9), Pages 1695–1701.
- Ahmed, Z., S., & Abozed, S., S., 2015. Functional and antioxidant properties of novel snack crackers incorporated with Hibiscus sabdariffa by-product. *Journal of Advanced Research*, Vol. 6(1), Pages 79–87.
- Ahumada, A., A., 2011. Clasificación de calidad sensorial de sopaipillas mediante visión computacional. Memoria para optar al título de Ingeniero en Alimentos. Universidad de Chile. Disponible en <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/115418>
- Ameer, L., A., Trystram, G., & Birlouez-Aragon, I., 2006. Accumulation of 5-hydroxymethyl-2-furfural in cookies during the backing process: Validation of an extraction method. *Food Chemistry*, Vol. 98, Pages 790–796.
- Doblado, M., A., 2022. Estudio del efecto de la variación de parámetros térmicos (temperatura y grado de tostado) y la aplicación de microorganismos (*Candida krusei*) sobre el contenido de furano y 5-hidroximetilfurfural, compuestos bioactivos y perfil sensorial del café tostado (variedad *Coffea arabica*). Memoria para optar al título de Magíster en Alimentos con mención en Gestión, Calidad e Inocuidad de los Alimentos. Universidad de Chile. Disponible en <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/188889>
- Clasificación de calidad sensorial de sopaipillas mediante visión computacional. Memoria para optar al título de Ingeniero en Alimentos. Universidad de Chile. Disponible en <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/115418>
- Anese, M., Suman, M., & Nicoli, M. C., 2010. Acrylamide removal from heated foods. *Food Chemistry*. Vol. 119, Pages 791–794.
- Ares, G., Barreiro, C., Deliza, R., Gimenez, A., & Gambaro, A., 2010. Application of a check-all-that-apply question to the development of chocolate milk desserts. *Journal of Sensory Stud*, Vol. 25, Pages 67–86.
- Ares, G., Antúnez, L., Giménez, A., & Jaeger, S., R., 2015. List length has little impact on consumers' visual attention to CATA questions. *Food Quality and Preference*, Vol. 42, Pages 100–109.

- Bello, J., 2008. *Ciencia bromatológica: Principios generales de los alimentos*. Ediciones Díaz de Santos, Madrid.
- Birlouez-Aragon, I., Morales, F., Fogliano, V., & Pain, J., P., 2010. Les enjeux santé et technologiques d'une meilleure maîtrise des contaminants néoformés par les industriels du secteur alimentaire. *Pathologie Biologie*. Vol. 58, Pages 232–238.
- Boekel, M., V., Fogliano, V., Pellegrini, N., Stanton, C., Scholz, G., Lalljie, S., y cols., (2010). A review on the beneficial aspects of food processing. *Molecular Nutrition and Food Research*. Vol. 54, Pages 1215–1247.
- Capuano, E., Ferrigno, A., Acampa, I., Serpen, A., Açar, Ö.Ç., Gökmen, V., y cols., 2009. Effect of flour type on Maillard reaction and acrylamide formation during toasting of bread crisp model systems and mitigation strategies. *Food Research International*. Vol. 42, Pages 1295–1302.
- Capuano E., & Fogliano V., 2011. Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies. *LWT – Food Science and Technology*. Vol. 44, Pages 793–810.
- Cawley, G., C., & Talbot, N., L., C., 2003. Efficient leave-one-out cross-validation of kernel Fisher discriminant classifiers. *Pattern Recognition*, Vol. 36, Pages 2585–2592.
- Cawley, G., C., & Talbot, N., L., C., 2004. Fast exact leave-one-out cross-validation of sparse least-squares support vector machines. *Neural Networks*, Vol. 17(10), Pages 1467–1475.
- Chen, Q., Zhang, C., Zhao, J., & Ouyang, Q., 2013. Recent advances in emerging imaging techniques for non-destructive detection of food quality and safety. *Trends in Analytical Chemistry*. Vol. 52, Pages 261–274.
- Cho, H., & Peterson, D. G., 2010. Chemistry of bread aroma: A review. *Food Science and Biotechnology*. Vol. 19(3), Pages 575–582.
- Claus, A., Mongili, M., Weisz, G., Schieber, A., & Carle, R., 2008. Impact of formulation and technological factors on the acrylamide content of wheat bread and bread rolls. *Journal of Cereal Science*, Vol. 47, Pages 546–554.
- De Andrade, J., K., Komatsu, E., Perreault, H., Torres, Y., R., da Rosa, M., R., Felsner, M., L., 2016. In house validation from direct determination of 5-hydroxymethyl-2-furfural

(HMF) in brazilian corn and cane syrups samples by HPLC–UV, *Food Chemistry*. Vol. 190, Pages 481–486.

- Dooley, L., Lee, Y., S., and Meullenet, J., F., 2010. The application of check-all-that-apply (CATA) consumer profiling to preference mapping of vanilla ice cream and its comparison to classical external preference mapping, *Food Qual Prefer*, Vol. 21, Pages 394–401.
- Dutta, M., K., Singh, A., Ghosal, S., 2016. An imaging technique for acrylamide identification in potato chips in wavelet domain. *LWT - Food Science and Technology*. Vol. 65, Pages 987–998.
- Eriksson, S., 2005. Acrylamide in food products: Identification, formation and analytical methodology. Doctoral thesis, Department of Environmental Chemistry, Stockholm University, Sweden.
- European Commission (EC), 2008. Commission Regulation (EC) No 1272/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December, 2008. 2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures, amending and repealing Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC). N° 1907/2006. *Official Journal of the European Union* 12 (31).
- European Commission (EC), 2017. Commission Regulation 2017/2158 of 20 November 2017 establishing mitigation measures and benchmark levels for the reduction of the presence of acrylamide in food. *Official Journal of the European Union*, L304, 24–44.
- European Food Safety Authority (EFSA), 2011. Scientific opinion on the re-evaluation of caramel colours (E 150 a, b, c, d) as food additives. *EFSA Journal*. Vol. 9(3), Pages 1–103.
- European Food Safety Authority (EFSA), 2015. Scientific opinion on acrylamide in food. *Efsa Journal*. Vol. 13(4104), Pages 1–321.
- Fallico, B., Arena, E., Zappalà, M., 2003. Roasting of hazelnuts. Role of oil in colour development and hydroxymethylfurfural formation, *Food Chemistry*. Vol. 81, Pages 569–573.
- Fay, C., D., and Wub, L., 2024. Critical importance of RGB color space specificity for colorimetric bio/chemical sensing: A comprehensive study. *Talanta*, Vol. 266, Part 1, Pages 124957.

- Fels-Klerx, H., J., V., D., Capuano, E., Nguyen, H., T., Mogol, B., A., Kocadağlı, T., Taş, N. G., Hamzalıoğlu, A., Van Boekel, M., A., J., S., Gökmen, V., 2014. Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural formation during baking of biscuits: NaCl and temperature–time profile effects and kinetics. *Food Research International*. Vol. 57, Pages 210–217.
- Fernández-Navales, J., López, M., I., Sánchez, M., T., Morales, J., & González-Caballero, V., 2009. Shortwave-near infrared spectroscopy for determination of reducing sugar content during grape ripening, winemaking, and aging of white and red wines. *Food Research International*. Vol. 42(2), Pages 285–291.
- Fiore, A., Troise, A., D., Mogol, B., A., Roullier, V., Gourdon, A., el Mafadi Jian, S., y cols., 2012. Controlling the Maillard reaction by reactant encapsulation: Sodium chloride in cookies. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, Vol. 60, Pages 10808–10814.
- Garcia-Lamont, F., Cervantes, J., López, A., Rodriguez, L., 2018. Segmentation of images by color features: A survey. *Neurocomputing*. Vol. 292, Pages 1–27.
- Garavand, A., T., Fatahi, S., Omid, M., Makino, Y., 2019. Meat quality evaluation based on computer vision technique: A review. *Meat Science*. Vol. 156, Pages 183 – 195.
- Ghiasvand, R., Hajipour, Somayeh, 2016. Direct determination of acrylamide in potato chips by using headspace solid-phase micro extraction coupled with gas chromatography-flame ionization detection. *Talanta* 146, Pages 417–422.
- Giannoutsos, K., Zalidis, A., P., Koukoumaki, D., I., Menexes, G., Mourtzinis, I., Sarris, D., Gkatzionis, K., 2023. Production of functional crackers based on non-conventional flours. Study of the physicochemical and sensory properties. *Food Chemistry Advances*, Vol. 2, Pages 100194.
- Golon, A., Kropf, C., Vockenroth, I., and Kuhnert, N., 2014. An Investigation of the Complexity of Maillard Reaction Product Profiles from the Thermal Reaction of Amino Acids with Sucrose Using High Resolution Mass Spectrometry. *Foods*, Vol. 3, Pages 461 – 475.
- Golon, A., and Kuhnert, N., 2012. Unraveling the Chemical Composition of Caramel. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 60(12), Pages 3266–3274.
- Gonzalez, R., C., & Woods, R., E., 2002. *Digital Image Processing (3ra ed.)*. Pearson: Prentice Hall, 424–425p.

