



Universidad de Valladolid

FACULTAD DE MEDICINA

ÁREA DE NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA

TRABAJO FIN DE GRADO EN NUTRICIÓN HUMANA Y DIETÉTICA

“PRESENCIA DE AMINAS HETEROCÍCLICAS EN CARNES Y DERIVADOS”

PRESENTADO POR: GLORIA ESTEFANY MARIN MUÑOZ

TUTORA: DRA. IRMA CARO CANALES

2016-2017

Contenido

1. RESUMEN	2
1. INTRODUCCIÓN.....	3
1.1 Generalidades	3
1.2 Estructura química	5
1.3 Toxicidad	6
1.4 Técnicas culinarias.....	9
2. OBJETIVOS.....	10
3. METODOLOGÍA.....	11
4. MECANISMOS DE FORMACIÓN DE LAS AMINAS HETEROCÍCLICAS EN LA CARNE.....	12
5. NIVELES DE AMINAS HETEROCÍCLICAS ENCONTRADOS EN LA CARNE Y DERIVADOS	16
5.1 Carne y preparados cárnicos cocinados.....	16
5.2 Productos cárnicos	17
5.3 Técnicas culinarias de la carne fresca, derivados cárnicos y formación de aminos heterocíclicos.....	18
5.4 Formación de aminos heterocíclicos durante la elaboración industrial de productos cárnicos	22
6. COMO PREVENIR LA PRESENCIA DE ESTAS SUSTANCIAS EN LOS ALIMENTOS	22
7. CONCLUSIONES	23
8. BIBLIOGRAFÍA.....	24

1. RESUMEN

Una buena nutrición es imprescindible para el ser humano, garantiza que llevamos a cabo correctamente todas nuestras funciones fisiológicas, previene enfermedades y en edades infantiles garantiza el crecimiento y desarrollo óptimo del individuo.

Pero la nutrición va más allá del mero hecho de consumir alimentos, requiere la aplicación de una serie de técnicas culinarias sobre los productos alimenticios que logran su transformación y por ende facilitan su consumo, estas modificaciones sufridas por el alimento muchas veces resultan derivando en formación de sustancias tóxicas para el organismo, como por ejemplo las aminas heterocíclicas, dichas sustancias serán el tema principal de este trabajo.

Se ha realizado una revisión bibliográfica de este tema en bases de datos como lo son Pub-Med, Universidad de Harvard, google académico. Arrojando una variedad de artículos de los que se han tenido criterios de selección como: año de publicación, tipo de carne estudiada.

El objetivo es concluir si existe una relación verdadera entre la formación de aminas heterocíclicas en los alimentos, las técnicas culinarias utilizadas para su cocción y el posible desarrollo de patologías como el cáncer derivadas del consumo de estas sustancias.

Palabras clave: técnicas culinarias, aminas heterocíclicas, cáncer, carne roja.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Generalidades

La presencia de compuestos tóxicos en los alimentos puede tener diversos orígenes: microbiano, como las micotoxinas, contaminación por el ambiente o material de envase, como los PBCS, y formación a partir de componentes de los alimentos “precursores” durante su almacenamiento y procesado, especialmente por el tratamiento térmico. Entre éstos últimos encontramos las aminas heterocíclicas (AHs). Aunque estos compuestos se encuentran en el medio ambiente, la principal fuente de exposición para los humanos es la ingesta de algunos alimentos, especialmente aquellos contienen mayor cantidad de proteínas y que han sufrido un tratamiento térmico intenso.

Las aminas heterocíclicas se detectaron en los alimentos procesados con calor, en el año 1977 cuando fueron extraídas de sardinas asadas por el doctor Takashi Sugimura. Años más tarde se demostró que eran potentes mógatenos y que su administración podía inducir a la formación de tumores en animales de laboratorio ⁽¹⁾.

Desde entonces las aminas heterocíclicas han sido la base de diferentes estudios que abarcan diversos campos como su formación, su toxicidad in-vivo e in-vitro entre otros campos. En numerosos estudios, como se verá a continuación, se relaciona la presencia de las aminas heterocíclicas en alimentos con enfermedades crónicas, especialmente con diversos tipos de cáncer.

El aspecto más relevante de muchas investigaciones recientes ha sido comprender y hallar los niveles de AHs en los alimentos con el fin de establecer una ingesta segura de estos compuestos, a partir de dichos niveles y datos de consumo ^(2, 6, 4,3) ver Tabla 1.

Los alimentos en las que más AHs se desarrollan son los alimentos ricos en proteínas como: Carne de cerdo, ternera, buey, pollo, cordero y pescados, además también pueden estar presentes en cereales y productos de panadería. La principal vía de formación parece ser la reacción entre la creatinina o los aminoácidos y los azúcares ⁽⁵⁾. También se han detectado en alimentos precocinados, en extractos de carne, aromatizantes comerciales y en los residuos que quedan en las sartenes o planchas después de la cocción e incluso en bebidas alcohólicas como vino y cerveza. ⁽⁶⁾

Tabla: 1. Estudios relacionados con la formación de aminas heterocíclicas en alimentos

Nombre estudio	Alimento estudiado	Parámetros estudiados	Conclusión	Referencia
Revisión y meta-análisis de estudios prospectivos sobre la carne roja y procesada, métodos de cocción de carne, aminas heterocíclicas y su relación con cáncer de próstata	<ul style="list-style-type: none"> Carne roja Carne procesada 	Realizaron búsquedas bibliográficas para identificar la posible relación que habría entre el consumo de carnes rojas y procesadas con la aparición de cáncer de próstata.	El consumo de carne roja o procesada no está asociado con el aumento del riesgo de sufrir cáncer de próstata.	Bylsma et al. (2015)
Nuevas herramientas para evaluar la toxicidad, la bioaccesibilidad y la absorción de contaminantes químicos en la carne y los mariscos.	<ul style="list-style-type: none"> Carne Mariscos 	Revisión bibliográfica en la que se analizaron la información que arrojan las herramientas existentes en cuanto la relación de hábitos de cocción con el desarrollo de tóxicos y su implicaciones en la salud humana		Marques et.al. (2010)
Métodos de cocción y formación de PhLLIP (2-Amino, 1-metilo, 6-fenilimidazo [4, 5-b] piridina) en la corteza de la carne consumida habitualmente en la Argentina	<ul style="list-style-type: none"> Carne roja cerdo pollo Pescado 	Estudio en el cual se estimaron los niveles de moléculas carcinogénicas formadas a partir de diferentes técnicas culinarias como plancha parilla, sartén.	Concluyeron que cocinar la carne en porciones pequeñas y tiempos más cortos reduce la aparición de aminas heterocíclicas, y que era importante mejorar las técnicas de cocción para evitar la formación de compuestos tóxicos.	Reartes et al. (2015)
Influencia de las técnicas de cocción caseras en la formación de la reacción de	<ul style="list-style-type: none"> Carne roja Derivados cárnicos 	En este estudio se analizó la influencia de los métodos de cocción caseros en	Una vez medido los resultados de la progresión de la reacción de maillard,	Trevisan et al. (2015)

Maillard en la carne de vacuno.	la carne de vacuno y su relación con la generación de la reacción de maillard.	predomina en la carne asada y frita, al contrario de la carne hervida en la que se pudieron apreciar los niveles más bajos.
--	--	---

Fuente: elaboración propia

1.2 Estructura química

Dependiendo del mecanismo de generación y de los precursores, las aminas heterocíclicas se pueden clasificar en dos grandes grupos, las carbolinas y los aminoimidazoazarenos.⁽⁶⁾

Las carbolinas conocidas también como aminas pirolíticas, se forman cuando las temperaturas sobrepasan los 200-300 °C por pirolisis de aminoácidos o proteínas vía reacciones radicalarias y reacción por radicales libres⁽⁷⁾. Como se puede apreciar en la Figura 1, estas aminas contienen en su estructura grupos piridoindol (Trp-P-1, Trp-P-2, A C, MeA C, harman, norharman) o piridoimidazol (Glu-P-1, Glu-P-2).

