

**EXTRACCIÓN, CRISTALIZACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE INULINA DE
YACÓN (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.)) PARA SU UTILIZACIÓN
EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA Y FARMACÉUTICA**

GINNA PAOLA CUARÁN TABLA

JUAN CAMILO FAJARDO GOYES

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
SAN JUAN DE PASTO
2009**

**EXTRACCIÓN, CRISTALIZACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE INULINA DE
YACÓN (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.)) PARA SU UTILIZACIÓN
EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA Y FARMACÉUTICA**

**GINNA PAOLA CUARÁN
JUAN CAMILO FAJARDO**

**Trabajo de grado para optar el título de
Ingeniero Agroindustrial**

**Director
Mgs. Oscar Arango Bedoya
Profesor Facultad Ingeniería Agroindustrial**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
SAN JUAN DE PASTO
2009**

“Las ideas y conclusiones aportadas en la tesis de grado, son responsabilidad exclusiva de los autores”.

Artículo 1 de Acuerdo N° 324 de octubre de 1966, emanado del honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de aceptación:

Firma del presidente del jurado

Firma del jurado

Firma del jurado

San Juan de Pasto 26 de Mayo de 2009

A Dios porque sin su voluntad nada sería posible,
A nuestras familias por su apoyo y amor incondicional,
A nuestros amigos por su compañía y voz de aliento
Y a aquellas personas especiales que un día partieron pero nunca nos abandonaron.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al director del proyecto, Magister Oscar Arango Bedoya docente de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial, por su asesoría y acompañamiento durante el desarrollo del presente trabajo de grado.

Al director del grupo de investigación Tecnologías Emergentes en Agroindustria "TEA", Doctor Andrés Hurtado Benavides docente de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial, por sus continuas sugerencias.

A la Vicerrectoría de Investigaciones, Postgrados y Relaciones Internacionales "VIPRI" de la Universidad de Nariño, por el financiamiento de la investigación y su voto de confianza para el desarrollo de la misma.

Al señor Efrén Cuarán, dueño de la reserva natural "Raíces Andinas" en el Encano-Nariño, por su confianza y compromiso al proveernos materia prima.

A Olga Lucía Benavides y Álvaro Cornejo, docentes de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial y Jurados del presente trabajo de grado, por su acompañamiento y asesoría durante el desarrollo de la presente investigación.

Al Auxiliar de Planta Piloto de la Universidad de Nariño, Ingeniero Hugo Gomajoa, por su apoyo y acompañamiento incondicional durante el desarrollo de la fase experimental de la investigación.

Al Auxiliar del Almacén de vidriería de la Universidad de Nariño, Fabio Hernán Muñoz, por su colaboración incondicional.

Y a todas aquellas personas que con su apoyo, colaboración y asesoría hicieron posible el desarrollo de la presente investigación.

CONTENIDO

	Pág
INTRODUCCIÓN	20
1. IDENTIFICACIÓN DEL PROBLEMA	21
2. JUSTIFICACIÓN	22
3. OBJETIVOS	26
3.1 OBJETIVO GENERAL	26
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
4. MARCO TEÓRICO	27
4.1 GENERALIDADES DEL CULTIVO DE YACÓN	27
4.2 DESCRIPCIÓN DE LAS RAÍCES	31
4.3 CULTIVOS DE YACÓN	31
4.4 COMPOSICIÓN QUÍMICA	32
4.4.1 Los fructooligosacáridos (FOS)	32
4.4.2 Valor nutricional de los FOS	32
4.4.3 Otros compuestos químicos importantes	33
4.5 CUIDADOS DURANTE LA COSECHA Y POSTCOSECHA	34
4.6 LA INULINA	35
4.6.1 Reseña histórica	35
4.6.2 Generalidades de la inulina	35
4.6.3 Fuentes de inulina	38
4.7 PRINCIPIOS DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO	39

4.7.1 Equilibrio de extracción	40
4.7.2 Cinética de extracción	40
4.7.3 Factores que influyen en la extracción sólido-líquido	41
4.8 PRINCIPIOS DEL PROCESO DE CRISTALIZACIÓN	42
4.8.1 Sobresaturación	43
4.8.2 Solubilidad de equilibrio en la cristalización	43
4.8.3 Nucleación	44
4.8.4 Efecto de las impurezas	45
4.8.5 Efecto de la temperatura sobre la solubilidad	46
4.8.6 Tipo de cristales	46
4.9 AVANCES EN LA EXTRACCIÓN Y CRISTALIZACIÓN DE LA INULINA A PARTIR DE MATERIAL VEGETAL	49
5. DISEÑO METODOLÓGICO	51
5.1 MATERIALES Y EQUIPOS	51
5.1.1 Material experimental	51
5.1.2 Maquinaria y equipo	52
5.2 MÉTODOS Y PROCEDIMIENTO	55
5.2.1 Recepción de materia prima	55
5.2.2 Almacenaje	55
5.2.3 Mezcla de material experimental	55
5.2.4 Selección y clasificación	55
5.2.4.1 Determinación de materia seca	56

5.2.5 Lavado y desinfección	56
5.2.6 Escaldado	56
5.2.7 Pelado	57
5.2.8 Troceado	57
5.2.9 Extracción	57
5.2.9.1 Diseño experimental de la extracción	58
5.2.9.2 Diseño del análisis	59
5.2.10 Filtrado a vacío	60
5.2.11 Identificación cualitativa y cuantitativa de inulina en la solución	61
5.2.12 Separación de la inulina	62
5.2.12.1 Cristalización	63
5.2.12.2 Separación por secado del extracto	64
5.2.13 Identificación cualitativa de inulina en los cristales obtenidos	64
5.2.14 Caracterización de la inulina obtenida	64
5.2.14.1 Morfología y tamaño de los cristales	64
5.2.14.2 Densidad aparente	65
5.2.14.3 Punto de fusión	65
5.2.14.4 Solubilidad	66
5.2.14.5 Características organolépticas	66
5.3 DETERMINACIÓN DE COSTOS DE EXTRACCIÓN DE INULINA	66
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	68
6.1 RESULTADOS	68