- González, L., Morante-Zarcero, S., Pérez-Quintanilla, D., Sierra, I., 2020. Hydroxymethylfurfural determination in cereal and insect bars by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry employing a functionalized mesostructured silica as sorbent in solid-phase extraction. *Journal of Chromatography A*. Vol. 1622, Pages 461124.
- Gökmen, V., Şenyuva, H., Z., Acar, J., Sarioğlu, K., 2005. Determination of acrylamide in potato chips and crisps by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. Vol. 1088(1–2), Pages 193–199.
- Gökmen, V., Senyuva, H., Z., 2006. Improved method for the determination of hydroxymethylfurfural in baby foods using liquid chromatography-mass spectrometry, *Journal Agricultural Food Chemistry*. Vol. 54, Pages 2845–2849.
- Gökmen, V., Açar, Ö., Ç., Köksel, H., Acar, J., 2007. Effects of dough formula and baking conditions on acrylamide and hydroxymethylfurfural formation in cookies. *Food Chemistry*. Vol. 104, Pages 1136–1142.
- Gökmen, V., & Şenyuva, H., Z., 2007. Effects of some cations on the formation of acrylamide and furfurals in glucose–asparagine model system. *European Food Research and Technology*, Vol. 225, Pages 815–820.
- Gökmen, V., Acar, O. C., Serpen, A., & Morales, F. J., 2008. Effect of leavening agents and sugars on the formation of hydroxymethylfurfural in cookies during baking. *European Food Research and Technology*. Vol. 226, Pages 1031–1037.
- Gökmen, V., Morales, F., J., 2014. Processing Contaminants: Hydroxymethylfurfural, in: J. Motarjemi (Ed.), *Encyclopedia of food safety*, Academic Press, Pages 404–408.
- Gowen, A. A., Taghizadeh, M., & O'Donnell, C., 2010. Using hyperspectral imaging for quality evaluation of mushrooms. In D.-W. Sun (Ed.). *Hyperspectral Imaging for food Quality and Control* (pp. 403–430). San Diego: Academic Press.
- Güner, A., Alçin, Ö., F., Sengür, A., 2019. Automatic digital modulation classification using extreme learning machine with local binary pattern histogram features. *Measurement*, Vol. 145, Pages 214–225.
- Habibi, H., Mohammadi, A., Kamankesh, M., 2018. Hydroxymethylfurfural in fruit puree and juice: Preconcentration and determination using microextraction method coupled with

high-performance liquid chromatography and optimization by Box–Behnken design, *Journal of Food Measurement and Characterization*. Vol. 12, Pages 191–199.

- Hamzalıoğlu, A., Mogol, B., A., and Gökmen, V., 2019. Acrylamide: An Overview of the Chemistry and Occurrence in Foods. *Encyclopedia of Food Chemistr*. Vol. 1, Pages 492–499.
- Hemmler, D., Roullier-Gall, C., Marshall, J., W., M., Rychlik, Taylor, A., J., Schmitt-Kopplin, P., 2018. Insights into the Chemistry of Non-Enzymatic Browning Reactions in Different Ribose-Amino Acid Model Systems. *Scientific Reports*, Vol. 8(16879), Pages 1 – 10.
- International Agency for Research on Cancer (IARC), 1994. Acrylamide. IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, Vol. 60. (pp. 389–433). Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.
- Jain, A., K., Duin, R., P., W., & Mao, J., 2000. Statistical pattern recognition: A review. *IEEE Transactions on pattern analysis and machine intelligence*, Vol. 22(1), Pages 4-37.
- Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JEFCA), 2011. Evaluation of certain contaminants in food: seventy-second report of the joint FAO/WHO Expert committee on food Additives. Available online at: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44514/WHO_TRS_959_eng.pdf
- Jozinović, A., Šarkanj, B., Aćkar, Đ., Panak, J., Šubarić, D., Cvetković, T., Ranilović, J., Buberac, S., Babić, J., 2019. Simultaneous Determination of Acrylamide and Hydroxymethylfurfural in Extruded Products by LC-MS/MS Method. *Molecules*. Vol. 24, Pages 1971.
- Kitts, D., D., Chen, X., M., Jing, H., 2012. Demonstration of antioxidant and anti-inflammatory bioactivities from sugar-amino acid maillard reaction products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* Vol. 60 (27), Pages 6718–6727.
- Knize, M. G., Salmon, C. P., Pais, P., & Felton, J. S., 1999. Food heating and the formation of heterocyclic aromatic amines and polycyclic aromatic hydrocarbon mutagens/carcinogens. In L. S. Jackson, M. G. Knize, & J. N. Morgan (Eds.), *Impact of processing on food safety* (pp. 179-193). New York: Springer.
- Kocadağlı, T., Gökmen, V., 2019. Caramelization in Foods: A Food Quality and Safety Perspective. *Encyclopedia of Food Chemistry*, Pages 18–29.

- Kolek, E., Simko, P., & Simon, P., 2006. Inhibition of acrylamide formation in asparagine/D-glucose model system by NaCl addition. *European Food Research and Technology*, Vol. 224, Pages 283–284.
- Kowalski, S., Lukaszewicz, M., Duda-Chodak, A., Ziec, G., 2013. 5-Hydroxymethyl-2-Furfural (HMF) Heat-Induced Formation, Occurrence in Food and Biotransformation - a Review. *Polish Journal Food and Nutrition Sciences*. Vol. 63, Pages 207–225.
- Kroh, L., W., 1994. Caramelisation in food and beverages. *Food Chemistry*. Vol. 51, Pages 373–379.
- Lee, C., H., Chen, K., T., Lin, J., A., Chen, Y., T., Chen, Y., A., Wu, J., T., & Hsieh, C., W., 2019. Recent advances in processing technology to reduce 5-hydroxymethylfurfural in foods. *Trends in Food Science and Technology*, Vol. 93, Pages 271–280.
- Leiva-Valenzuela, G. A., Quilaqueo, M., Lagos, D., Estay, D., & Pedreschi, F., 2018. Effect of formulation and baking conditions on the structure and development of non-enzymatic browning in biscuit models using images. *Journal of Food Science and Technology*. Vol. 55, Pages 1234–1243.
- Leiva-Valenzuela, G., A., Quilaqueo, M., Mariotti-Celis, M., S., Letelier, K., Estay, D., Pedreschi, F., 2019. Predicting furan content in a fried dough system using image analysis. *Food Chemistry*. Vol. 298, Pages 125096.
- León, K., Mery, D., Pedreschi, F., León, J., 2006. Color measurement in L*a*b* units from RGB digital images. *Food Research International*. Vol. 39, Pages 1084 – 1091.
- Levine, R., A., & Smith, R., E., 2005. Sources of variability of acrylamide levels in a cracker model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 53, Pages 4410–4416.
- Lineback, D. R., Coughlin, J. R., & Stadler, R. H., 2012. Acrylamide in foods: A review of the science and future considerations. *The Annual Review of Food Science and Technology*. Vol. 3, Pages 15–35.
- Liu, D., Wang, S., Huang, D., Deng, G., Zeng, F., and Chen, H., 2016a. Medical image classification using spatial adjacent histogram based on adaptive local binary patterns. *Computers in Biology and Medicine*, Vol. 72, Pages 185–200.
- Liu, P., Guo, J., M., Chamnongthai, K., Prasetyo, H., 2017. Fusion of color histogram and LBP-based features for texture image retrieval and classification. *Information Sciences*, Vol. 390, Pages 95–111.