Los aminoimidazoazarenos es el segundo gran grupo, también llamado aminas térmicas y se forman al cocinar alimentos ricos en proteínas a una temperatura superior a 100-150 °C⁽⁷⁾. Estas se producen cuando una mezcla de creatina, creatinina, azúcares y aminoácidos se calienta⁽⁷⁾. Todas ellas contienen en su estructura el grupo 2-aminoimidazo y una quinolina IQ, MeIQ), una quinoxalina (MeIQx, DiMeIQx) o un anillo de piridina (PhIP, DMIP). Generalmente los aminoimidazoazarenos son compuestos algo más polares que las carbolinas⁽⁶⁾.

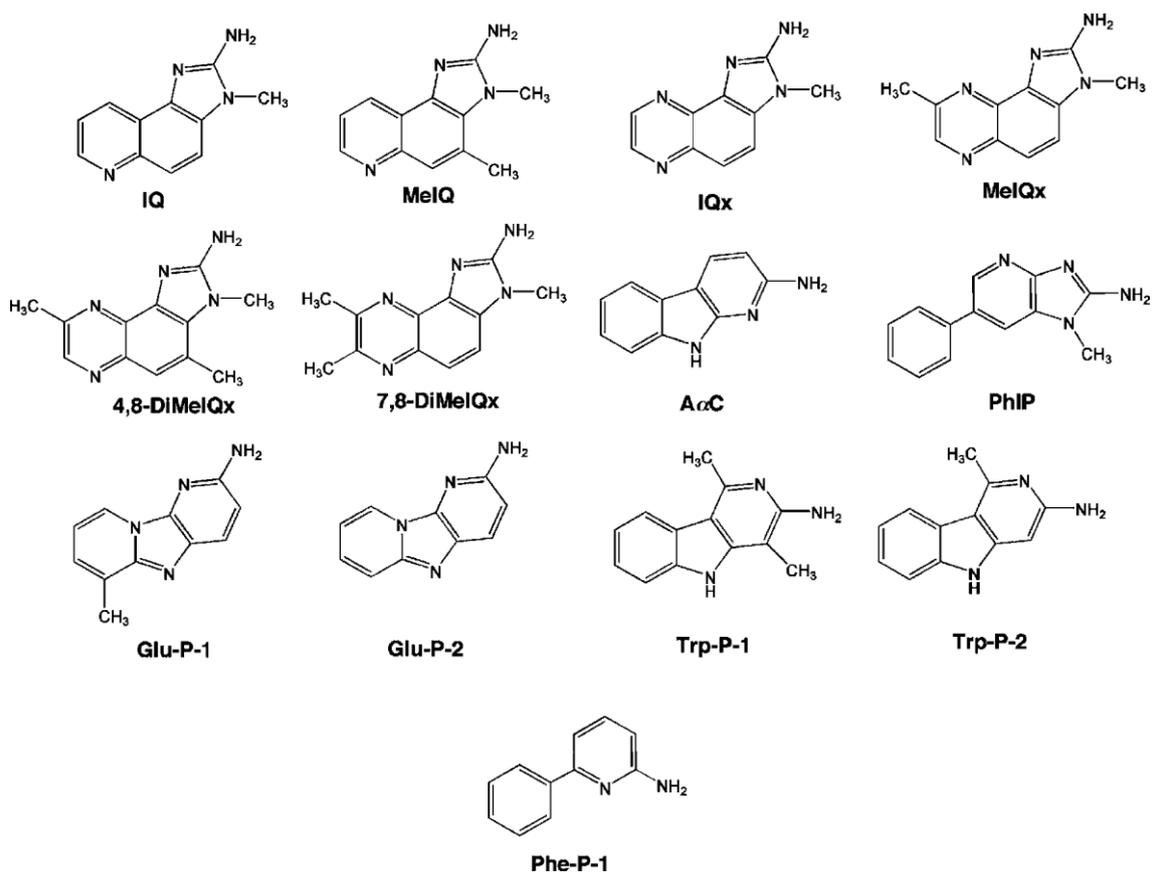


Figura 1. Algunas amina heterocíclicas encontradas en los alimentos. Fuente: (Kim et al., 2005)

1.3 Toxicidad

Es conocido que la dieta juega un rol muy importante en la etiología y prevención del cáncer y otras enfermedades neurodegenerativas. Así mismo, es sabido que la dieta es la principal fuente de exposición humana a compuestos tóxicos carcinógenos y/o mutágenos ambientales, constituyendo, por tanto, un vehículo de entrada en el organismo ^(8,29). Las sustancias carcinógenas pueden actuar ya sea induciendo lesiones mutagénicas en las células o bien actuando como promotores, estimulando el desarrollo del cáncer ya iniciado. Los carcinógenos generalmente no son nutrientes. Es el caso de algunos compuestos que se forman durante la manipulación de los alimentos, ya sea durante su conservación, cocinado, por sustancias producidas en la actividad industrial, o bien sustancias que se incorporan a los alimentos a través del aire o el agua. Sin embargo, otras veces se trata de tóxicos que acompañan habitualmente la dieta humana, como por ejemplo el alcohol.

Los estudios de laboratorio han identificado una gran variedad de mutágenos y carcinógenos que se encuentran de manera natural en los alimentos, entre los que

destacan los hidrocarburos aromáticos policíclicos, las aminas heterocíclicas, las nitrosaminas, las micotoxinas, los metales pesados o hexaclorobenceno, entre otros.

Las AHs se generan en los alimentos, principalmente alimentos proteicos como la carne, al ser cocinados. Se han llegado a detectar alrededor de 20 tipos de AHs en los alimentos demostrándose que poseen propiedades carcinogénicas/mutagénicas ⁽⁸⁾.

A partir de estudios epidemiológicos se ha identificado consistentemente a las AHs, especialmente las PhIP, IQ, DiMeIQx, y MeIQx, como tóxicos que pueden provocar cáncer en los humanos. De acuerdo a la Agencias de Investigación del Cáncer PhIP, DiMeIQx, y MeIQx, se encuentran en el grupo de 2B, siendo consideradas como posiblemente cancerígenas para el hombre. Mientras que la amina IQ, se encuentra en el grupo 2A como probablemente cancerígena para el hombre ⁽¹⁰⁾. Además de la evidencia de su acción carcinogénica, también existe evidencia que produce envejecimiento de la piel, inflamación, aterosclerosis y trastornos neurodegenerativos ⁽³⁸⁾.

La toxicidad de estos compuestos se ha puesto de manifiesto gracias a la experimentación animal o a estudios de casos y controles o cohorte, en donde se ha podido determinar el riesgo de provocar cáncer de colon, recto, vejiga, riñón o mama, entre otros, con el consumo de altos niveles de aminas heterocíclicas en la dieta ^(31, 32, 33, 11, 34)

Las aminas heterocíclicas requieren activación metabólica para ser cancerígenas o mutagénicas ⁽¹⁹⁾. El principal proceso metabólico para llevar a cabo la activación de estos compuestos es la N- oxidación (Figura 2). La cuál es llevada a cabo en primer lugar por las enzimas de complejo citocromo P450, aunque también puede intervenir otras enzimas como son la flavin monooxigenasas y las peroxidases. Los productos obtenidos en esta etapa son N-hidroxil de la amina heterocíclica. Estos compuestos pueden ser activados para producir derivados de esteres que son altamente reactivos y que se unen covalentemente al DNA. Se conocen al menos cuatro sistemas de enzimas en mamíferos que pueden llevar a cabo esta activación secundaria, entre las que encontramos a la N-acetil-transferasa, la sulfo-transferasa, a la prolil-tRNA sintetasa y a la quinasa, dando como productos de esta etapa el N-acetoxi, N-sulfoniloxi, N-proliloxi and N- fosfatil esteres, respectivamente.