6.1.1 Determinación de materia seca	68
6.1.2 Identificación cualitativa de inulina en la solución	68
6.1.3 Diseño experimental de la extracción	69
6.1.4 Identificación cuantitativa de inulina por HPLC	73
6.1.5 Separación de inulina	74
6.1.5.1 Cristalización	74
6.1.5.2 Separación por secado del extracto	75
6.1.6 Identificación cualitativa de inulina en los cristales	75
6.1.7 Caracterización de la inulina obtenida	76
6.1.7.1 Morfología y tamaño de los cristales	76
6.1.7.2 Densidad aparente	77
6.1.7.3 Punto de fusión	77
6.1.7.4 Solubilidad	77
6.1.7.5 Características organolépticas	77
6.1.8 Determinación de costos de extracción	78
6.2 DISCUSIÓN	78
6.2.1 Determinación de materia seca	78
6.2.2 Diseño experimental de la extracción	78
6.2.3 Identificación cuantitativa de inulina por HPLC	79
6.2.4 Separación de inulina	80
6.2.5 Identificación cualitativa de inulina en los cristales	81
6.2.6 Caracterización de los cristales de inulina obtenidos	81

6.2.7 Determinación de costos de extracción	81
7. CONCLUSIONES	83
8. RECOMENDACIONES	85
BIBLIOGRAFÍA	86
ANEXOS	90

LISTA DE TABLAS

	Pág
Tabla 1. Clasificación taxonómica del yacón	28
Tabla 2. Características fisicoquímicas de la inulina nativa	37
Tabla 3. Fuentes comunes de inulina	39
Tabla 4. Descripción del diseño experimental de la extracción	59
Tabla 5. Encuesta de calificación de los cristales de inulina	66
Tabla 6. Análisis de varianza para extracción	69
Tabla 7. Respuesta óptima para extracción	73
Tabla 8. Determinación de costos de extracción y cristalización de inulina	78

LISTA DE FIGURAS

	Pág
Figura 1. Partes de la planta de yacón	29
Figura 2. Follaje y raíces tuberosas de la planta de yacón	30
Figura 3. Estructura molecular de la inulina	36
Figura 4. Diagrama de equilibrio en cristalización Teoría de Meers	44
Figura 5. Cristales de los sistemas de cristalización	48
Figura 6. Raíces tuberosas de yacón de Pujilí-Ecuador y el Encano-Nariño	51
Figura 7. Instrumentos de adecuación de materia prima	52
Figura 8. Mufla y Balanza analítica	52
Figura 9. Equipo de agitación, Termopar tipo J y Refractómetro	53
Figura 10. Centrífuga y Estufa de secado	54
Figura 11. Microscopio con fotografía y video	54
Figura 12. Montaje para la extracción de inulina	57
Figura 13. Montaje de filtrado a vacío	61
Figura 14. Cromatografía en capa fina	61
Figura 15. Inulina de ágave muestra patrón	62
Figura 16. Montaje para concentración a vacío y centrifugado	63
Figura 17. Identificación de cristales de inulina	65
Figura 18. Montaje para determinación de punto de fusión	66
Figura 19. Placas de cromatografía en capa fina para identificación de inulina en la solución	68
Figura 20. Diagrama de Pareto para el estudio de los factores de extracción sobre el rendimiento de inulina en la solución	70
Figura 21. Diagrama de efectos principales para el rendimiento de inulina	71
Figura 22. Diagrama de interacciones para el rendimiento de inulina	71
Figura 23. Superficie de respuesta para el rendimiento de inulina	72
Figura 24. Contorno de la superficie de respuesta estimada para el rendimiento de inulina	73
Figura 25. Secado del extracto y cristales de inulina obtenidos	75
Figura 26. Placa de cromatografía en capa fina para identificación de inulina en cristales	75
Figura 27. Vista microscópica de los cristales de inulina	76
Figura 28. Diagramas circulares de la calificación de los cristales de inulina	77

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA: Análisis de Varianza

Da: Dalton

DM-2: Diabetes mellitus Tipo 2

FOS: Fructooligosacáridos

g: Gramos

GP: Grado de polimerización

h: Horas

HPLC: High performance liquid chromatography ó Cromatografía líquida de alta eficiencia

Hg: Mercurio

In Hg: Pulgadas de mercurio

kg: Kilogramos

l: Litros

LDL: Lipoproteína de baja densidad

mg: Miligramos

min: Minutos

m.s.n.m: Metros sobre el nivel del mar

m³: Metro cúbico

PED: Detector de emisión de

pH: Potencial de hidrógeno

rpm: Revoluciones por minuto

µm: Micrómetros

°C: Grados centígrados

LISTA DE ANEXOS

	Pág
Anexo A. Determinación de materia seca	91
Anexo B. Determinación del rendimiento de inulina por unidad másica de materia prima por refractometría	92
Anexo C. Resultados de la cuantificación por índice de refracción	95
Anexo D. Identificación cualitativa de inulina por cromatografía en capa fina	97
Anexo E. Determinación cuantitativa de inulina en el extracto bajo condiciones óptimas por HPLC	98
Anexo F. Determinación de la densidad aparente de la inulina obtenida	101
Anexo G. Determinación del punto de fusión de la inulina obtenida	102
Anexo H. Determinación de la solubilidad de la inulina obtenida a 21 °C	103

GLOSARIO

CARCINOMAS: forma de cáncer con origen en células de tipo epitelial.

CRISTALIZACIÓN: operación por medio de la cual se separa un componente de una solución líquida transfiriéndolo a la fase sólida en forma de cristales.

CROMATOGRAFÍA: método de separación para la caracterización de mezclas complejas. Es un conjunto de técnicas basadas en el principio de retención selectiva, cuyo objetivo es separar los distintos componentes de una mezcla, permitiendo identificar y determinar las cantidades de dichos componentes.