- Liyanage, D., W., K., Yevtushenko, D., P., Konschuh, M., Bizimungu, B., Lu, Z., X., 2021. Processing strategies to decrease acrylamide formation, reducing sugars and free asparagine content in potato chips from three commercial cultivars. *Food Control*. Vol. 119, Pages 107452.
- Lorente, D., Aleixos, N., Gomez-Sanchis, J., Cubero, S., Garcia-Navarrete, O. L., & Blasco, J., 2012. Recent advances and applications of hyperspectral imaging for fruit and vegetable quality assessment. *Food and Bioprocess Technology*. Vol. 5, Pages 1121–1142.
- Mahale, V., H., Ali, M., M., H., Yannawar, P., L., Gaikwad, A., T., 2017. Image inconsistency detection using local binary pattern (LBP). *Procedia Computer Science*, Vol. 115, Pages 501–508.
- Mariotti, M., Granby, K., Fromberg, A., Risum, J., Agosin, E., & Pedreschi, F., 2012. Furan occurrence in starchy food model systems processed at high temperatures: Effect of ascorbic acid and heating conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 60(40), Pages 10162–10169.
- Mariotti, M., Cortés, P., Fromberg, A., Bysted, A., Pedreschi, F., Granby, K., 2015. Heat toxicant contaminant mitigation in potato chips. *LWT - Food Science and Technology*. Vol. 60, Pages 860–866.
- Martins, F., C., O., L., Alcantara, G., M., R., N., Silva, A., F., S., Melchert, W., R., Rocha, F., R., P., 2022. The role of 5-hydroxymethylfurfural in food and recent advances in analytical methods. *Food Chemistry*, Vol. 395, Pages 133539.
- Matus, C., J., 2017. Optimización y estudio del efecto de polifenoles extraídos de vainas rojas de tara (*caesalpinia spinosa*) y concentración de sal en el contenido de neocontaminantes, calidad y perfil sensorial en galletas saladas. Universidad de Chile. Disponible en: <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/170394>
- Meghavarnam, A., K., Janakiraman, S., 2018. Evaluation of acrylamide reduction potential of L-asparaginase from *Fusarium culmorum* (ASP-87) in starchy products. *LWT - Food Science and Technology*. Vol. 89, Pages 32–37.
- Mery, D., & Filbert, D., 2002. Classification of potential defects in automated inspection of aluminium castings using statistical pattern recognition. In *Proceedings of 8th European conference of nondestructive testing (ECNDT 2002)*, June 17–21, Barcelona, 14p.

- Mery, D., & Pedreschi, F., 2005. Segmentation of color food images using a robust algorithm. *Journal of Food Engineering*. Vol. 66, Pages 353–360.
- Mery, D., Chanona-Pérez, J., J., Soto, A., Aguilera, J., M., Cipriana, A., Veléz-Rivera, N., Arzate-Vázquez, I., Gutiérrez-López, G., F., 2010. Quality Classification of Corn Tortillas using Computer Vision. *Journal of Food Engineering*. Vol. 101, Pages 357–364.
- Mery, D., 2011. BALU: a Matlab toolbox for computer vision, pattern recognition and image processing. Software available at <http://dmery.ing.puc.cl/index.php/balu>.
- Mery, D., Pedreschi, F., Soto, A., 2012. Automated Design of a Computer Vision System for Visual Food Quality Evaluation. *Food Bioprocess Technol*, Vol. 6, Pages 2093–2108.
- Mesias, M., Delgado-Andrade, C., Morales, F., 2019. Risk/benefit evaluation of traditional and novel formulations for snacking: Acrylamide and furfurals as process contaminants. *Journal of Food Composition and Analysis*. Vol. 79, Pages 114–121.
- Meyners, M., & Castura, J., C., 2014. Check-all-that apply questions. In P. Varela & G. Ares (Eds.), *Novel techniques in sensory characterization and consumer profiling*. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Mills, C., Mottram, D., S., Wedzicha, B., L., 2009. Acrylamide. In: Stadler, R.H., Lineback, D.R. (Eds.), *Process-induced Food Toxicants: Occurrence, Formation, Mitigation and Health Risks*. John Wiley & Sons, Inc., New Jersey, USA.
- Minz, P., S., Saini, C., S., 2021. Comparison of computer vision system and colour spectrophotometer for colour measurement of mozzarella cheese. *Applied Food Research*, Vol. 1(2), Pages 100020.
- Modzelewska-Kapituła, M., Jun, S., 2022. The application of computer vision systems in meat science and industry – A review. *Meat Science*, Vol. 192, Page 108904.
- Murkovic, M., Pedreschi, F., and Zuzana Ciesarová, 2019. Process Contaminants: A Review. *Encyclopedia of Food Chemistry*. Vol. 1, Pages 609–614.
- Nagarajan, G., Minu, R., I., Muthukumar, B., Vedanarayanan, V., & Sundarsingh, S., D., 2016. Hybrid Genetic Algorithm for Medical Image Feature Extraction and Selection. *Procedia Computer Science*, Vol. 85, Pages 455–462.
- Nagi, H., P., S., Kaur, J., Dar, B., N., & Sharma, S., 2012. Effect of storage period and packaging on the shelf life of cereal bran incorporated biscuits. *American Journal Of Food Technology*, Vol. 7, Pages 301–310.

- Nerín, C., Aznar, M., Carrizo, D., 2016. Food contamination during food process. *Trends Food Sci. Technol.* Vol. 48, Pages 63–68.
- Ojala, T., Pietikainen, M., & Maenpaa, T., 2002. Multiresolution gray-scale and rotation invariant texture classification with local binary patterns. *IEEE Transactions on pattern analysis and machine intelligence*, Vol. 24(7), Pages 971–987.
- Öztürk, Ş., Akdemir, B., 2018. Application of Feature Extraction and Classification Methods for Histopathological Image using GLCM, LBP, LBGLCM, GLRLM and SFTA. *Procedia Computer Science*, Vol. 132, Pages 40–46.
- Pantalone, S., Tonucci, L., Cichelli, A., Cerretani, L., Gómez, A., M., d'Alessandro, N., 2021. Acrylamide mitigation in processed potato derivatives by addition of natural phenols from olive chain by-products. *Journal of Food Composition and Analysis*. Vol. 95, pages 103682.
- Pedreschi, F., León, J., Mery, D., Moyano, P., 2006b. Development of a computer vision system to measure the color of potato chips. *Food Research International*. Vol. 39, Pages 1092 – 1098.
- Pedreschi, F., Mariotti, M. S., & Granby, K., 2014. Current issues in dietary acrylamide: Formation, mitigation and risk assessment. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Vol. 94, Pages 9–20.
- Pedreschi, F., Saavedra, I., Bungler, A., Zuñiga, R., N., Pedreschi, R., Chirinos, R., Campos, D., Mariotti-Celis, M., S., 2018b. Tara pod (*Caesalpinia spinosa*) extract mitigates neo-contaminant formation in Chilean bread preserving their sensory attributes. *LWT - Food Science and Technology* Vol. 95, Pages 116 – 122.
- Pedreschi, F., Mariotti, M., S., 2023. Chapter 13 - Production of contaminants during thermal processing in both industrial and home preparation of foods. *Present Knowledge in Food Safety, A Risk-Based Approach Through the Food Chain 2023*, Pages 211-217.
- Peleg, M., 1993. Glass transitions and the physical stability of food powders. *The Glassy State in Foods*, Eds, J.M.V Blanshard and P.J. Lillford, pp. 435-451. Nottingham.
- Perez-Locas, C., & Yaylayan, V., A., 2008. Isotope labeling studies on the formation of 5-(hydroxymethyl)-2-furaldehyde (HMF) from sucrose by pyrolysis-GC/MS. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. Vol. 56, Pages 6717–6723.

- Peres, D., D., Ariede, M., B., Candido, T., M., Santos de Almeida, T., Lourenço, F., R., Consiglieri, V., O., Kaneko, T., M., Velasco, M., V., R., & Baby, A., R., 2017. Quality by design (QbD), Process Analytical Technology (PAT), and design of experiment applied to the development of multifunctional sunscreens. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, Vol. 43(2), Pages 246–256.
- Petisca, C., Henriques, A., R., Pérez-Palacios, T., Pinho, O., Ferreira, I., M., P., L., V., O., 2014. Assessment of hydroxymethylfurfural and furfural in commercial bakery products. *Journal of Food Composition and Analysis*. Vol. 33, Pages 20–25.
- Pietikäinen, M., 2005. Image analysis with local binary patterns. Eds. H. Kalviainen, J. Parkkinen, A. Kaarna, *Image Analysis*, 2005, pp. 115–118. ISBN 0302-9743.
- Plaehn, D., 2012. CATA penalty/reward. *Food Qual Prefer*, Vol. 24, Pages 141–152.
- Por, C., S., Akowuah, G., A., Gaurav, A., 2018. Quantitative structure–activity relationship modeling of S-triazines and 2-arylpurimidines as selective PDE4B inhibitors. *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 42 (2), Pages 69–83.
- Rannou, C., Laroque, D., Renault, E., Prost, C., & Sérot, T., 2016. Mitigation strategies of acrylamide, furans, heterocyclic amines and browning during the Maillard reaction in foods. *Food Research International*. Vol. 90, Pages 154–176.
- Ramírez-Jiménez, A., García-Villanova, B., Guerra-Hernández, E., 2000. Hydroxymethyl-furfural and methylfurfural content of selected bakery products. *Food Research International*. Vol. 33, Pages 833–838.
- Ribeiro, J. C., Lima, R. C., Maia, M. R. G., Almeida, A. A., Fonseca, A. J. M., Cabrita, A. R. J., & Cunha, L. M. 2019. Impact of defatting freeze-dried edible crickets (*Acheta domesticus* and *Grylloides sigillatus*) on the nutritive value, overall liking and sensory profile of cereal bars. *LWT-Food Science and Technology*, 113.
- Roudaut, G., Dacremont, C., Vallés Pámies, B., Colas., B., LE Meste, M., 2002. Crispness: a critical review on sensory and material science approaches. *Trends in Food Science and Technology*, Vol. 13, Pages 217–27.
- Rosatella, A. A., Simeonov, S. P., Frad, P. F. M., & Afonso, C. A. M., 2011. 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) as a building block platform biological properties, synthesis and synthetic applications. *Green Chemistry*. Vol. 13(4), Pages 754–793.