Las aminas heterocíclicas pueden unirse o reaccionar directamente con ADN, pero la reacción es facilitada cuando los derivados de esteres, compuestos muy reactivos, por ejemplo el N-acetoxi de la de la amina heterocíclica sufren una escisión formando el

ion nitrógeno en la amina heterocíclica, el cuál reacciona más fácilmente con el DNA formando aductos. La acetilación catalizada por la N-acetil-transferasa de la N-hidroxi amina heterocíclica incrementa la actividad genotóxica y la formación de aductos en el DNA. De la misma forma actúan los ésteres de sulfuro formadas por la acción de la sulfotranferasas que son muy estables y reaccionan con el ADN ⁽²⁶⁾.

Las aminas heterocíclicas producen aductos en primer lugar con la guanina al reaccionar con el N2 con el carbono 8, así mismo se ha observado que los amidazo derivados IQ, MeIQx y el PhIP se unen al ADN para forma aductos como al especies de N-acetoxi, esto indica que el ion nitrógeno podría ser un intermediario usado tanto para el N-acetoxi y los azide derivados.

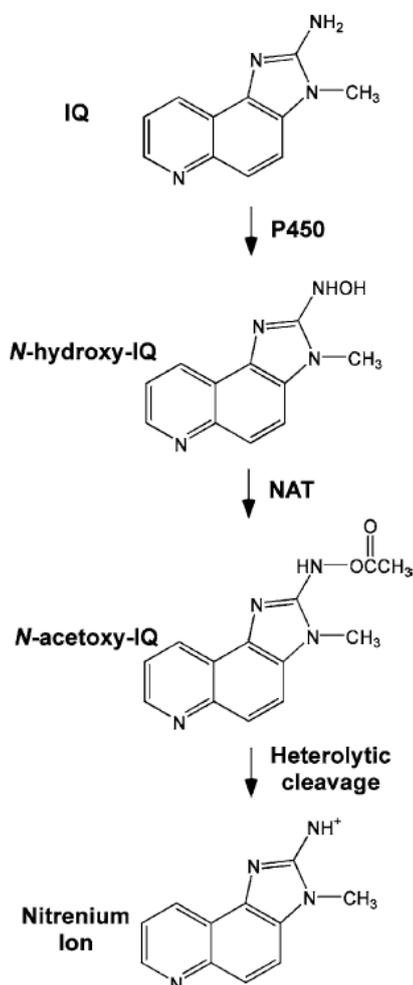


Figura 2. Ruta metabólica de activación aminas heterocíclicas, en este caso ejemplo de la IQ. (Fuente Kim et al., 2005)

1.4 Técnicas culinarias

A groso modo la tecnología culinaria es una parte de la tecnología de los alimentos que se ocupa de todos los procesos y operaciones, que son de aplicación necesaria para que los ingredientes alimenticios puedan ser transformados de modo adecuado en platos elaborados, aptos para el consumo (Bello, 1998). La cocción de los alimentos conlleva cambios en sus ciertos aspectos básicos: color, sabor, textura, valor nutritivo, inocuidad y volumen. La intensidad de estos cambios va depender del tipo de técnica culinaria utilizada, así como el tiempo, temperatura y medio de cocción. Según el mecanismo de transmisión de calor a los alimentos podemos encontrar dos grandes grupos de técnicas; aquellas que transmiten el calor a través de un líquido o gas (agua, aceite y vapor) y aquellas que transmiten el calor por contacto directo ⁽³⁷⁾. De forma general los métodos de calentamiento en la cocina los podemos clasificar en:

- *Húmedo*: cocción en agua, en olla a presión, en vapor y fritura.
- *Seco*: horneado, rostizado, microondas, grill.
- *Mixto*: *Braseado y estofado*

El calentamiento es un aumento de temperatura por un tiempo determinado, que generalmente provoca cambios químicos irreversibles en los alimentos, debido a que se altera sus macros y microcomponentes. A partir del calentamiento especialmente usando técnicas culinarias de calor seco se producen diversos cambios en el alimento como son la reacción Maillard y la caramelización de los azúcares. Estos cambios derivados del calentamiento del alimento, por un lado permiten desarrollar sabores, aromas y colores atractivos y por otro lado, también se pueden producir compuestos tóxicos, como los hidrocarburos aromáticos policíclicos, la acrilamida, las aminas heterocíclicas entre otros ⁽²⁸⁾. Entre las principales técnicas culinarias utilizadas en la cocción de la carne encontramos ^(37, 28, 26).

Cocción en medio acuoso o hervido

Es el sistema de calentamiento más utilizado, se emplean un medio transmisor eficiente, disponible, barato e inocuo. La alta conductividad que genera el agua facilita la transferencia de energía y la máxima temperatura que se alcanza es la de ebullición 100 °C, este tipo de técnica se utiliza para la cocción de vegetales y carnes duras ricas en colágeno. El contacto con el agua provoca una extracción de compuestos hidrosolubles, como pigmentos, vitaminas y minerales. ⁽²⁸⁾

✚ **Cocción con vapor**

El vapor no es tan buen conductor de calor como el agua, esta técnica es utilizada para la cocción de pescados, pollo y verduras, últimamente se ha incrementado su uso, como alternativa al consumo de fritos. El calentamiento del agua genera vapor, que cocerá al alimento sin que este entre en contacto con el agua y por esto se evita la pérdida de vitaminas y minerales.

✚ **Fritura**

La temperatura alcanza esta técnica es de los 180°C o más, estas condiciones extremas son posibles gracias a que el aceite es un potente transmisor de calor. La alta temperatura del aceite hace que el agua externa del alimento se vaporice de inmediato, a menor temperatura de fritura, mayor tiempo de contacto y más absorción de aceite. Esta técnica es posiblemente, una de las técnicas que pueden formar una corteza en la superficie del alimento.

✚ **Horneado o asado al horno**

Es una técnica culinaria de calor seco y se lleva a cabo con corrientes de aire caliente de baja conductividad térmica y densidad. La deshidratación de los alimentos en el horno se lleva a cabo entre los 250°C y 260°C, también es una técnica en la que se desarrolla adecuadamente la reacción de Maillard y la caramelización. Esta técnica está indicada para alimentos como carnes suaves que mantienen su humedad interna, verduras entre otros alimentos.

✚ **Rostizado, parrilla y barbacoa (aplicación de calor con fuego directo)**

De todos los métodos de cocción estos son los que alcanzan mayores temperaturas por la combustión de la madera o gas y a la que se exponen directamente los alimentos. El calor se transfiere principalmente por radiación y un poco por convección a través del aire que separa el alimento de la fuente calórica. Durante la cocción de los alimentos con esta técnica también pueden producirse diversos compuestos considerados como tóxicos.

2. OBJETIVOS

En una publicación reciente de la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer ⁽⁸⁾, avalada por la Organización Mundial de la Salud, se ha relacionado la ingesta de carne y derivados con diversos tipos de cáncer, considerando la carne roja como alimento probable carcinogénico para el ser humano (Grupo 2^a)⁽²¹⁾. Una de las explicaciones de dicha relación es la eventual presencia en carne cocinada

de una serie de aminas heterocíclicas, compuestos tóxicos, algunos de ellos con una elevada acción mutágena. El estudio de revisión bibliográfica que se presenta a continuación, aborda a las aminas heterocíclicas como compuestos cancerígenos en la carne y derivados, tiene como objetivos principales los siguientes:

- 1) Poner de manifiesto las cantidades de aminas heterocíclicas detectadas en la carne y derivados.
- 2) Relatar cómo y cuánto se forma de aminas heterocíclicas durante el cocinado y procesado de la carne, incluyendo el efecto de la composición de la carne y las condiciones de cocinado/procesado sobre dicha formación.