DIABETES: desorden metabólico que ocasiona alteración del nivel de azúcar en la sangre.

DISEÑO EXPERIMENTAL: metodología que utiliza principios estadísticos para diseñar pruebas o ensayos que generen la mayor cantidad de información sobre el sistema bajo estudio con la mayor confiabilidad en el menor tiempo posible y al menor costo.

EDULCORANTE: aditivo para los alimentos que reemplaza el efecto del azúcar, pero que usualmente tiene menos energía.

EXTRACCIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO: operación que consiste en tratar un sólido que está formado por dos o más sustancias con un disolvente que disuelve preferentemente una de ellas.

FACTORES: variables que influyen y se controlan sobre una unidad experimental. Son las variables experimentales que inciden sobre la variable respuesta.

FIBRAS ALIMENTARIAS: moléculas químicas largas que se encuentran principalmente en las paredes de las células vegetales y que el organismo no es capaz de digerir.

FLOCULACIÓN: proceso químico mediante el cual, con la adición de sustancias denominadas floculantes, se aglutina las sustancias coloidales presentes en una solución, facilitando de esta forma su decantación y posterior filtrado.

FRUCTOOLIGOSACÁRIDO: oligosacárido natural que contiene fructosa y se encuentran en plantas. Se compone de una cadena de unidades de fructosa con una unidad de glucosa terminal.

FRUCTOSA: azúcar encontrada en las frutas y en la miel. Es un monosacárido con la misma fórmula empírica que la glucosa pero con diferente estructura.

GLUCOSA: o dextrosa, es el compuesto orgánico más abundante de la naturaleza. Azúcar que las células utilizan como fuente primaria de síntesis de energía.

GRADO DE POLIMERIZACIÓN: número de veces que se repite la unidad monomérica en una cadena.

HÁBITO DEL CRISTAL: aspecto que presenta un cristal como consecuencia del diferente desarrollo de sus caras.

IDENTIFICACIÓN CUALITATIVA: identificación de la presencia de una sustancia determinada en una solución.

IDENTIFICACIÓN CUANTITATIVA: medición de la cantidad de una sustancia determinada en una solución.

INULINA: polisacárido compuesto por cadenas de fructosa y glucosa terminales con efecto prebiótico por su alto contenido en fibra.

MATERIA SECA: fracción orgánica e inorgánica de un alimento.

MONÓMERO: compuestos de bajo peso molecular a partir de los cuales se obtienen los polímeros.

NUTRACÉUTICO: suplemento dietético que proporciona una forma concentrada de un agente presumiblemente bioactivo de un alimento, presentado en una matriz no alimenticia y utilizado para incrementar la salud en dosis que exceden aquellas que pudieran ser obtenidas del alimento normal.

OLIGOFRUCTOSA: componente natural de la inulina.

OLIGOSACÁRIDO: polímero de monosacáridos con un número de unidades monoméricas entre 2 y 10 (el más abundante en la naturaleza es la inulina).

POLÍMEROS: materiales de origen tanto natural como sintético, formados por moléculas de gran tamaño, conocidas como macromoléculas.

POLISACÁRIDO: compuesto formado por la unión de muchos monosacáridos. Pertenecen al grupo de los glúcidos y cumplen con la función tanto de reserva energética como estructural.

PREBIÓTICO: alimento que favorece el crecimiento de los probióticos.

PRECIPITACIÓN: proceso o fenómeno de formación de un segundo estado o fase de la materia, dentro de una primera fase.

PROBIÓTICO: organismo vivo que al ser ingerido afecta benéficamente al huésped mejorando su balance intestinal.

PROMISORIO: que lleva promesa en sí.

PULVERIZACIÓN: procedimiento mediante el cual un cuerpo sólido se convierte en pequeñas partículas de polvo.

RAÍZ TUBEROSA: órgano subterráneo de acumulación de nutrientes tal como los rizomas, cormos, bulbos y tubérculos.

REFINAR: proceso de purificación de un alimento obtenido a partir de un recurso natural.

REFRACTOMETRÍA: técnica analítica que consiste en la medida del índice de refracción de un líquido con objeto de investigar su composición si se trata de una disolución o de su pureza si es un compuesto único.

TRATAMIENTO: en un experimento factorial es una combinación de los niveles de los factores.

TUBÉRCULO: tallo subterráneo modificado y engrosado donde se acumulan los nutrientes de reserva para la planta.

VARIABLE EXPERIMENTAL: en un diseño experimental es una variable que el experimentador manipula.

VARIABLE RESPUESTA: es una variable que el experimentador mide después de llevar a cabo los tratamientos, para ver como es afectada por la variable experimental.

RESUMEN

El presente trabajo reporta un estudio de optimización del proceso de extracción sólido-líquido, con agua caliente, de inulina a partir de raíces de yacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.)). La cuantificación de inulina presente en el extracto se hizo a través de refractometría. Varias combinaciones de tiempo, temperatura y relación solvente-materia prima fueron usadas en el diseño experimental empleando un diseño compuesto central 2^3 más puntos estrella. Utilizando la metodología de superficie de respuesta se alcanzó un rendimiento óptimo de 20.7% de inulina bajo unas condiciones de extracción de 23 min a 82.2 °C y relación solvente-materia prima de 4.5 l/500 g. Se probaron dos técnicas para la separación de los cristales a partir de la solución rica en inulina obteniéndose un rendimiento del 17.3% con relación al peso en fresco del material experimental. Los cristales fueron caracterizados bajo propiedades físicas, químicas y organolépticas.

ABSTRACT

This work reports a research of optimization of the solid-liquid extraction process, with hot water, of inulin provided by yacon root (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.)). The quantification of inulin in the extract is made through refractometry. Several combinations of time, temperature and solvent-raw material relationship were used in the experimental design using a 2^3 central compaind design plus star points. Using the response surface methodology is determined that it will be able to gain an excellent output of 20.7% of inulin under extraction conditions of 23 min to 82.2 °C and solvent-raw material relationship of 4.5 l/500 g. Two techniques were proved for the separation of crystals starting whit a rich inulin solution. It was obtained an output of 17.3% in relation to fresh weight of experimental material. The crystals were characterized under physical, chemical and organoleptic properties.