- Rufián-Henares, J., A., Delgado-Andrade, C., Morales, F., J., 2006. Application of a fast high-performance liquid chromatography method for simultaneous determination of furanic compounds and glucosyl isomaltol in breakfast cereals, *Journal of AOAC International*. Vol. 89(1), Pages 161–165.
- Scholz, G., and Stadler, R., H., 2019. Furan and Alkyfurans: Occurrence and Risk Assessment. *Encyclopedia of Food Chemistry*. Vol. 1, Pages 532–542.
- Seraj, A., Mohammadi-Khanaposhtani, M., Daneshfar, R., Naseri, M., Esmaeili, M., Baghban, A., Habibzadeh, S., Eslamian, S., 2023. Chapter 5 - Cross-validation. *Handbook of Hydroinformatics, Vol. i: Classic Soft-Computing Techniques*, Pages 89–105.
- Segura, J., Aalhus, J., L., Prieto, N., Zawadski, S., Scott, H., López-Campos, Ó., 2023. Prediction of primal and retail cut weights, tissue composition and yields of youthful cattle carcasses using computer vision systems; whole carcass camera and/or ribeye camera. *Meat Science*, Vol. 199, Page 109120.
- Shao, Z., & Er, M., J., 2016. Efficient Leave-One-Out Cross-Validation-based Regularized Extreme Learning Machine. *Neurocomputing*, Vol. 194, Pages 260–270.
- Shapla, U., M., Solayman, M., Alam, N., Khalil, M., I., Gan, S., H., 2018. 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) levels in honey and other food products: effects on bees and human health. *Chemistry Central Journal* Vol. 12 (1), Pages 1–18.
- Singh, J., Shaik, B., Singh, S., Agrawal, V., K., Khadikar, P., V., Deeb, O., and Supuran, C., T., 2008. Comparative QSAR Study on Para-substituted Aromatic Sulphonamides as CAII Inhibitors: Information versus Topological (Distance-Based and Connectivity) Indices. *Chemical Biology and Drug Design*, Vol. 71 (3), Pages 244–259.
- Singh, L., Varshney, J.G., Agarwal, T., 2016. Polycyclic aromatic hydrocarbons' formation and occurrence in processed food. *Food Chemistry* Vol. 199, Pages 768–781.
- Sirot, V., Riviere, G., Leconte, S., Vin, K., Traore, T., Jean, J., Carne, G., Gorecki, S., Veyrand, B., Marchand, P., Bizec, B., L., Jean-Pierre, C., Feidt, C., Vasseur, P., Lambert, M., Inthavong, C., Guerin, T., Hulin, M., 2019. French infant total diet study: Dietary exposure to heat-induced compounds (acrylamide, furan and polycyclic aromatic hydrocarbons) and associated health risks. *Food and Chemical Toxicology*. Vol. 130, Pages 308–316.

- Soares, C., M., Alves, R., C., Casal, S., Oliveira, M., B., & Fernandes, J., O., 2010. Development and validation of a matrix solid-phase dispersion method to determine acrylamide in coffee and coffee substitutes. *Journal of Food Science*. Vol. 75(3), Pages T57–T63.
- Starowicz, M., & Zieliński, H., 2019. How Maillard reaction influences sensorial properties (color, flavor and texture) of food products? *Food Reviews International*. Vol. 35(8), Pages 707–725.
- Stone, H., & Sidel, J., 2004. *Sensory evaluation practices*. 3 ed, Vol. 408. New York: Academic Press, 2004.
- Su, Q., Kondo, N., Li, M., Sun, H., Al Riza, D. F., & Habaragamuwa, H., 2018. Potato quality grading based on machine vision and 3D shape analysis. *Computers and Electronics in Agriculture*. Vol. 152, Pages 261–268.
- Swedish National Food Administration, (2002). Information about acrylamide in food. <https://www.livsmedelsverket.se/en/food-and-content/oonskade-amnen/akrylamid>
- Szczesniak, A., S., 2002. Texture is a sensory property. *Food Quality and Preference*, Vol. 13 (4), Pages 215–225.
- Tamanna, N., Mahmood, N., 2015. Food Processing and Maillard Reaction Products: Effect on Human Health and Nutrition. *International Journal of Food Science*, Vol. 2015, Article ID 526762, 6 pages.
- Tareke, E., Rydberg, R., Karlsson, P., Ericksson, S., & Tornqvist, M., 2002. Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 50, Pages 4998–5006.
- Teixidó, E., Moyano, E., Santos, F., J., Galceran, M., T., 2008. Liquid chromatography multistage mass spectrometry for the analysis of 5-hydroxymethylfurfural in Foods. *Journal of Chromatography A*. Vol. 1185, Pages 102–108.
- Teixidó, E., Santos, F., Puignou, L., Galceran, M., 2006. Analysis of 5-hydroxymethylfurfural in foods by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. Vol. 1135, Pages 85–90.
- Toker, O., Dogan, M., Ersöz, N., Yilmaz, M., 2013. Optimization of the content of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) formed in some molasses types: HPLC-DAD analysis to

determine effect of different storage time and temperature levels. *Industrial Crops and Products*. Vol. 50, Pages 137-144.

- Tornqvist, M., 2005. Acrylamide in food: the discovery and its implications. *Chemistry and Safety of Acrylamide in Food*, Vol. 561, Pages 1–19.
- Tropsha, A., 2010. Best practices for QSAR model development, validation, and exploitation. *Molecular Informatics*. Vol. 29(6–7), Pages 476–488.
- Valentin, D., Chollet, S., Lelièvre, M., & Abdi, H., 2012. Quick and dirty but still pretty good: a review of new descriptive methods in food science. *International Journal of Food Science and Technology*, Vol. 47, Pages 1563–1578.
- Van Der Fels-Klerx, H., J., Capuano, E., Nguyen, H., T., Ataç Mogol, B., Kocadağlı, T., Göncüoğlu Taş, N., Hamzalıoğlu, A., Van Boekel, M., A., J., S., Gökmen, V., 2014. Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural formation during baking of biscuits: NaCl and temperature–time profile effects and kinetics. *Food Research International*, Vol. 57, Pages 210–217.
- Van Kleef, E., van Trijp, H., C., M., & Luning, P., 2005. Consumer research in early stages of new product development: a critical review of methods and techniques. *Food Quality and Preference*, Vol. 16, Pages 181–201.
- Varela, P., & Ares, G., 2012. Sensory profiling, the blurred line between sensory and consumer science. A review of novel methods for product characterization. *Food Research International*, Vol. 48, Pages 893–908.
- Varmuza, K., Filzmoser, P., Dehmer, M., 2013. Multivariate linear QSPR/QSAR models: Rigorous evaluation of variable selection for PLS. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, Vol. 5(6), Pages 1–10.
- Veerasamy, R., Rajak, H., Jain, A., Sivadasan, S., Varghese, C., P., and Agrawal, R., K., 2011. Validation of QSAR models - Strategies and importance. *International Journal of Drug Design and Discovery*, Vol. 2(3), Pages 511–519.
- Veinand, B., Godefroy, C., Adam, C., Delarue, J., 2011. Highlight of important product characteristics for consumers. Comparison of three sensory descriptive methods performed by consumers. *Food Quality and Preference*, Vol. 22, Pages 474–485.