3. METODOLOGÍA

La introducción (subcapítulo 1) se ha realizado a partir de búsquedas en Google Académico obteniendo información científica de carácter básico e introductorio con palabras clave “revisión aminas heterocíclicas”, “aminas heterocíclicas” + “carne” o + “productos cárnicos” o “cáncer” y sus homólogos en inglés. Par los subcapítulos 3 en adelante (la revisión bibliográfica propiamente dicha) centrados en la carne y derivados, se ha recurrido a las bases de datos Pubmed: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>, Google Académico: <https://scholar.google.es/>, y Nutrient Source de Harvad University: <https://www.hsph.harvard.edu/nutritionsource/> usando como palabras clave “Heterocyclic amines” and “meat”, “ Heterocyclic amines” and “cooked meat“, “Heterocyclic amines and “cooking”, “Heterocyclic amines” and “formation”, “Heterocyclic amines and culinary techniques”.

El total de artículos obtenidos mediante la búsqueda utilizando las palabras clave anteriormente mencionadas fueron para:

1. Pubmed un total de 987 artículos. En esta base de datos se aplicaron dos filtros; “humanos” “procesos de cocción”, los artículos obtenidos a partir de estos filtros fueron 10.
2. Google Académico se obtuvo un total de 48, de los cuales se seleccionaron 5.
3. Scieendirect se obtuvo un total de 58 artículos de los cuales se seleccionaron 15
4. Nutrient Source de Harvad University, se obtuvieron 12 de los cuales se seleccionaron

Para la selección de artículos, el procesado de información y redacción ha seguido como guía los trabajos de Girao *et al.*, (2008) y Gómez-Luna *et al.* (2014). Brevemente, los criterios usados para la selección de los artículos utilizados en esta revisión han sido el año de publicación y el tipo de carne estudiada, especialmente dirigida a la carne ternera, pollo y cerdo.

4. MECANISMOS DE FORMACIÓN DE LAS AMINAS HETEROCÍCLICAS EN LA CARNE

Durante el cocinado de la carne tiene lugar una serie de reacciones en la que están implicados los azúcares, lípidos y aminoácidos, englobadas en el conjunto de las reacciones de Maillard mediante las que se originan numerosos compuestos. Entre esos compuestos están las AHs, compuestos con al menos un anillo heterocíclico con átomos de N y C, unido a un grupo amino. Además de a través de la reacción de Maillard, como se verá a continuación, las AHs también se forman por otros mecanismos. En la Tabla 2, se muestra la relación de las principales AHs detectadas en los alimentos así como sus precursores.

Tabla 2. Principales tipos de aminas heterocíclicas y sus precursores.

Acrónimo	Amina heterocíclica	Precursores
<i>Quinolinás</i>		
IQ	2-amino-3-metil-3H-imidazo [4,5-f] quinolina	Creatinina, glicina, fenilalanina, serina, prolina, fructosa glucosa
MeIQ	2-amino-3,4-dimetil-3H-imidazo[4,5-f]quinolina	Creatinina, alanina, fructosa
<i>Quinoxalinas</i>		
MeIQx	2-amino-3,8-dimetil-3H-imidazo[4,5-f] quinoxalina	Creatinina, glicina, alanina, treonina, lisina, fructosa, glucosa, ribosa.
PhIP	2-amino-1-metil-6-phenyl-imidazo-[4,5-b] piridina	Creatinina, fenilalanina, glucosa
IQx	2-amino- 3-metil-3H-imidazo [4,5-f] quinoxalina	

DiMeIQx	2-amino-3,4,8-trimetil-3H-imizado[4,5-f] quinoxalina	Creatina, glicina y glucosa
<i>Piroindioles α-carbolinas</i>		
AαC	2-amino-9H-pirido[2,3-b]indol	Globulina de semilla de soja
MαAC	2-amino-3-metil-9H-pirido [2,3-b] indol	Globulina de semilla de soja
<i>Piroindioles β-carbolinas</i>		
H	1-metil-9H-pirido [3,4-b] indol	
NH	9H-pirido[3,4-b]indol	

Fuente: elaboración propia, (Galcerán, 2001; Kondjoyan et al., 2014)

En la carne cocinada se han detectado más de 20 AHs ⁽²⁵⁾ y su formación se ve incrementada cuando el calentamiento al que se somete la carne (tiempo y temperatura) es más intenso. Algunas AHs se forman mediante la reacción de productos de degradación de aminoácidos con azúcares y creatina relacionados con la reacción de Maillard. Estas se forman en cantidades apreciables cuando la temperatura de cocción excede los 150 °C. Otras se generan mediante pirolisis de aminoácidos, para lo que se requieren temperaturas superiores, por ejemplo 250 °C. La formación de AHs durante el cocinado de la carne y los productos cárnicos no solo depende del calentamiento sino que también está influida por la proporción los sustratos de las reacciones indicadas, que a su vez dependen la cantidad de proteína, grasa, agua, azúcares y aminoácidos. Se ha puesto de manifiesto una relación directa entre la cantidad de aminoácidos y las AHs y en lo que a los azúcares se refiere su presencia es fundamental para que se lleve a cabo la formación de AHs.

Reacción de Maillard

Se cree que la reacción de Maillard que tiene lugar en el cocinado de la carne tiene un papel fundamental en la formación en la misma de una serie de AHs (más de una decena). Los tipos químicos de estas AHs son imidazoquinolinas, imidazoquinoxalinas e imidazopiridinas ⁽¹⁷⁾. Estos están considerados como agentes extremadamente mutagénicos. Todas ellas tienen un grupo 2-amino-imidazol y un grupo metilo unido a uno de los nitrógenos del anillo imidazol. Se piensa que esta parte de la molécula se

origina de la creatina y se une a una quinolona (IQ o MeIQ), a una quinoxalina (IQx, MeIQx, DiMeIQx o TriMeIQx) o a una piridina (PhIP, 4b-OH-PhIP, DMIP o TMIP). El grupo 2-amino-imidazol es determinante en su actividad mutagénica, así como el número y posiciones de los grupos metilo en el anillo.

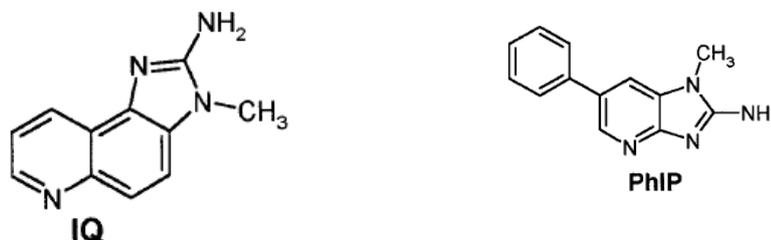


Fig. 2. Ejemplo de imidazoquinolona (izquierda) y imidazopiridina (derecha), donde se observa el anillo imidazol con los grupos amino y metilo (Fuente: Jägerstad et al., 1998; Rannou et al., 2016).

Una vía de formación propuesta para IQ e IQx es la siguiente (Fig X+1): a partir de la creatina se forma la fracción amino-imidazol de la molécula por ciclización y eliminación de agua. La otra parte de la molécula proviene de productos de la degradación de Strecker como las piridinas o piracinas originados a partir de compuestos formados por reacción de Maillard. Posteriormente, ambas partes se unirían mediante una condensación aldólica, con la intervención de un aldehído ^(17, 26). De forma similar, la PhIP se generaría a partir de la fenilalanina y la creatina como precursores. También se han sugerido vías metabólicas mediadas por radicales libres, que igualmente dependen de la reacción de Maillard pues implican la formación de radicales libres de la piridina y piracina ^(17, 14). Además se ha sugerido que los compuestos derivados de la oxidación lipídica pueden interaccionar con los de la reacción de Maillard para formar las AHs ⁽³³⁾.