INTRODUCCIÓN

De todos los polisacáridos y oligosacáridos no digeribles, solamente los oligofruktosacáridos son actualmente los únicos reconocidos y utilizados en alimentos como prebióticos al cumplir con todos los criterios de clasificación y seguridad alimentaria.

De hecho, como lo afirma ROBERFROID: “no sólo son los más estudiados, sino además los más utilizados y los que presentan un mejor efecto general”¹.

El presente proyecto planteó el aprovechamiento del yacón, planta que se encuentra de forma silvestre en la región andina de Nariño, debido a la gran cantidad de inulina que posee, fructooligosacárido que puede ser utilizado en la industria alimentaria para la elaboración de edulcorantes para diabéticos y como fibra en alimentos refinados.

Se propuso obtener inulina en cristales, evaluando previamente la técnica de extracción sólido-líquido con agua para conseguir una solución rica en inulina y determinar las condiciones en las que se logra la mayor eficiencia en cuanto a rendimiento, por otra parte, se realizó una caracterización de los cristales de inulina y finalmente se determinaron los costos del proceso de extracción experimental.

A la fecha no se han desarrollado en el departamento de Nariño proyectos de investigación para la obtención de inulina tomando como materia prima el yacón, debido principalmente al desconocimiento de esta planta y sus propiedades benéficas fácilmente aprovechables que lo convierten en una alternativa de cultivo promisorio.

¹ ROBERFROID, M. 2001. Prebiotics: preferential substrates for specific germs. American Journal of Clinical Nutrition 65(5):405-408, citado por CHACÓN, Alejandro. Perspectivas agroindustriales actuales de los oligofruktosacáridos (FOS). En: Agronomía Mesoamericana. Vol. 17, No. 2 (2006); p. 275.

1. IDENTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

El yacón es una planta arbustiva nativa de los andes que pertenece a la familia Asteraceae (también llamada Compositae) y su nombre científico es *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson.

“A diferencia de los tubérculos que almacenan la energía en forma de almidón, el yacón, la almacena en forma de fructooligosacáridos (FOS), principalmente la inulina, encontrándose en un alto porcentaje de hasta el 20%”¹.

En este sentido, surge la necesidad de explorar alternativas de aprovechamiento de esta planta promisoría que cuenta con gran potencial agroindustrial estudiando técnicas efectivas de extracción de los componentes de interés (para el presente estudio la inulina), que puedan ser aplicadas al contexto de la región, considerando de manera global los costos en los que se incurre al desarrollar dicha técnica.

En países andinos de Latinoamérica como Perú, Ecuador y Bolivia y en países desarrollados como Japón, la planta de yacón es cultivada de forma extensiva, en contraste en Colombia el yacón se encuentra en peligro de extinción en sus centros de producción históricos, debido al poco conocimiento que las comunidades locales tienen sobre sus propiedades alimenticias, medicinales y ecológicas².

Actualmente en los países desarrollados, existe la tendencia hacia la adopción de una alimentación sana y balanceada que incluya elementos naturales y benéficos, lamentablemente a pesar que la región puede ofrecer este tipo de productos a estos mercados, no lo ha hecho debido a la falta del desarrollo de investigación pertinente y aplicable.

¹ SILVER, Barnard Stewart. Fracciones de inulina novedosas, proceso para la preparación de las mismas y productos alimenticios que contienen dichas fracciones de inulina. En: Oficina española de patentes y marcas. No.ES 2 198 946 T3 (2004); p. 2.

² GARCÍA, Renso. Estudio fitoquímico y nutricional de *Smallanthus sonchifolius* (poepp. & endl.) H. Robinson. Distribución geográfica y adaptación del vegetal en tres pisos térmicos colombianos. [en línea]. 2003, [citado el 5 diciembre 2006]. Disponible en internet: <URL: http://ut.edu.co/investigacion/actas/2001/12_01.pdf >

2. JUSTIFICACIÓN

Es sabido que la preparación industrial de alimentos refina cada vez más la comida empobreciéndola en fibras alimentarias naturales, además el estilo de vida moderno (el estrés, los medicamentos, la dieta no balanceada) pueden debilitar el sistema inmune. Estos hechos hicieron que aumentara la aparición de ciertas patologías gastrointestinales y metabólicas, típicas de los tiempos actuales.

“Con respecto a las tendencias epidemiológicas, éstas se han descrito ampliamente en la literatura científica para los diferentes tipos de cáncer. Así, el cáncer gástrico está en descenso en todo el mundo mientras que los carcinomas de colon y recto están en aumento, con raras excepciones en las que no se incluye Colombia.”¹

Por otra parte, la diabetes mellitus tipo 2 (DM-2) es una enfermedad crónica caracterizada por la falla absoluta o relativa de una hormona producida por el páncreas, denominada insulina. La velocidad con que se ha incrementado su frecuencia, principalmente debido a los cambios acontecidos en el estilo de vida en los últimos años, la han convertido en la actualidad en un problema de salud pública. “En Colombia, las estadísticas muestran la diabetes como la décima causa de mortalidad, con una tasa de 2,3 por cada 100.000 habitantes”².

“El incremento de la diabetes en el mundo es alarmante. De acuerdo con las estadísticas suministradas por la Federación Diabetológica Colombiana”³, en 1985 había 30 millones de personas diabéticas en el mundo; en 1998, un poco más de una década después, la cifra se incrementó a 143 millones de afectados; y de seguir la situación en esas condiciones se calcula que para el 2025 la cifra puede llegar a los 300 millones de personas que padecerán la enfermedad.

En el país las estadísticas son igualmente preocupantes. Según la Asociación Colombiana de Diabetes se estima que el 7% de la población colombiana mayor de 30 años que reside en área urbana tiene diabetes tipo 2.