- Vidal, L., Cadena, R., S., Correa, S., Ábalos, R., A., Gómez, B., Giménez, A., Varela, P., & Ares, G., 2014. Assessment of global and individual reproducibility of projective mapping with consumers. *Journal of Sensory Studies*, Vol. 29, Pages 74–87.
- Wang, H., Zhou, Y., Ma, J., Zhou, Y., & Jiang, H., 2013. The effects of phytic acid on the Maillard reaction and the formation of acrylamide. *Food Chemistry*, Vol. 141, Pages 18–22.
- Wang, C., Li, D., Li, Z., Wang, D., Dey, N., Biswas, A., Moraru, L., Sherratt, R., S., Shi, F., 2019. An efficient local binary pattern based plantar pressure optical sensor image classification using convolutional neural networks. *International Journal for Light and Electron Optics*, Vol. 185, Pages 543–557.
- Wawrzyniak, R., Jasiewicz, B., 2019. Straightforward and rapid determination of acrylamide in coffee beans by means of HS-SPME/GC-MS. *Food Chemistry*. Vol. 301, Pages 125264.
- Wei, S., Yang, X., Lin, M., Chen, N., Gao, X., Hu, X., Chen, F., Zhu, Y., 2024. Development of a two-step pretreatment and UPLC-MS/MS-based method for simultaneous determination of acrylamide, 5-hydroxymethylfurfural, advanced glycation end products and heterocyclic amines in thermally processed foods. *Food Chemistry*, Vol. 430, Pages 136726.
- Wenzl, T., Szilagyi, S., Rosén, J., & Karasek, L., 2009. Validation by collaborative trial of an isotope dilution liquid chromatographic tandem mass spectrometric method to determine the content of acrylamide in roasted coffee. *Food Additives and Contaminants: Part A*, Vol. 26, Pages 1146–1152.
- Wold, S., Sjostrom, M., & Eriksson, L., 2001. PLS-regression: A basic tool of chemometrics. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*. Vol. 58(2), Pages 109–130.
- Wong, T., T., 2015. Performance evaluation of classification algorithms by k-fold and leave-one-out cross-validation. *Pattern Recognition*, Pages 1–8.
- Wu, D., & Sun, D.-W., 2013a. Advanced applications of hyperspectral imaging technology for food quality and safety analysis and assessment: A review – Part I: Fundamentals. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. Vol. 19, Pages 1-14.

- Wu, D., and Sun, D.-W., 2013b. Colour measurements by computer vision for food quality control - A review. *Food Science & Technology*, Vol. 29, Pages 5–20.
- Wu, J., H., Feng, T., T., Liang, X., Yu, C., Dong, L., Du, M., Tan, M., Q., Xu, X., B., 2018. Determination of HMF in vinegar and soy sauce using two-step ultrasonic assisted Liquid–Liquid microextraction coupled with capillary electrophoresis- ultraviolet detection. *Food Analytical Methods*. Vol. 11(2), Pages 479–485.
- Yadav, A., Sengar, N., Issac, A., Dutta, M., K., 2018. Image processing-based acrylamide detection from fried potato chip images using continuous wavelet transform. *Computers and Electronics in Agriculture*. Vol. 145, Pages 349–362.
- Yang, N., Qiu, R., Yang, S., Zhou, K., Wang, C., Ou, S., Zheng, J., 2019. Influences of stir-frying and baking on flavonoid profile, antioxidant property, and hydroxymethylfurfural formation during preparation of blueberry-filled pastries. *Food Chemistry*. Vol. 287, Pages 167–175.
- Zay, K., & Gere, A., 2019. Sensory acceptance of poppy seed-flavored white chocolates using just-about-right method. *LWT – Food Science and Technology*, Vol. 103, Pages 162–168.
- Zhang, X., Chen, F., Wang, M., 2013. Impacts of selected dietary polyphenols on caramelization in model systems. *Food Chemistry*, Vol. 141(4), Pages 3451-3458.
- Zhang, B., Huang, W., Li, J., Zhao, C., Fan, S., Wu, J., et al. 2014. Principles, developments and applications of computer vision for external quality inspection of fruits and vegetables: A review. *Food Research International*. Vol. 62, Pages 326–343.
- Zhang, L., & Li, C., 2019. Simultaneous analysis of 2-methylimidazole, 4-methylimidazole, and 5-hydroxymethylfurfural potentially formed in fermented soy sauce by “quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe” purification and UHPLC with tandem mass spectrometry. *Journal of Separation Science*, Vol. 42(2), Pages 501–508.
- Zhao, Z., Q., Xu, S., T., Liu, D., Tian, W., D., Jiang, Z., D., 2019. A review of image set classification. *Neurocomputing*, Vol. 335, Pages 251–260.
- Zou, F., Hrynets, Y., Roopesh, M., S., Betti, M., 2022. “Cold caramelization” of glucosamine under UV-C radiation. *Food Chemistry Advances*. Vol. 1, Pages 100083.

10 Anexos

10.1 Diseño experimental

Combinaciones	Temperatura (°C)	Tiempo (min.)	Código de la Muestra
1	160	15	G1
2	160	20	G2
3	160	25	G3
4	160	30	G4
5	160	35	G5
6	170	15	G6
7	170	20	G7
8	170	25	G8
9	170	30	G9
10	170	35	G10
11	180	15	G11
12	180	20	G12
13	180	25	G13 (645)
14	180	30	G14
15	180	35	G15
16	190	15	G16
17	190	20	G17
18	190	25	G18 (678)
19	190	30	G19
20	190	35	G20
21	200	15	G21
22	200	20	G22
23	200	25	G23 (681)
24	200	30	G24
25	200	35	G25

10.2 Análisis de varianza para AA por GC-MS

AA		
Factor	Valor-F	Valor-P
A	595.93	0.000
B	89.44	0.000
A: B	54.45	0.000

*A= Temperatura, B= tiempo

*Todos los valores-F se basan en el cuadrado medio del error residual.

* Valor-P $\leq 0,05$ presenta diferencias significativas.

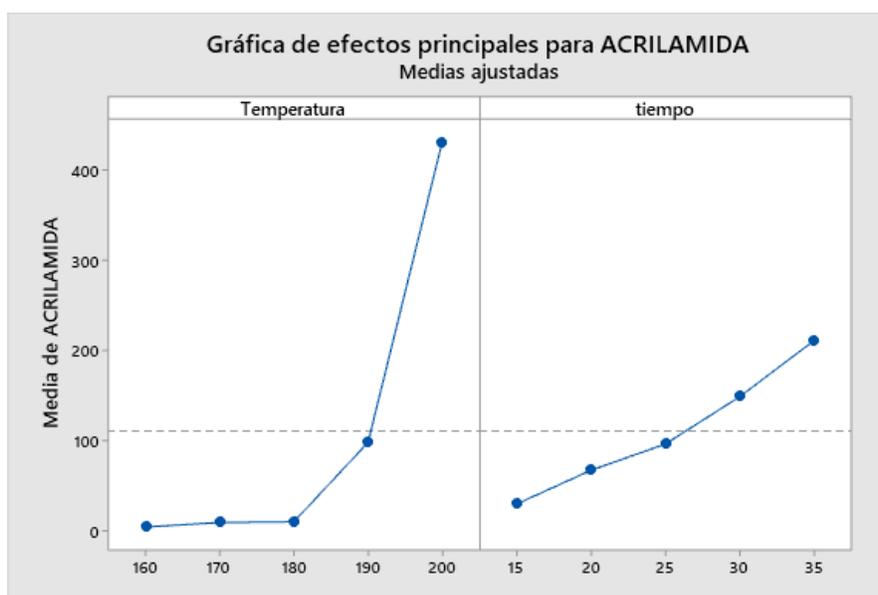
10.3 Efecto de la temperatura y tiempo sobre el contenido medio de AA por GC-MS

Contenido de Acrilamida $\mu\text{g.kg}^{-1}$		Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)				
		160	170	180	190	200
Tiempo (min.)	15	4,35 ^{aA} $\pm 0,00$	4,35 ^{aA} $\pm 0,00$	4,35 ^{aA} $\pm 0,00$	52,50 ^{aB} $\pm 7,78$	83 ^{aB} $\pm 14,10$
	20	4,35 ^{aA} $\pm 0,00$	4,35 ^{aA} $\pm 0,00$	4,35 ^{aA} $\pm 0,00$	53,50 ^{aB} $\pm 4,95$	269 ^{bC} $\pm 49,50$
	25	4,35 ^{aA} $\pm 0,00$	6,50 ^{aA} $\pm 2,12$	8,50 ^{aA} $\pm 0,71$	79 ^{aB} $\pm 12,73$	383 ^{cC} $\pm 8,49$
	30	4,35 ^{aA} $\pm 0,00$	15 ^{aA} $\pm 4,24$	14 ^{aA} $\pm 4,41$	119 ^{abB} $\pm 18,40$	591,50 ^{dC} $\pm 99,70$
	35	4,35 ^{aA} $\pm 0,00$	16 ^{aA} $\pm 4,24$	19,50 ^{aA} $\pm 0,71$	186,50 ^{bB} $\pm 21,90$	829 ^{eC} $\pm 18,4$

Resultados del programa Minitab 19.

Los valores se muestran como la media [$\mu\text{g}/\text{kg}$] de veinticinco experimentos replicados dos veces \pm sd (desviación estándar), estos son valores utilizados para realizar las gráficas de acrilamida (**Figura 7**).