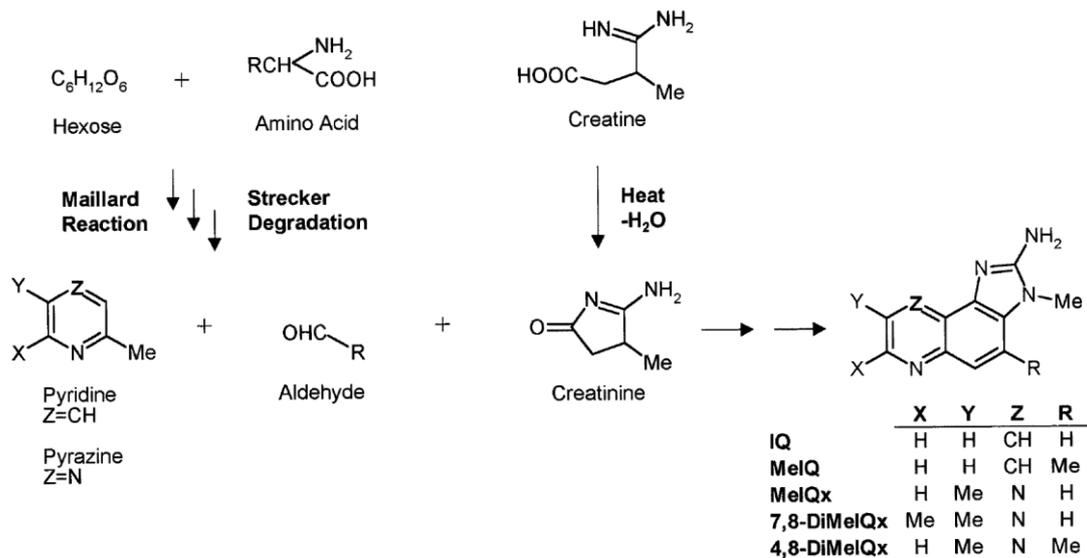


Figura 3. Ruta sugerida para la formación de algunas aminas heterocíclicas a partir de una hexosa, un aminoácido y la creatina donde se vincula a la reacción de Maillard y la degradación de Strecker (Fuente: Jägerstad et al., 1998).

Pirólisis

A partir de la pirólisis de aminoácidos (triptófano, ácidos glutámico, lisina, fenilalanina u ornitina), la creatina, péptidos o proteínas se forman AHs. Las AHs formadas por esta vía son generalmente amino-carbolinas que tienen un grupo amino exocíclico y un grupo metilo también exocíclico unido a un anillo de piridina que a su vez está unido a una fracción indólica o a imidazólica. Aunque pueden formarse también AHs como las b-carbolinas que no tienen el grupos amino y metílico exocíclicos ⁽¹⁷⁾. La formación via pirolisis tiene lugar mediante un mecanismo radicalario cuyas reacciones parecen estar poco esclarecidas. Los radicales formados a partir de los sustratos condensarían para formas nuevas estructuras heterocíclicas: las amino-carbolinas y b-carbolinas. Estas AHs tienen menos capacidad mutagénica que las formadas por reacción de Maillard.

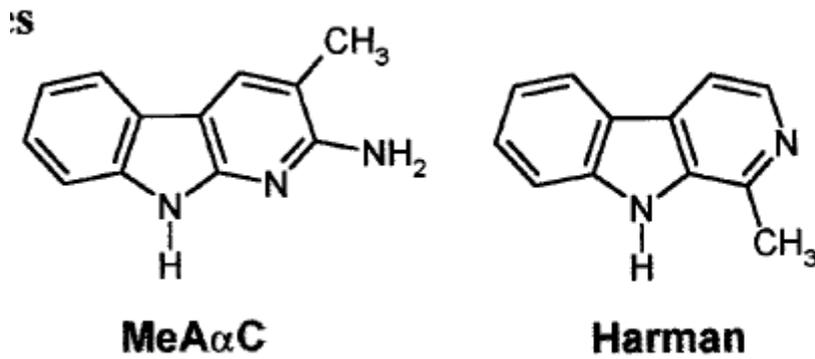


Figura: 4. 2-amino- α -carbolina (izquierda), se observa el grupo metilo y amino exocíclicos unidos al anillo de piridina que a su vez está unido a una fracción indólica, y b-carbolina, sin grupo amino exocíclico (derecha); Fuente (Jägerstad et al., 1998).

Reacciones:

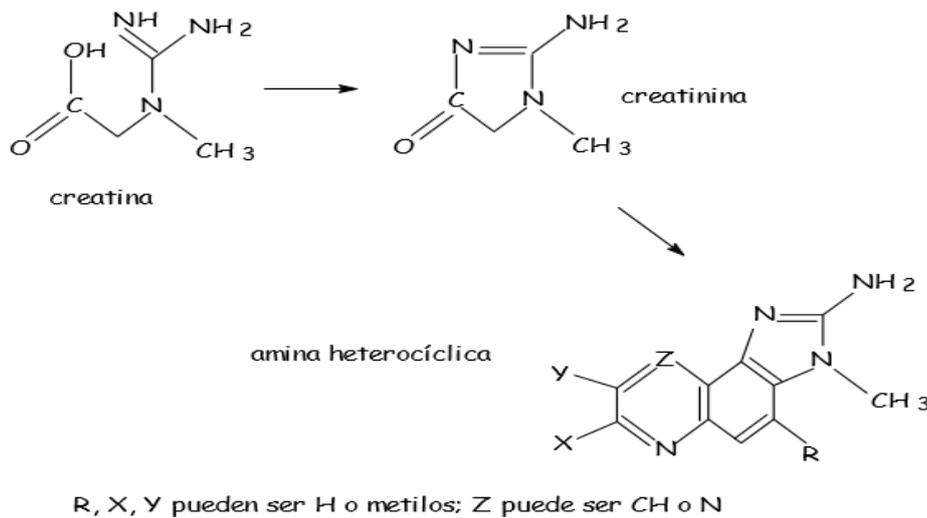


Fig. 5 Mecanismo de formación de amino-carbolina a partir de la creatina (Fuente: Galceran; 2002)

5. NIVELES DE AMINAS HETEROCÍCLICAS ENCONTRADOS EN LA CARNE Y DERIVADOS

5.1 Carne y preparados cárnicos cocinados

Las AHs se han determinado en distintos tipos de carnes cocinadas como la ternera, el cerdo y aves de corral y preparados cárnicos como hamburguesas, carne marinada o salchichas frescas (5, 9, 1, 17, 20, 33, 7, 14). Las AHs más estudiadas son PhIP, MeIQx, 4,8-DimMeIQx e IQm. Algunos estudios también determinan los valores de otras HAS como A α C, H y NH. Los niveles encontrados de AHs en la carne y preparados

cárnicos cocinados son muy variables. Teniendo en cuenta los estudios revisados, las cantidades determinadas van desde ausencia hasta casi 400 ng/g. No obstante, normalmente los valores de AHs en carne cocinada no superan los 40 ng/g y el contenido medio aproximado se puede estimar en unos pocos ng por g de carne cocinada. La principal HA por su abundancia fue con diferencia PhIP, seguida por MeIQx, 4,8-DiMeIQx e IQm. La variación en las cantidades descritas dentro y entre los estudios consultados se ha atribuido tanto a diferencias en el tipo de carne, el método de cocinado y la metodología analítica utilizada para su detección. Las cantidades más elevadas corresponden a muestras de carne a la parrilla, a la barbacoa y a la plancha.