¹ ARANGO, Alberto. et al. Mortalidad por cánceres del aparato digestivo en Colombia entre 1980 y 1998. En: Rev Fac Med Univ Nal Coloma. Vol. 52, No. 1 (2004); p. 19-37.

² ALAYÓN, Alicia. et al. Prevalencia de desórdenes del metabolismo de los glúcidos y perfil del diabético en Cartagena de Indias (Colombia), 2005. En: Salud Uninorte. Barranquilla (Col.) Vol. 22, No.1 (2006); p. 20-28

³ FEDERACION DIABETOLOGICA COLOMBIANA F.D.C. 14 de noviembre “Día Mundial de la Diabetes”. [en línea]. 2001. Vol. 1, No. 1, p. 1. [citado el 8 diciembre 2006]. Disponible en internet: <URL: <http://www.fdc.org.co/Periodico/vol1pag2.html> >

Por este motivo, los expertos en alimentación han venido recomendando desde hace algún tiempo el consumo diario de verduras, frutas y productos integrales que podrán reequilibrar los daños causados por el refinado alimentario. Sin embargo, algunas personas tienen ciertas dificultades para seguir estas indicaciones, tanto por los malos hábitos alimentarios como por los urgentes compromisos cotidianos. Las fibras que pueden usarse para este fin son aquellas que se usan normalmente en el ámbito alimentario y dietético, por ejemplo las fibras solubles no gelificantes como la inulina¹.

La inulina ofrece varios beneficios para la salud humana cuando ésta se incorpora en la dieta alimentaria, contribuye a diluir los carcinógenos fecales y los promotores tumorales simplemente por la presencia de un mayor volumen fecal y por su capacidad para inducir la secreción colónica, es reconstituyente de la microflora intestinal y corrige el estreñimiento por ser prebiótico, mejorando el balance intestinal y contribuyendo de esta manera a reducir el contacto de agentes carcinógenos con el epitelio colónico y por ende a prevenir el desarrollo de cáncer de colon².

“Se ha observado también un aumento en la absorción de cationes, aumento en la absorción del calcio y el magnesio, aumento en la excreción de azufre y disminución de la uremia”³, en este sentido “los FOS representan una importante tendencia agroindustrial por sus aplicaciones técnicas, productivas y nutricionales”⁴.

Por todo esto, la inulina y la oligofructosa son recomendables para todas las personas y especialmente para niños y adolescentes por estar en edad de crecer y de formar su capital cálcico, así como para mujeres en gestación y personas de edad avanzada.

“La inulina y FOS están siendo incluidos hoy en numerosos productos alimentarios humanos y animales por su efecto positivo como prebiótico estimulante del crecimiento de la flora intestinal no patógena. Ha encontrado aplicación en

¹ SENECCI, Alessandro. 2003. Composición edulcorante soluble COB inulina. En: Oficina española de patentes y marcas. No. ES 2 195 319 T3 (2003).

² BRETÓN, Lesmes. Metabolismo colónico de la fibra. En: Revista Nutrición Hospitalaria. Sección de Nutrición Clínica y Dietética. Universidad de Navarra. España. No. XVIII (2002); p. 11 – 16.

³ WANG, X. et al. Effects of the in vitro fermentation of oligofructose and inulin by bacteria growing in the human large intestine. En: Journal of applied Bacteriology. Vol. 75, No. 4 (1993); p. 373-380

⁴ CHACÓN, Alejandro. Perspectivas agroindustriales actuales de los oligofructosacáridos (FOS). En: Agronomía Mesoamericana. Vol. 17, No. 2 (2006); p. 265.

nutracéuticos y dietética, productos lácteos, alimentos para pequeños animales (Petfoods) y en menor medida en animales de producción”¹.

“La inulina puede funcionar como un sustituto de la grasa en alimentos por sus características como texturizador”², “puede también ser utilizada en la fabricación de productos sustitutos del azúcar con un menor valor calórico apropiado para diabéticos”³ y “la inulina de cadena larga, también puede ser utilizada como sustancia de aumento de volumen en combinación con edulcorantes artificiales”⁴.

El yacón es una planta promisoría, teniendo en cuenta que en los tiempos modernos la demanda de azúcares dulcificantes no dañinos para el organismo humano está creciendo continuamente por dos razones:

Primero el afán de no engordar o mantener la línea y en este sentido el yacón, tiene sabor dulce pero no engorda porque es bajo en calorías y grasas. El cuerpo humano no es capaz de metabolizar el azúcar de esta planta, por lo que su eventual utilización en alimentos significaría que los que están a dieta podrían comer muchos más dulces sin pensar en las consecuencias. Teóricamente, al ser un edulcorante que no engorda, “el yacón podría suplantar cultivos como la caña de azúcar y la fructosa de maíz como fuentes de edulcorantes para muchos productos, desde galletas hasta refrescos”⁵. Y segundo por los millones de seres humanos que padecen de diabetes, el yacón tiene propiedades antidiabéticas, proporciona alivio a problemas gastrointestinales, riñones y actúa como rejuvenecedor de la piel. “El té de las hojas de yacón como infusión, así como las cápsulas de yacón micropulverizado, reducen el contenido de glucosa en la sangre”⁶.

El cultivo intensivo de yacón puede ser atractivo económicamente por producir inulina en cantidades suficientes para su industrialización y pese a esto, a la fecha no se han desarrollado en el departamento de Nariño proyectos de investigación

¹ WANG, Op. cit., p. 373-380

² TÓFANO, Juliana. et al. Optimization of a physical concentration process for inulin. En: Journal of Food Engineering. Vol. 80, (2006); p. 832 – 838.

³ KUNZ, Markwart. et al. Procedimiento para la preparación de inulina de cadena larga. En: Oficina española de patentes y marcas. No. ES 2 102 093 T3 (1997).