Los diferentes superíndices en minúscula entre columnas indican diferencia significativa ($p < 0,05$) en los diferentes tiempos y los diferentes superíndices en mayúscula entre filas indican diferencia significativa ($p < 0,05$) en las diferentes temperaturas.



10.4 Análisis de varianza para HMF por HPLC-DAD

HMF		
Factor	Valor-F	Valor-P
A	32695.05	0.000
B	11040.58	0.000
A: B	7132.13	0.000

*A= Temperatura, B= tiempo

*Todas los valores-F se basan en el cuadrado medio del error residual.

* Valor-P $\leq 0,05$ presenta diferencias significativas.

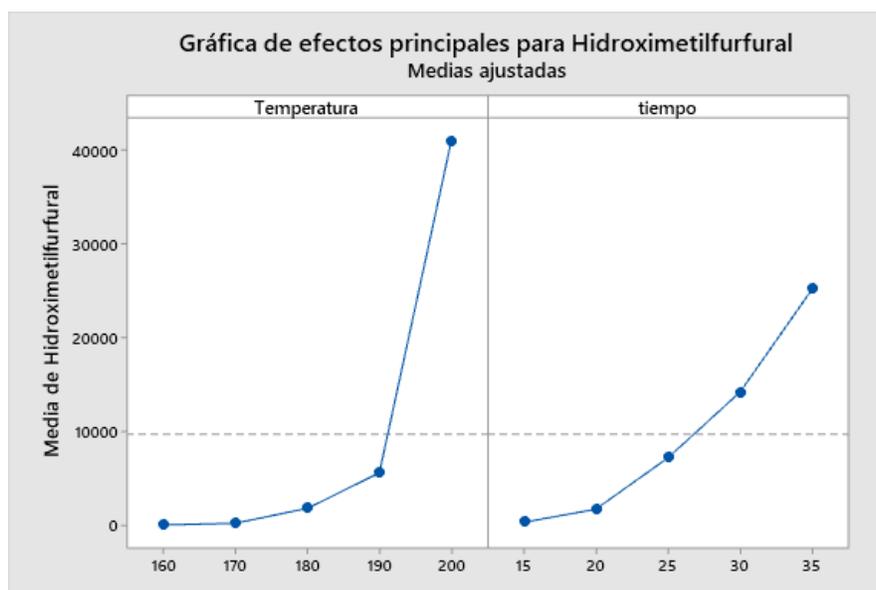
10.5 Efecto de la temperatura y tiempo sobre el contenido medio de HMF por HPLC-DAD

Contenido de HMF $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$		Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)				
		160	170	180	190	200
Tiempo (min)	15	4,19 ^{aA} \pm 0,39	5,77 ^{aA} \pm 0,50	92,28 ^{aA} \pm 8,32	352,90 ^{aA} \pm 14,80	1215,90 ^{aA} \pm 27,40
	20	10,30 ^{aA} \pm 0,19	59,65 ^{aA} \pm 0,32	500,80 ^{aA} \pm 66,90	1060,50 ^{aA} \pm 2,26	7002 ^{bB} \pm 392
	25	40,12 ^{aA} \pm 0,51	179,95 ^{aA} \pm 1,48	1171,50 ^{abA} \pm 43,80	3379 ^{bB} \pm 48,70	31252 ^{cC} \pm 133
	30	86,32 ^{aA} \pm 0,33	351,78 ^{aA} \pm 3,42	1919 ^{bB} \pm 440	8670,10 ^{cC} \pm 82	60100 ^{dD} \pm 1370
	35	114,80 ^{aA} \pm 0,75	590,20 ^{aA} \pm 2,06	5493,10 ^{cB} \pm 23,30	14511 ^{dC} \pm 54,50	105416 ^{eD} \pm 330

Resultados del programa Minitab 19.

Los valores se muestran como la media [$\mu\text{g}/\text{kg}$] de veinticinco experimentos replicados dos veces \pm sd (desviación estándar), estos son valores utilizados para realizar las gráficas de HMF (**Figura 8**).

Los diferentes superíndices en minúscula entre columnas indican diferencia significativa ($p < 0,05$) en los diferentes tiempos y los diferentes superíndices en mayúscula entre filas indican diferencia significativa ($p < 0,05$) en las diferentes temperaturas.



10.6 Modelación para estimar el contenido de AA por visión computacional

Tratamiento	Medición por GC-MS		Modelación SVC			ERROR		
	Directo (µg/kg)	Norm	Directo (µg/kg)	Norm	Inv (µg/kg)	Directo	Norm	Inv
1	4.0	0.0	25.3	0.0365	5.099	21.3	0.0365	1.1
2	4.0	0.0	0.0	0.0000	4.000	4.0	0.0000	0.0
3	4.0	0.0	0.0	0.0000	4.000	4.0	0.0000	0.0
4	4.0	0.0	23.9	0.0029	4.007	19.9	0.0029	0.0
5	4.0	0.0	42.8	0.0677	7.781	38.8	0.0677	3.8
6	4.0	0.0	0.0	0.0447	5.648	4.0	0.0447	1.6
7	4.0	0.0	23.4	0.0467	5.799	19.4	0.0467	1.8
8	6.5	0.1	2.8	0.0000	4.000	3.7	0.0550	2.5
9	15.0	0.1	0.0	0.0145	4.173	15.0	0.1010	10.8
10	16.0	0.1	0.0	0.1401	20.193	16.0	0.0195	4.2
11	4.0	0.0	24.5	0.0301	4.747	20.5	0.0301	0.7
12	4.0	0.0	0.0	0.1094	13.874	4.0	0.1094	9.9
13	8.5	0.1	23.3	0.1206	15.999	14.8	0.0467	7.5
14	14.0	0.1	22.4	0.0960	11.603	8.4	0.0141	2.4
15	19.5	0.1	73.7	0.2271	46.549	54.2	0.0900	27.0
16	52.5	0.2	75.5	0.2047	38.569	23.0	0.0378	13.9
17	53.5	0.2	41.7	0.2537	57.100	11.8	0.0088	3.6
18	79.0	0.3	126.6	0.3081	82.314	47.6	0.0066	3.3
19	119.0	0.4	110.6	0.3498	104.947	8.5	0.0236	14.1
20	186.5	0.5	355.4	0.7306	444.365	168.9	0.2603	257.9
21	83.0	0.3	112.5	0.2802	68.772	29.5	0.0292	14.2
22	269.0	0.6	211.4	0.4552	174.946	57.6	0.1116	94.1
23	383.0	0.7	361.5	0.6175	318.578	21.5	0.0603	64.4
24	591.5	0.8	512.4	0.8101	545.416	79.1	0.0338	46.1
25	829.0	1.0	950.0	1.0340	886.054	121.0	0.0340	57.1
Máx >	829.0	1.0			Promedio >	32.7	0.0508	25.7
Mín >	4.0	0.0			Error de Estimación	3.94%	5.08%	3.10%

10.7 Modelación para estimar el contenido de HMF por visión computacional

Tratamiento	Medición por HPLC-DAD		MODELACIÓN SVC			ERROR		
	Directo (µg/kg)	Norm	Directo (µg/kg)	Norm	Inv (µg/kg)	Directo	Norm	Inv
1	4.2	0.0	0.0	0.0414	184.9	4.2	0.0414	180.7
2	10.3	0.0	2239.2	0.0000	4.2	2228.9	0.0076	6.1
3	40.1	0.0	1202.5	0.0545	317.3	1162.4	0.0360	277.2
4	86.3	0.0	7836.8	0.0709	534.1	7750.5	0.0430	447.8
5	114.8	0.0	9967.5	0.0819	711.3	9852.7	0.0495	596.5
6	5.8	0.0	0.0	0.0000	4.2	5.8	0.0039	1.6
7	59.6	0.0	0.0	0.0592	373.6	59.6	0.0363	314.0
8	179.9	0.0	9556.7	0.0017	4.5	9376.8	0.0391	175.4
9	351.8	0.1	0.0	0.0479	246.1	351.8	0.0095	105.7
10	590.2	0.1	0.0	0.0000	4.2	590.2	0.0746	586.0
11	92.3	0.0	0.0	0.0000	4.2	92.3	0.0289	88.1
12	500.8	0.1	0.0	0.0561	336.0	500.8	0.0125	164.9
13	1171.5	0.1	0.0	0.0531	301.4	1171.5	0.0521	870.1
14	1918.6	0.1	0.0	0.1066	1202.1	1918.6	0.0282	716.5
15	5493.1	0.2	5066.3	0.1630	2805.0	426.8	0.0652	2688.1
16	352.9	0.1	0.0	0.0704	526.7	352.9	0.0129	173.7
17	1060.5	0.1	0.0	0.0431	200.0	1060.5	0.0570	860.5
18	3379.0	0.2	9193.8	0.2672	7530.4	5814.8	0.0883	4151.4
19	8670.1	0.3	6962.5	0.2658	7451.8	1707.6	0.0209	1218.3
20	14511.0	0.4	29349.0	0.4391	20329.3	14838.0	0.0681	5818.3
21	1215.9	0.1	1801.6	0.1211	1550.1	585.7	0.0139	334.2
22	7002.2	0.3	18584.0	0.3407	12240.5	11581.8	0.0830	5238.3
23	31252.0	0.5	45521.0	0.5617	33263.6	14269.0	0.0173	2011.6
24	60100.0	0.8	59032.0	0.7246	55352.3	1068.0	0.0304	4747.7
25	105420.0	1.0	82610.0	0.6938	50747.0	22810.0	0.3062	54673.0
Máx >	105420.0	1.0			Promedio >	4383.2	0.0490	3457.8
Mín >	4.19	0.00			Error de Estimación	4.16%	4.90%	3.28%