5.2 Productos cárnicos

También se ha determinado el contenido en AHs en productos cárnicos, aunque con menos frecuencia que en la carne cocinada. Los productos cárnicos comprenden una serie de derivados de la carne como los productos crudos curados (jamón serrano, salchichón, etc.) o los productos cárnicos tratados por el calor (jamón cocido, salchicha cocida, morcilla o conservas cárnicas). La mayoría de estudios analizan productos cárnicos que han sido cocinados antes de su consumo como las salchichas tipo Frankfurt, bacón o jamón cocido ^(20, 14). Las cantidades medias descritas para estos productos parecen inferiores a las de la carne; normalmente están por debajo de 2 ng/g. Cabe resaltar, no obstante, que el producto cárnico donde se han apreciado mayores cantidades de AHs es el bacon frito, con niveles variables comprendidos entre menos de 1 ng/g a 106 ng/g de la principal AH (PhIP). Esta gran variabilidad podría ser función de la intensidad de cocinado (fritura). También se han estudiado los extractos de carne, usados como ingrediente en la cocina, encontrando en el mayor de los casos cantidades de AHs de hasta 46 ng/g (suma de PhIP y MeIQx) ^(18, 14).

Las cantidades de AHs en productos cárnicos listos para consumo como peperoni, mortadela o jamón cocido es normalmente baja. Los valores del límite superior del rango descrito en los estudios consultados fueron de 0,88-1,2 ng/g de la suma de PhIP y MeIQx y raramente superaron los 0,5 ng/g en la suma de HAs ^(18, 19) En el trabajo de Jakszyn et al. (2004) se hace referencia a un libro donde se recoge las cantidades de AHs en una gran variedad de carne y productos cárnicos recabadas de publicaciones que incluyen diversos orígenes geográficos, tipos de cocinado de carne y de procesado, indicando cuando fue posible las condiciones usadas para el cocinado. El libro puede descargarse en la dirección <http://www.epic-spain.com/libro.html> (Jakszyn et al., 2004).

Para finalizar cabe resaltar que pese a la potencial toxicidad de algunas AHs no existen límites legales o recomendaciones sobre las cantidades tolerables o permitidas de AHs en la carne cocinada, que pueda servir de orientación o guía a consumidores o agencias responsables de la inocuidad alimentaria ⁽²⁶⁾.

5.3 Técnicas culinarias de la carne fresca, derivados cárnicos y formación de aminos heterocíclicos

La cocción de la carne es fundamental para asegurar su conservación. Con ella eliminamos microorganismos patógenos y mejoramos las propiedades sensoriales como el sabor y el aroma. Sin embargo, el tratamiento térmico puede desencadenar algunas modificaciones negativas no intencionadas en el alimento tales como la pérdida de aminoácidos, formación de sabores y olores indeseables y síntesis de compuestos tóxicos como las AHs ⁽²⁾. Diversos estudios indican que la formación de AHs en los alimentos cocinados depende de diversos factores como:

a) Los relacionados con la composición de la carne, actividad de agua, pH, el contenido de grasa, tiempo de maduración de la carne o ingredientes no cárnicos añadidos a la carne, entre otros, y b) el método de cocinado, incluyendo la técnica culinaria, el tiempo y la temperatura, ^(3, 11, 1).

En relación al primer grupo de factores, se ha observado que valores de actividad de agua bajos 0,5 y 0.8, pH elevados > 8, o tiempos largos de maduración de la carne incrementan la formación de AHs ^(26, 4). Respecto a la cantidad de grasa en la carne, por un lado, puede potenciar la formación de estos compuestos debido que implica alcanzar una mayor temperatura durante la cocción de la carne, pero por otro lado podrían disminuir su formación al no ser fuente de aminoácidos. El contenido en vitamina E de la carne, que depende a su vez de la ingesta de los animales de partida, debido a su papel antioxidante, podría estar relacionado con una disminución en la formación de AHs.

De acuerdo con Mesa et al. (2013) las AHs se forman en principalmente en alimentos que contienen un alto contenido proteico y cocinados a elevadas temperaturas y cuando coinciden de forma simultánea la presencia creatina, azúcares y aminoácidos.

Además de lo dicho, algunos ingredientes usados para cocinar carne cuyo uso puede disminuir la formación de las AHs durante el cocinado son el ajo, el romero, el vino, los

sulfitos que inhiben la formación de AHS, al ser inhibidores de la reacción de Maillard y al dificultar la formación de compuestos intermediarios durante esa reacción ⁽⁵⁾.

En el ámbito de la investigación, no en el de la práctica culinaria, la adición de vitaminas hidrosolubles como la B1, B3, B6 y B7 pueden ser inhibidores de la reacción de Maillard, específicamente la piridoxina ha demostrado inhibir la formación PhIP debido a que inhiben la formación fenil-acetaldehído, producto intermedio del PhIP ⁽¹⁵⁾. También el tratamiento con creatinasa para eliminar la creatina o la adición de azúcares y antioxidantes han mostrado efecto reductor en la formación de AHS al cocinar la carne ⁽¹⁶⁾.

En lo que respecta al cocinado, la formación de AHS en la carne se incrementa considerablemente al alcanzarse temperaturas superiores a 150 °C. Por el contrario, la formación de estos compuestos a temperaturas que no superen o cercanas a 100 °C es prácticamente nula o inexistente ⁽²⁾. Según Skog et al. (Carcinogenic heterocyclic amines in model systems and cooked foods: A review on formation, occurrence and intake. 1998), las AHS en la carne se pueden formar ya a temperaturas por encima de 90 °C en carnes que han sufrido un proceso de maduración. De acuerdo con Kondjoyan et al. (Towards models for the prediction of beef meat quality during cooking 2014) la velocidad de formación de estos compuestos se incrementa con la temperatura y se alcanzan altas cantidades entre 150 y 200°C, temperaturas que son las comúnmente usadas para la barbacoa y la parrilla, el asado de la carne en el horno y la plancha. Por el contrario, Solyakov et al. (2002) indican que el cocinado de la carne con vapor o por ebullición, con formación o sin formación previa de corteza, produce una baja formación de las aminas heterocíclicas. En la Tabla 3, se muestran fotos de hamburguesas cocinadas por distintas técnicas y hasta determinadas temperaturas interiores, apreciando la costra superficial más o menos oscura, tostada o quemada.

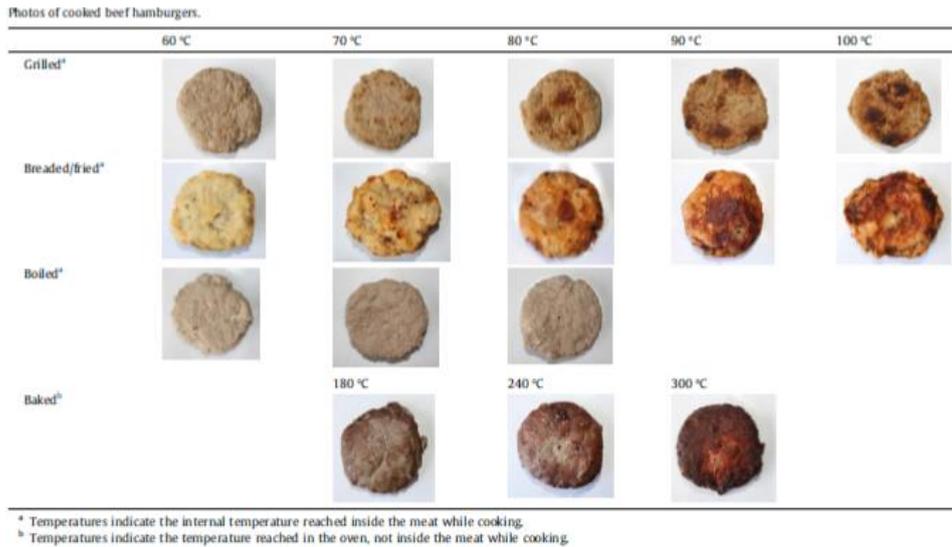


Tabla 3. Fotos de la superficie de hamburguesas cocinadas por distintas técnicas culinarias hasta llegar a diferentes temperaturas en el interior del producto (Fuente: Trevisan et al., 2016)