⁴ SILVER, Op. cit., p. 3

⁵ RAFI. Rural Advancement Foundation International. Japón se llevó el yacón!. [en línea]. 24 de agosto de 2001. [citado el 4 de mayo 2009]. Disponible en: <URL:http://www.etcgroup.org/upload/publication/pdf_file/253>

⁶ SIICEX. Sistema Integrado de Información de Comercio Exterior. Yacón. [citado el 4 de mayo 2009]. Disponible en: <URL:<http://www.siicex.gob.pe/siicex/resources/fichaproducto/YACON.pdf>>

para la obtención de inulina tomando como materia prima esta planta, debido principalmente al desconocimiento de sus propiedades benéficas fácilmente aprovechables que lo convierten en una alternativa de cultivo promisorio.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Extraer, cristalizar y caracterizar inulina de yacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar las condiciones óptimas para la extracción de la solución rica en inulina por la técnica de extracción sólido-líquido con agua.
- Evaluar las características de los cristales de inulina obtenidos.
- Determinar los rendimientos y los costos de extracción y cristalización de la inulina obtenida bajo condiciones experimentales.

4. MARCO TEÓRICO

El yacón es una planta originaria de los Andes y a pesar que sus raíces tuberosas, que llevan el mismo nombre, son consumidas desde la época preincaica, no ha llegado a tener la trascendencia de otros cultivos andinos como la papa o el camote. Su cultivo ha sido relegado por mucho tiempo para la subsistencia de los agricultores pobres, principalmente para el autoconsumo y la comercialización eventual en ferias campesinas rurales. Sin embargo, debido a que recién se comienzan a conocer sus efectos promisorios en la salud, “desde hace algunos años el yacón ha llegado a los mercados de las ciudades, solo de algunos países como el Perú, y han comenzado a desarrollarse actividades comerciales en torno a su cultivo y a su procesamiento”¹.

4.1 GENERALIDADES DEL CULTIVO DE YACÓN

El yacón es una planta autóctona de la región andina, cuyo nombre científico es *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson, poco estudiada y subutilizada. Recientemente, sus raíces tuberosas han despertado interés debido a que se ha determinado que es la fuente vegetal con mayor contenido de fructooligosacáridos (FOS), un tipo particular de azúcares que tienen reducido contenido calórico -entre 25 a 35 % de calorías de los carbohidratos comunes- y promueven una mejor salud del tracto intestinal².

El hábitat natural del yacón es la zona de los Andes comprendida entre los 800 y 2800 m.s.n.m., en latitudes tropicales (0-24° S) y regímenes de temperatura característicos de climas templados y subtropicales. Sin embargo, debido a su gran capacidad adaptativa y aparente insensibilidad al fotoperiodo, se cultiva también en muchas otras partes del mundo: Brasil, China, Corea, Estados Unidos, Italia, Japón, Nueva Zelanda, República Checa, Rusia y Taiwán. La prolongada duración del cultivo, superior a 180 días, y su susceptibilidad a heladas, que destruyen las partes aéreas de la planta, limitan su distribución latitudinal y altitudinal³.

¹ MANRIQUE, I.; PÁRRAGA, A. y HERMANN, M. Jarabe de yacón: Principios y Procesamiento. En: Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: Una década de investigación para el desarrollo (1993-2003). No. 8A. Lima, Perú. 2005., p. 3.

² Ibid., p. 3

³ Ibid., p. 4

Tabla 1. Clasificación taxonómica del yacón

Parámetro	Clasificación
Superreino:	Eucaryotes
Reino:	Plantae (Plantas)
Subreino:	Tracheobionta (Plantas vasculares)
Superdivisión:	Spermatophyta (Plantas con semilla)
División:	Magnoliophyta (Plantas con flor)
Clase:	Magnoliopsida (Dicotiledóneas)
Subclase:	Asteridae
Orden:	Asterales
Familia:	Compositae = Asteraceae (Compuestas = Asteráceas)
Tribu:	Heliantheae
Subtribu:	Melampodinae
Género:	Smallanthus Mackenzie
Especie:	Smallanthus sonchifolius (Poepp. & Endl.) H. Robinson
Sinónimos:	Polymnia sonchifolia Poeppig & Endlicher; Polymnia edulis Weddell

Fuente: Sequeiros 2003¹

En Colombia el yacón se cultiva ancestralmente en los municipios de la Sierra, Sotará, la Vega, San Sebastián, Santa Rosa (Sur Occidente Cauca); en las Reservas Naturales adscritas a la Red de Reservas de la Cocha (Nariño) y en el área rural del municipio de Garzón (Huila) principalmente, sin embargo se encuentra en peligro de extinción en sus centros de producción históricos, debido al poco conocimiento que las comunidades locales tienen sobre sus propiedades alimenticias, medicinales y ecológicas,².

La planta puede alcanzar entre 1.5 a 2.5 m de altura. Sus hojas por lo general son triangulares o acorazonadas y tienen un tamaño que alcanza fácilmente los 30 cm de longitud. En Japón, Brasil, y recientemente en el Perú, se usan las hojas secas para preparar un tipo de infusión (té de yacón) que es recomendado para controlar el nivel de glucosa en la sangre en personas con diabetes. Sin embargo, este efecto favorable sólo ha sido observado hasta ahora en estudios realizados con animales de laboratorio³.