10.8 Análisis de varianza para AA por visión computacional

AA		
Factor	Valor-F	Valor-P
A	48,57	0.000
B	0,15	0.699

*A= Tratamientos, B= métodos de análisis

*Todas los valores-F se basan en el cuadrado medio del error residual.

* Valor-P $\leq 0,05$ presenta diferencias significativas.

10.9 Pruebas de múltiple rangos para GC-MS vs. SVC

Método Tukey y una confianza de 95%

Método de análisis	N	Media	Agrupación
GC-MS	25	115,141	A
SVC	25	110,460	A

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

10.10 Análisis de varianza para HMF por visión computacional

HMF		
Factor	Valor-F	Valor-P
A	12.00	0.000
B	0,71	0.407

*A= Tratamientos, B= métodos de análisis

*Todas los valores-F se basan en el cuadrado medio del error residual.

* Valor-P $\leq 0,05$ presenta diferencias significativas.

10.11 Pruebas de múltiple rangos para HPLC-DAD vs. SVC

Método Tukey y una confianza de 95%

Método de análisis	N	Media	Agrupación
HPLC-DAD	25	9743,32	A
SVC	25	7848,98	A

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

10.12 Análisis de correlación de Pearson entre métodos de análisis

10.12.1 Correlación GC-MS vs. SVC

Muestra 1	Muestra 2	Correlación	IC de 95% para ρ	Valor P
SVC	GC-MS	0.990	(0.978; 0.996)	0.000

* Valor-P $\leq 0,05$ presenta diferencias significativas.

10.12.2 Correlación HPLC-DAD vs. SVC

Muestra 1	Muestra 2	Correlación	IC de 95% para ρ	Valor P
SVC	HPLC-DAD	0.986	(0.968; 0.994)	0.000

* Valor-P $\leq 0,05$ presenta diferencias significativas.

10.13 Análisis de validación cruzada de los modelos de visión computacional

10.13.1 Validación cruzada del modelo de visión computacional para estimar AA

Método

Validación cruzada	Dejar uno fuera
Componentes a evaluar	Conjunto
Número de componentes evaluados	1
Número de componentes seleccionados	1

Análisis de varianza de AA estimada por SVC

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Regresión	1	979545	979545	1138.93	0.000
Error residual	22	18921	860		
Total	23	998466			

Selección y validación de modelo para AA estimada por SVC

Componentes	Varianza de X	Error	R-cuad.	PRESS	R-cuad. (pred.)
1	1	18921.3	0.981050	44968.6	0.954962

10.13.2 Validación cruzada del modelo de visión computacional para estimar HMF

Método

Validación cruzada	Dejar uno fuera
Componentes a evaluar	Conjunto
Número de componentes evaluados	1
Número de componentes seleccionados	1

Análisis de varianza de HMF estimado por SVC

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Regresión	1	3868266727	3868266727	781.04	0.000
Error residual	22	108959383	4952699		
Total	23	3977226110			

Selección y validación de modelo para HMF estimado por SVC

Componentes	Varianza de X	Error	R-cuad.	PRESS	R-cuad. (pred.)
1	1	108959383	0.972604	255850258	0.935671

10.13.3 Valores de AA ajustados por validación cruzada del modelo de visión computacional para estimar AA

Acrilamida				
Tratamiento	MEDICIÓN	MODELACIÓN	VALIDACIÓN	Error
	GC-MS ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Inv ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Uno fuera ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	
1	4.0	5.099	-0.092	5.191
2	4.0	4.000	-0.092	4.092
3	4.0	4.000	-0.092	4.092
4	4.0	4.007	-0.092	4.099
5	4.0	7.781	-0.092	7.873
6	4.0	5.648	-0.092	5.740
7	4.0	5.799	-0.092	5.891
8	6.5	4.000	2.365	1.635
9	15.0	4.173	10.719	6.546
10	16.0	20.193	11.701	8.492
11	4.0	4.747	-0.092	4.839
12	4.0	13.874	-0.092	13.966
13	8.5	15.999	4.33	11.669
14	14.0	11.603	9.736	1.867
15	19.5	46.549	15.141	31.408
16	52.5	38.569	47.574	9.005
17	53.5	57.100	48.557	8.543
18	79.0	82.314	73.618	8.696
19	119.0	104.947	112.931	7.984
20	83.0	68.772	77.55	8.778
21	269.0	174.946	260.352	85.406
22	383.0	318.578	372.392	53.814
23	591.5	545.416	577.308	31.892
24	829.0	886.054	810.725	75.329
			Error medio	16.952
			Error estándar (%)	1.91

10.13.4 Valores de HMF ajustados por validación cruzada del modelo de visión computacional para estimar HMF

Hidroximetilfurfural				
Tratamiento	MEDICIÓN	MODELACIÓN	VALIDACIÓN	Error
	HPLC-DAD	Inv	Uno fuera	
1	4.1925	184.9	526.5	341.600
2	10.3	4.2	532.4	528.200
3	40.1	317.3	561	243.696
4	86.3	534.1	605.5	71.402
5	114.8	711.3	632.9	78.381
6	5.8	4.2	528	523.808
7	59.6	373.6	579.8	206.163
8	179.9	4.5	695.6	691.103
9	351.8	246.1	860.9	614.840
10	590.2	4.2	1090.3	1086.108
11	92.3	4.2	611.2	607.008
12	500.8	336.0	1004.3	668.342
13	1171.5	301.4	1649.6	1348.176
14	1918.6	1202.1	2368.5	1166.409
15	5493.1	2805.0	5807.8	3002.815
16	352.9	526.7	862	335.350
17	1060.5	200.0	1542.8	1342.786
18	3379.0	7530.4	3773.7	3756.743
19	8670.1	7451.8	8864.7	1412.919
20	14511.0	20329.3	14484.8	5844.489
21	1215.9	1550.1	1692.4	142.263
22	7002.2	12240.5	7259.9	4980.589
23	31252.0	33263.6	30592.8	2670.806
24	60100.0	50747.0	58350	7603.019
			Error medio	1636.126
			Error estándar (%)	3.22

10.14 Cuestionario para la evaluación sensorial con consumidores

10.14.1 Test con consumidores

Buenos días. Mi nombre es Darwin Castillo y soy tesista del Magíster en Alimentos con Mención en Calidad e Inocuidad de los Alimentos. Estamos realizando una encuesta y usted ha sido elegido(a) al azar para participar en un estudio para selección de consumidores. El objetivo es conocer sus opiniones acerca de las características de tres muestras de producto, por lo tanto, quisiera hacerle algunas preguntas, lo cual tomará de 10 a 15 minutos. Su participación es voluntaria. Usted no recibirá pago alguno por su participación, pero tampoco le ocasionará gastos. Todas las respuestas que usted me brinde son completamente confidenciales.

1. **Nombre y Apellido:**
2. **Correo Electrónico:**
3. **¿Presenta usted alguna restricción alimentaria por alergia o intolerancia alimenticia? (selección única)**
SI
NO
4. **Si su respuesta es SÍ, por favor especificar la restricción alimentaria. (dejar poco espacio)**

5. **Rangos de edad (selección única)**
18 – 20
21 – 25
26 – 30
31 – 40
41 o más
6. **Género (selección única)**
Femenino
Masculino
Otros
7. **Cuáles de los siguientes productos consume usted al menos una vez al mes: (marque todas las que corresponda) (selección múltiple)**
Galletas dulces (p.e.: Mini Dulcitas, Mini Vino, Criollitas)
Papas fritas (p.e.: Lay's, Marco Polo, Cuisine & Co)
Maní salado (p.e.: Marco Polo, Cuisine & Co, Evercrisp)
Galletas saladas (p.e.: CRACKER, GRILL (clásica), SELZ (sabor clásico), CRACKELET)

Frutos secos (p.e.: Vivo, Marco Polo, Cuisine & Co)

NOTA: Si selecciona galletas saladas, puede seguir participando en el estudio.