En el estudio realizado por Reartes et al. (In The crust of the habitually consumed meat in Argentina. Food Chem Toxicol. 2016), en el que se cocinó la carne usando varias técnicas culinarias hasta que se formó en todos los casos corteza en su superficie, se observó que el cocinado a la plancha (método de cocinado por conducción y que se caracteriza por que la transmisión de calor seco por conducción, por contacto directo entre una superficie caliente y otra más fría) fue el proceso de cocción que alcanzó las temperaturas más altas, hasta 275 °C, en la superficie de la carne, respecto el cocinado a la brasa, la fritura en sartén o el horno. Así mismo, estos autores observaron que las carnes que contenía mayor cantidad de grasa, también fueron las que alcanzaron las temperaturas más elevadas durante su cocinado. El contenido máximo de PhIP encontrado por estos autores en carne fue en la ternera cocinada a la plancha: 341 ng/g. Los resultados de estos autores indican que el uso de la plancha como método de cocinado debe ser reducido en tiempo para evitar la formación de AHs. La PhIP es una de las principales sustancias mutagénicas formadas durante la cocción de la carne a altas temperaturas ^(12.) El uso de otras técnicas culinarias como aquellas que transmiten el calor a través de un medio como el aceite o el aire no suele provocar tanto aumento en la temperatura de la carne como la plancha lo que provocaría la menor formación de aminas heterocíclicas. En el caso de asado o la fritura la el medio de calentamiento (aire o aceite) normalmente no alcanza

temperaturas superiores a 180°C al formar costra y la carne no sube de esta temperatura al formar costra o corteza ⁽¹³⁾.

De acuerdo con Kondjoyan et al. (Towards models for the prediction of beef meat quality during cooking.2014), Trevisan et al. (. Influence of home cooking conditions on Maillard reaction products in beef 2015) y Rannou et al. (Mitigation strategies of acrylamide, furans, heterocyclic amines and browning during the Maillard reaction in foods 2016) las técnicas culinarias que más AHs generan en la carne son la plancha, la parrilla y la fritura, y las que menos la cocción en medio acuoso o al vapor (Tabla 4). Así mismo, las cantidades más elevadas se encuentran en la corteza y no en el interior de la pieza de carne cocinada.

Tabla 4. Asociación entre la técnica culinaria, la temperatura que se alcanza en el producto y la formación de aminas heterocíclicas

Técnica culinaria	Temperatura de cocción	Formación de Aminas Heterocíclicas
Cocción en agua	80-100 °C	↓
Fritura	130-180 °C	↑
Plancha	>180 °C	↑
Horneado	120-180 °C	↑
Vapor	80-100 °C	↓
Guisado	100-110 °C	↓

Fuente: Elaboración propia

Finalmente, cabe señalar que las AHs no solo se encuentran en la carne, sino también en los jugos recogidos durante su cocción, derivados de la desnaturalización de las proteínas, o en los extractos de carne obtenidos industrialmente como subproductos para su uso en las preparaciones culinarias ^(4, 2).

5.4 Formación de aminas heterocíclicas durante la elaboración industrial de productos cárnicos

El procesado de la carne para elaborar productos cárnicos implica diversos tratamientos. Por una parte la carne se puede salar, secar y madurar. Este procesado no implica tratamiento térmico por lo que presumiblemente la cantidad de AHs formadas en el mismo es baja y así lo demuestran los estudios que determinan AHs en productos listos para consumo como el pepperoni anteriormente mencionado. Los productos crudo-madurados a veces se someten al ahumado. No se han encontrado estudios que relacionen el ahumado de embutidos con la formación de AHs.

Por otra parte, la carne se puede someter a tratamientos térmicos. La mayor cantidad de productos cárnicos tratados por el calor, como el jamón cocido, la mortadela o el paté, se someten a tratamientos térmicos de pasteurización en hornos de vapor o marmitas donde la temperatura externa suele ser de unos 80 °C y donde la cocción se detiene al alcanzar el centro del producto los 72 °C ⁽²⁴⁾. Estos tratamientos térmicos no se pueden considerar intensos desde el punto de vista de la formación de AHs por lo que los niveles de AHs en estos productos al salir de la industria son bajos, tal y como se mencionó. Sin embargo, cuando se elaboran conservas cárnicas, como latas de conserva, los tratamientos térmicos más acusados (pueden llegar a 121 °C durante unas pocas decenas de minutos. La cantidad de AHs formadas debería ser presumiblemente mayor que en los anteriores. No obstante, esta parece no conocerse. En la revisión bibliográfica no se han encontrado estudios que describan los valores de AHs en productos cárnicos en conserva sometidos a tratamiento térmico de esterilización.

6. COMO PREVENIR LA PRESENCIA DE ESTAS SUSTANCIAS EN LOS ALIMENTOS

Se puede prevenir la formación de este tipo de sustancias:

- evitando exponer la carne directamente a la llama
- reduciendo el tiempo que se tiene al alimento en estas condiciones dándole la vuelta de forma continua.
- evitando ingerir las partes más carbonizadas y ennegrecidas ⁽³⁴⁾.

- realizando adobos a la carne, este adobo debe ir con elementos ricos en antioxidantes como lo son las hierbas aromáticas, las especias y algunas bebidas fermentadas como el vino y la cerveza. ⁽³⁵⁾

7. CONCLUSIONES

Hay numerosos estudios que describen los niveles de aminas heterocíclicas en carne cocinada según diversas técnicas culinarias. No obstante, hay gran variabilidad en las cifras, lo que hace difícil estimar valores promedio que sirvan para hacer estudios sobre relación ingesta – riesgo de cáncer, sin cometer un error considerable.

Con el fin de disminuir el error, algunos estudios acompañan a los niveles de AHs en mayor o menor manera de datos adicionales como composición de la carne, condiciones de cocinado, localización geográfica, etc. No obstante esta información no parece suficiente y sigue arrojando gran dispersión en los datos.

A pesar de la relevancia de las AHs como tóxicos de la carne, no se han encontrado valores límites de AHs para considerar una carne como no apta para el consumo.

Son más escasos los estudios que muestran los niveles de AHs en derivados cárnicos listos para consumo como jamón o chorizo crudos madurados o jamones cocidos, que los de carne cocinada. No obstante, los niveles encontrados en esos productos son, en general, menores que los de la carne, por lo que la atención prioritaria debería centrarse en la carne y preparados de carne cocinados.