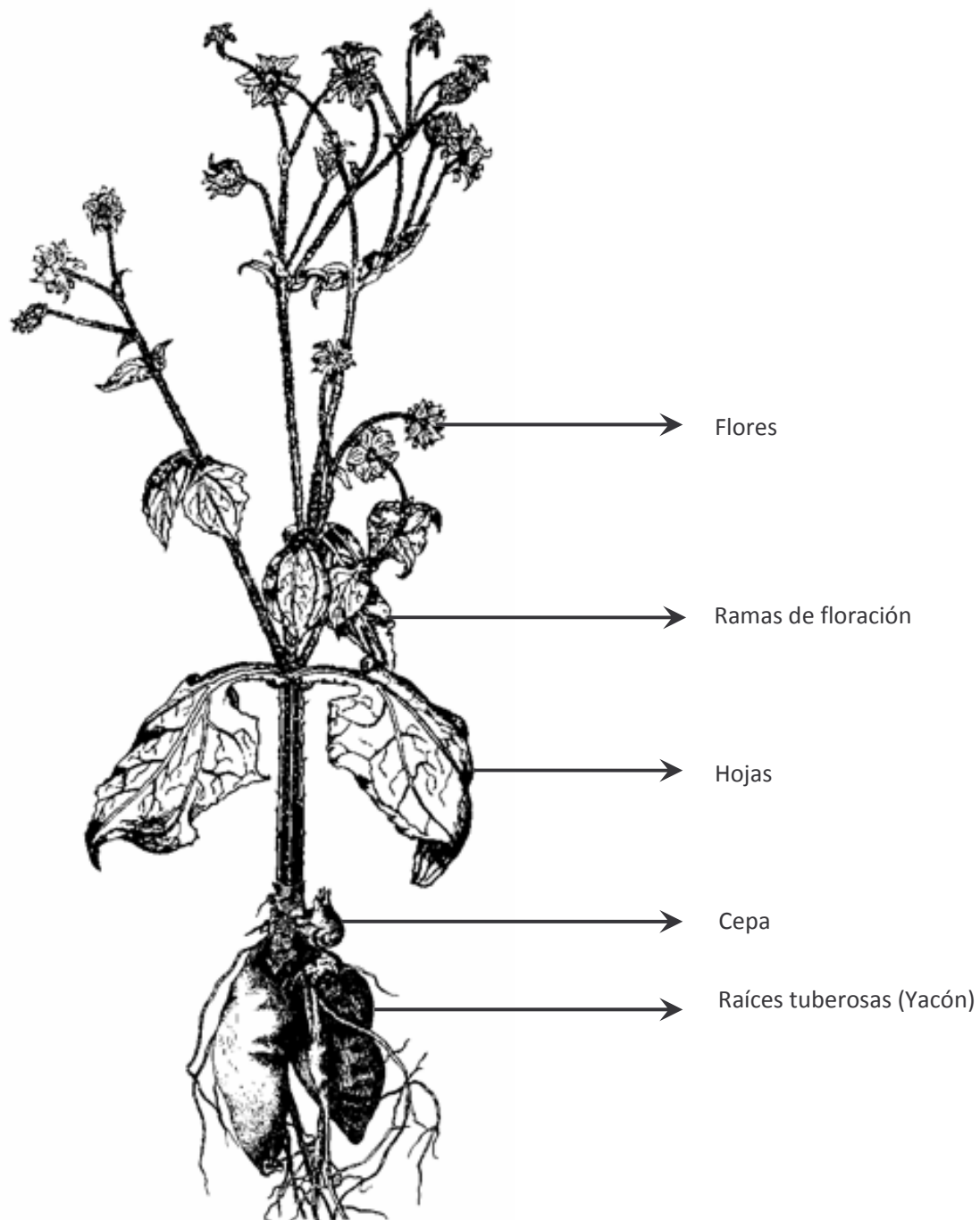
La siguiente figura muestra la estructura de la planta del yacón:

¹ SEQUEIROS, Nícalas. Elaboración de una bebida nutritiva a partir del yacón. Tacna – Perú. [en línea]. 2003. Disponible en internet: <URL: <http://www.unjbg.edu.pe/coin/pdf/01040700203.pdf>>

² GARCÍA, Op. cit. p. 1

³ MANRIQUE, Op. cit., p. 4

Figura 1. Partes de la planta de yacón



Fuente: Fletcher 2001¹

¹ FLETCHER, Rob. Yacón (*Smallanthus sonchifolius* syn. *Polymnia sonchifolia*). En: The Australian New Crops Newsletter. Issue N° 12. Julio 1999.

Figura 2. Follaje y raíces tuberosas de la planta de yacón



Fuente: Esta investigación

Aparte de las raíces tuberosas, las cuales no sirven para la propagación, el yacón forma un rizoma carnoso y ramificado llamado “cepa” en cuya superficie se desarrolla un abundante número de yemas. “Una cepa madura puede ser dividida entre 10 a 20 partes o propágulos, los cuales se usan tradicionalmente como semilla para sembrar el yacón. Cada propágulo puede contener entre 3 a 5 yemas de las cuales salen los brotes que formarán los tallos principales de la planta”¹.

Este arbusto se planta en cualquier época del año, no necesita mayores cuidados y la parte aérea muere después de florecer. “Las raíces tuberosas se pueden almacenar en la oscuridad por meses”².

“La cosecha del yacón se hace entre los 6 y 12 meses después de la siembra. Los factores que mayor incidencia tienen en la duración del periodo de cultivo son la localidad y la altura. En la medida en que la altura incrementa, el periodo de cultivo es mayor con un rendimiento por hectárea entre 20 y 40 toneladas, obviamente, la localidad y el cultivar juegan un rol importante en las variaciones del rendimiento”³.

¹ MANRIQUE, Op. cit., p. 4

² SALUD Y NUTRICIÓN alimentaria a base de cultivos andinos. Instituto para el Desarrollo de Proyectos Andinos. IDEPAS – Perú. Huancavelica, Perú. Disponible en internet: <URL: http://ertic.inictel.net/img_upload/e417a531c4c9d0b5e3a30b4d96cc64f5/SALUD_Y_NUTRICION__IDEPAS.pdf>

³ MANRIQUE, Op. cit., p. 4

4.2 DESCRIPCIÓN DE LAS RAÍCES

La forma y el tamaño de la raíz tuberosa del yacón se parece mucho a ciertos cultivares de camote, a tal punto que la similitud de las dos especies puede generar fácilmente confusiones a primera vista. La forma varía entre esférico a obovado y muy alargados, a menudo con formas contorsionadas que dificultan mucho el pelado e incrementan el costo del procesamiento. La superficie puede ser lisa, con hendiduras longitudinales y constricciones transversales.