8. ¿Con que frecuencia consume usted galletas saladas? (p.e.: CRACKER, GRILL (clásica), SELZ (sabor clásico), CRACKELET) (selección única)

Menos de una vez al mes

Una vez al mes

2 veces al mes

1 vez por semana

2 veces por semana o más

NOTA: Si selecciona menos de una vez al mes, no puede seguir participando en el estudio.

Escala Hedónica / Justo Agrado

Me disgusta mucho	Me disgusta	Me disgusta un poco	No me gusta ni me disgusta	Me gusta un poco	Me gusta	Me gusta mucho
1	2	3	4	5	6	7

Mucho más claro de lo que me gusta	Más claro de lo que me gusta	Justo como me gusta	Más oscuro de lo que me gusta	Mucho más oscuro de lo que me gusta
-2	-1	0	+1	+2

Mucho menos intenso en sabor de lo que me gusta	Menos intenso en sabor de lo que me gusta	Justo como me gusta	Más intenso en sabor de lo que me gusta	Mucho más intenso en sabor de lo que me gusta
-2	-1	0	+1	+2

Mucho más blando de lo que me gusta	Más blando de lo que me gusta	Justo como me gusta	Más duro de lo que me gusta	Mucho más duro de lo que me gusta
-2	-1	0	+1	+2

Definitivamente no la compraría	Probablemente no la compraría	No sé si la compraría o no la compraría	Probablemente si la compraría	Definitivamente si la compraría
1	2	3	4	5

Instrucciones: A continuación, se le presenta 1 muestra de galletas saladas. Por favor tome unos sorbos de agua antes de probar cada muestra, seleccione la casilla que corresponda a su opinión acerca de las características del producto. Marque sólo una opción para cada característica. Deberá avisar al término de la evaluación de la muestra para entregar la siguiente y retirar la ya evaluada. Luego de estas galletas saladas evaluará otras dos muestras, de la misma manera que la primera muestra.

Instrucciones: A continuación, se le presenta la segunda muestra de galletas saladas. Por favor tome unos sorbos de agua antes de probarla. Deberá avisar al término de la evaluación de la muestra para entregar la siguiente y retirar la ya evaluada.

Instrucciones: A continuación, se le presenta la tercera muestra de galletas saladas. Por favor tome unos sorbos de agua antes de probarla. Deberá avisar al término de la evaluación de la muestra para retirarla.

1. ¿Qué le parece el APARIENCIA del producto?, según la siguiente escala.

Me gusta mucho

Me gusta

Me gusta un poco

No me gusta ni me disgusta

Me disgusta un poco

Me disgusta

Me disgusta mucho

2. ¿Cómo calificaría usted el COLOR del producto?, según la siguiente escala

Mucho más oscuro de lo que me gusta

Más oscuro de lo que me gusta

Justo como me gusta

Más claro de lo que me gusta

Mucho más claro de lo que me gusta

3. ¿Qué le parece el AROMA del producto?, según la siguiente escala.

Me gusta mucho

Me gusta

Me gusta un poco

No me gusta ni me disgusta

Me disgusta un poco

Me disgusta

Me disgusta mucho

4. ¿Qué le parece el SABOR del producto?, según la siguiente escala.

Me gusta mucho

Me gusta

Me gusta un poco

No me gusta ni me disgusta

Me disgusta un poco

Me disgusta

Me disgusta mucho

5. ¿Cómo calificaría usted la INTENSIDAD DE SABOR del producto?, según la siguiente escala

Mucho más intenso en sabor de lo que me gusta

Más intenso en sabor de lo que me gusta

Justo como me gusta

Menos intenso en sabor de lo que me gusta

Mucho menos intenso en sabor de lo que me gusta

6. ¿Qué le parece la TEXTURA del producto?, según la siguiente escala.

Me gusta mucho

Me gusta

Me gusta un poco

No me gusta ni me disgusta

Me disgusta un poco

Me disgusta

Me disgusta mucho

7. ¿Cómo calificaría usted la DUREZA del producto?, según la siguiente escala

Mucho más duro de lo que me gusta

Más duro de lo que me gusta

Justo como me gusta

Más blando de lo que me gusta

Mucho más blando de lo que me gusta

8. Con todo lo evaluado anteriormente, evalúe la AGRADO GENERAL, según la siguiente escala.

Me gusta mucho

Me gusta

Me gusta un poco

No me gusta ni me disgusta

Me disgusta un poco

Me disgusta

Me disgusta mucho

9. Con todo lo evaluado anteriormente, si esta galleta se encuentra disponible en un lugar donde realiza compras, que es lo que probablemente haría:

Definitivamente si la compraría

Probablemente si la compraría

No sé si la compraría o no la compraría

Probablemente no la compraría

Definitivamente no la compraría

NOTA: Copiar lo mismo para las otras muestras

Cuestionario Check All That Apply (CATA)

Instrucciones: A continuación, se presenta una lista de atributos que pueden estar presentes en esta muestra que usted probó, seleccione los atributos que usted considere apropiados para describir esta muestra que evaluó recién.

Color tostado

Color claro

Delgada

Gruesa

Sensación Grasa

Seca

Crujiente

Suave

Dura

Quebradiza

Salada

Sabor a tostado

Sabor amargo

Insípida

Sabor residual

La consumiría con frecuencia.

No la consumiría.

Se la recomendaría a mi familia o amigos.

NOTA: Copiar lo mismo para las otras muestras

Preferencia General

Ahora que ya probó las 3 muestras, por favor ordene las muestras de galletas saladas de la que **MÁS LE GUSTÓ** a la que **MENOS LE GUSTÓ**

	Primer Lugar	Segundo Lugar	Tercer Lugar
Muestra A			
Muestra B			
Muestra C			

¿Por qué razón seleccionó esa muestra en Primer Lugar? Por favor detalle su respuesta lo más posible. (dejar bastante espacio)

AGRADECIMIENTO:

Deseamos expresar nuestro agradecimiento a todas las personas que han realizado amable y desinteresadamente el Test, sin su colaboración esta investigación no podría haberse llevado cabo. Muchas gracias por tomarse el tiempo para completar el Test.

10.14.2 Presentación de test a los consumidores

COMBINACIÓN	Código “QR”	Link
M1		https://forms.gle/52YdVw2dUrSZh3yWA
M2		https://forms.gle/ARxGKPoVRAQdNQPC6
M3		https://forms.gle/mmbaWEicwd9vR9ei6
M4		https://forms.gle/vhWwyMaju7SKJw9x6
M5		https://forms.gle/EMRte1rTVZedfP6Q8
M6		https://forms.gle/mRzDnBZ1RZ9wVKgw5

10.15 Evaluación sensorial con consumidores



Test con consumidores

10.16 Resultados de pruebas de múltiple rangos Tukey

Pruebas de Múltiple Rangos para Apariencia H. por Muestras

Método Tukey y una confianza de 95%

MUESTRA	N	Media	Agrupación
190°Cx25min	101	5,57426	A
180°Cx25min	101	5,37624	A
200°Cx25min	101	5,28713	A

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Pruebas de Múltiple Rangos para Aroma H. por Muestras

Método Tukey y una confianza de 95%

MUESTRA	N	Media	Agrupación
180°Cx25min	101	4,96040	A
190°Cx25min	101	4,95050	A
200°Cx25min	101	4,22772	B

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Pruebas de Múltiple Rangos para Sabor H. por Muestras

Método Tukey y una confianza de 95%

MUESTRA	N	Media	Agrupación
180°Cx25min	101	5,88119	A
190°Cx25min	101	5,59406	A
200°Cx25min	101	4,01980	B

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Pruebas de Múltiple Rangos para Textura H. por Muestras

Método Tukey y una confianza de 95%

MUESTRA	N	Media	Agrupación
180°Cx25min	101	5,60396	A
190°Cx25min	101	5,15842	B
200°Cx25min	101	4,68317	C

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Pruebas de Múltiple Rangos para Agrado General H. por Muestras
 Método Tukey y una confianza de 95%

MUESTRA	N	Media	Agrupación	
180°Cx25min	101	5,78218	A	
190°Cx25min	101	5,44554	A	
200°Cx25min	101	4,07921		B

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Pruebas de Múltiple Rangos para Intención de Compra J. por Muestras
 Método Tukey y una confianza de 95%

MUESTRA	N	Media	Agrupación		
180°Cx25min	101	0,871287	A		
190°Cx25min	101	0,534653		B	
200°Cx25min	101	-0,504950			C

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

10.17 Análisis de coordenadas principales.