La formación de aminas heterocíclicas durante el cocinado de los distintos tipos de carne, de acuerdo a la bibliografía consultada, se puede asociar por un lado a la composición de la carne o tratamiento que haya sufrido la carne antes de cocinar, este es el caso de la maduración, que en algunas ocasiones se realiza en la carne que provoca el aumento de aminoácidos libres, la baja a_w 0,5 y 0,8, pH elevados > 8 acelera la formación de estos compuestos. Por otro lado, el tipo de técnica culinaria utilizada, como la parrilla, la barbacoa, el horneado, la fritura y el asado en plancha que pueden llegar a formar hasta 341 ng/g.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Galcerán MT. Aminas heterocíclicas en alimentos cocinados. V Congreso Internacional Alimentación, nutrición y dietética. En: V Congreso Internacional alimentación, nutrición y dietética. Madrid: Sección A: Nutrición y Dietética; 2002. 39-47.
2. Trevisan AJ, De Almeida D, Sampaio R, Soares G, Bastos MD. Influence of home cooking conditions on Maillard reaction products in beef. *Food Chem Toxicol.* 2016; 196: 161-169.
3. Reartes GA, Di Paola RD, Eynard AR, Muñoz SE. Cooking methods and the formation of PhIP (2-Amino, 1-methyl, 6-phenylimidazo [4,5-b] pyridine) in the crust of the habitually consumed meat in Argentina. *Food Chem Toxicol.* 2016; 92: 88-93.
4. Kondjoyan A, Kohler A, Realini EC, Portanguen S, Kowalski R, Clerjon S et al. Towards models for the prediction of beef meat quality during cooking. *Meat Sci.* 2014; 97(3): 323–331.
5. Busquets R, Bordas M, Toribio F, Puignou L, Galceran MT. Occurrence of heterocyclic amines in several home-cooked meat dishes of the Spanish diet. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2004; 802 (1): 79-86.
6. Gaenslen A, Gasser T, Berg D. Nutrition and the risk for Parkinson's disease: review of the literature. *J. Neural Transm.* 2008; 115(5): 703–713.
7. Sugimura T, Wakabayashi K, Nakagama H, Nagao M. Heterocyclic amines: Mutagens/carcinogens produced during cooking of meat and fish. *Cancer Sci.* 2004; 95(4): 290-9.
8. International Agency for Research on Cancer. Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1–119 [base de datos en internet]. Francia: WHO [consultado en junio 2017]. Disponible en: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/index.php>.
9. De Stefani E, Ronco A, Mendilaharsu M, Guidobono M, Deneo-Peregrinni H. (1997). Meat Intake, heterocyclic amines, and risk of breast cancer: A case-control study in Uruguay. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1997; 6(8): 573-81.
10. Bello Gutierrez J. *Ciencia y Tecnología Culinaria*. Madrid: Diaz de Santos; 1998.
11. Ames JM. Application of the Maillard reaction in the food industry. *Food Chem.* 1998; 62: 431-439.

12. Rohrmann S, Zoller D, Hermann S, Linseisen J. Intake of heterocyclic aromatic amines from meat in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Heidelberg cohort. *Br J Nutr.* 2007; 98(6): 1112-5.
13. Clerjon S, Kondjoyan A, Bonny JM, Portanguen S, Chevarin C, Thomas A, et al. Oil uptake by beef during pan frying: Impact on fatty acid composition. *Meat Sci.* 2012; 91(1): 79–8.
14. Skog KI, Johansson MA, Jägerstad MI. Carcinogenic heterocyclic amines in model systems and cooked foods: A review on formation, occurrence and intake. *Food Chem Toxicol.* 1998; 36(9-10): 879–896.
15. Wong D, Cheng K-W, Wang M. Inhibition of heterocyclic amine formation by water-soluble vitamins in Maillard reaction model systems and beef patties. *Food Chem.* 2012; 133(3): 760–766.
16. Knize MG, Sinha R, Salmon CP, Mehta SS, Dewhirst KP, Felton JS. Formation of heterocyclic aminemutagens/carcinogens during home and commercial cooking of muscle foods. *J Muscle Foods.* 1996; 7(3): 271–279.
17. Jägerstad M, Skog K, Arvidsson P, Solyakov A. Chemistry, formation and occurrence of genotoxic heterocyclic amines identified in model systems and cooked foods. *Z Lebensm Unters Forsch.* 1998; 207(6): 419–427.
18. Jakszyn P, Ibáñez R, Pera G, Agudo A, García-Closas R, Amiano P, González CA. Food content of potential carcinogens. Barcelona: Catalan Institute of Oncology; 2004.
19. Puangsombat K, Gadgil P, Houser TA, Hunt MC, Smith JS. Heterocyclic amine content in commercial ready to eat meat products. *Meat Sci.* 2011; 88(2): 227-233.
20. Jakszyn P, Agudo A, Ibáñez R, García-Closas R, Pera G, Amiano P et al. Development of a food database of nitrosamines, heterocyclic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons. *J Nutr.* 2004; 134(8): 2011-4.
21. Bouvard V, Loomis D, Guyton KZ, Grosse Y, Ghissassi FE, Benbrahim-Tallaa L, et al. Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. *Lancet Oncol.* 2015; 16(16): 1599-600.
22. Girao-Goris JA, Olmedo A, Ferrer E. El artículo de revisión. *Revista Iberoamericana de Enfermería Comunitaria* [revista en internet] 2008 [consultado en mayo 2017]; 6(1): 1-25. Disponible en: http://www.uv.es/joguigo/castellano/castellano/Investigacion_files/el_articulo_de_revision.pdf
23. Gómez-Luna E, Navas DF, Aponte-Mayor G, Betancourt-Buitrago LA. Literature review methodology for scientific and information management, through its structuring and systematization. *Dyna.* 2014; 81(184): 158-163.

24. Wirth F. Tecnología de los productos cárnicos escaldados. Zaragoza: Acribia; 1992.
25. Mejbourn H, Biloft-Jensen A, Hansen A, Licht TR, Olesen PT, Sørensen IK. Mechanisms behind cancer risks associated with consumption of red and processed meat. Søborg: National Food Institute, Technical University of Denmark; 2016.
26. Rannou C, Laroque D, Renault E, Prost C, Sérot T. Mitigation strategies of acrylamide, furans, heterocyclic amines and browning during the Maillard reaction in foods. *Food Res Int.* 2016; 90: 154-176.
27. Heidemann C, Schulze MB, Franco OH, van Dam RM, Mantzoro CS, Hu FB. Dietary patterns and risk of mortality from cardiovascular disease, cancer, and all causes in a prospective cohort of women. *Circulation.* 2008; 118(3): 230–237
28. Domingo JL. Influence of cooking processes on the concentrations of toxic metals and various organic environmental pollutants in food: a review of the published literature. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2011; 51(1): 29–37.
29. Augustsson KA, Skog K, Jägerstad M, Dickman PW, Steineck G. Dietary heterocyclic amines and cancer of the colon, rectum, bladder and kidney: a population-based study. *Lancet.* 1999; 353: 703–707.
30. Chiavarini M, Bertarelli G, Minelli L, Fabiani R. Dietary intake of meat cooking-related mutagens (hcas) and risk of colorectal adenoma and cancer: a systematic review and meta-analysis. *Nutrients.* 2017; 9(5): 514.
31. Buttler LM, Sinha R, Millikan RC, Martin CF, Newman B, Gammon MD et al. Heterocyclic amines, meat intake, and association with colon cancer in a population-based study. *Am J Epidemiol.* 2003; 157(5): 434-445.
32. Sinha R, Kulldorff M, Chow W-Ho, Denobile J, Rothman N. Dietary intake of heterocyclic amines, meat-derived mutagenic activity, and risk of colorectal adenomas. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2001; 10(5): 559-562.
33. Lu F, Kuhnle GK, Cheng Q. Heterocyclic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons in commercial ready-to-eat meat products on UK market. *Food Control.* 2017; 73: 306-315.
34. Felton JS. Formation and human risk of carcinogenic heterocyclic amines formed from natural precursors in meat Knize MG1. *Nutr Rev.* 2005 May;63(5):158-65
35. Viegas O, Amaro LF, Ferreira IM, Pinho O. Inhibitory effect of antioxidant-rich marinades on the formation of heterocyclic aromatic amines in pan-fried beef. *J Agric Food Chem.* 2012 Jun 20; 60(24):6235-40.
36. Fatima S, Jairajpuri D S, Saleemuddin M. A procedure for the rapid screening of Maillard reaction inhibitors. *J Biochem Biophys Methods.* 2008 Apr 24;70(6):958-65.

37. Baudi S. Preparación de los alimentos en la cocina. En: Koestinger L. Contreras M. Ballesteros G. et al editors. La ciencia de los alimentos en la práctica. Pearson educación, México 2012. Primera edición. P. 105-117.