Algunos cultivares de yacón tienen tendencia a formar un mayor número de raíces lisas y simétricas que otros. Las raíces tienen una cáscara bastante delgada y muy adherida a la pulpa. Esta puede tener una tonalidad cremosa, amarilla o anaranjada, a veces con jaspes morados. Los tejidos internos de las raíces son muy blandos debido a que acumulan una cantidad bastante alta de agua (alrededor de 90% del peso fresco de las raíces), característica que las predispone a sufrir rajaduras o a romperse fácilmente durante la cosecha, el embalaje y el transporte.

El peso de la raíz es altamente variable: dentro de una misma planta puede diferir entre 50 y 1000 g, aunque por lo general varía entre 200 y 500 g. Normalmente una planta produce entre 2 y 3 kg de raíces, pero es probable que su rendimiento supere los 5 kg si se aplican prácticas culturales apropiadas, como el uso de fertilizantes, riego adecuado, control de plagas y enfermedades, entre otras. En varios ensayos experimentales se ha conseguido, con cierta frecuencia, rendimientos superiores a los 10 kg por planta¹.

4.3 CULTIVOS DE YACÓN

Los agricultores utilizan el color de la raíz y del tallo para clasificar la diversidad del yacón.

Aunque existen diferencias en la composición química, el rendimiento y otras características relevantes, aún no se sabe en qué medida los factores genéticos (inherentes a los cultivos) y el medio ambiente afectan la expresión de estas características. Todo esto complica los intentos de identificación de cultivos. Por esta razón, y aunque no sea el proceso adecuado, resulta más fácil y práctico realizar la identificación de los mismos basándose en el color de las raíces y los tallos. "Si bien la diversidad de cultivos que existen de yacón ha sido poco estudiada, es probable que el número de cultivares de yacón no sea superior a veinte"².

¹ Ibid., p. 4

² Ibid., p.5

4.4 COMPOSICIÓN QUÍMICA

Entre 85 a 90% del peso fresco de las raíces de yacón se encuentra en forma de agua. A diferencia de la mayoría de raíces comestibles, el yacón no almacena almidón, sino que acumula sus carbohidratos en forma de fructooligosacáridos (FOS) y azúcares libres (fructosa, glucosa y sacarosa). Aunque la proporción de cada azúcar puede variar mucho, se puede considerar la siguiente composición (en base seca): FOS 40 a 70%, sacarosa 5 a 15%, fructosa 5 a 15% y glucosa menos del 5%. Las proteínas y los lípidos se encuentran en pequeñas cantidades, representando de 2.4 a 4.3% y 0.14 a 0.43% del peso de la materia seca, respectivamente. El mineral más abundante es el potasio, en promedio 230 mg/100 g de materia fresca comestible. En mucha menor cantidad se encuentran el calcio, fósforo, magnesio, sodio y hierro¹.

4.4.1 Los fructooligosacáridos (FOS). “Los FOS son azúcares de reserva que existen en varias familias de plantas, como la Liliaceae, Amaryllidaceae, Gramineae, Poaceae, Solanaceae y Compositae”², pero es en el yacón donde se encuentran en mayores cantidades.

La característica principal en su estructura química es que están constituidos por una molécula de glucosa ligada a un número variable – entre 2 a 10– de moléculas de fructosa. Los enlaces que mantienen unidas las moléculas de fructosa resisten la hidrólisis de las enzimas digestivas humanas y por ello los FOS alcanzan el colon, última porción del intestino grueso, sin sufrir ninguna modificación química. Esta es la razón por la que los FOS tienen una baja contribución calórica en el organismo humano (25 a 35% de las calorías que poseen la mayoría de carbohidratos)³.

4.4.2 Valor nutricional de los FOS. En el colon, los FOS del yacón son completamente fermentados por los probióticos, un grupo de bacterias benéficas que forman parte de la microflora intestinal. Estas bacterias (en particular algunas especies de los géneros *Bifidus* y *Lactobacillus*) contribuyen a mejorar la función gastrointestinal y aliviar diferentes desórdenes digestivos. Además, los FOS son reconocidos como un tipo de fibras solubles que generan varios efectos favorables en la digestión: aumentan el peristaltismo, reducen el tiempo del tránsito intestinal, contribuyen a que el bolo alimenticio retenga más agua y tienen un efecto

¹ Ibid., p.5

² CHACÓN, Op. cit., p. 268

³ MANRIQUE, Op. cit., p. 5

osmótico asociado a una respuesta laxante. Estos efectos pueden contribuir a prevenir y controlar el estreñimiento.

La fermentación de los FOS en el colon ha sido asociada a otros efectos favorables en la salud: fortalecimiento de la respuesta inmune, mejora en la asimilación de calcio, reducción en el nivel de colesterol y triglicéridos e inhibición de la producción de toxinas y sustancias pro cancerígenas en el colon. Sin embargo, estos efectos han sido observados mayoritariamente en animales de laboratorio, por lo que es necesario conducir estudios clínicos en humanos para determinar su verdadero efecto en la salud. Varios estudios han demostrado que el consumo de FOS no eleva el nivel de glucosa en la sangre. Por esta razón varias empresas recomiendan su inclusión en la dieta de los diabéticos como sustituto del azúcar de mesa¹.

4.4.3 Otros compuestos químicos importantes. En comparación a otras raíces y tubérculos, las raíces tuberosas del yacón tienen una alta cantidad de polifenoles, alrededor de 200 mg/100 g de materia fresca comestible.

Los polifenoles más abundantes son el ácido clorogénico y al menos cuatro fenoles solubles derivados del ácido caféico. Otros compuestos reportados con actividad antioxidante son el triptófano, la quercetina, el ácido ferúlico y el ácido gálico. Aunque la concentración de polifenoles en las raíces es alta, su concentración es mucho mayor en otros órganos de la planta, como las hojas y la cepa².

Los polifenoles son compuestos químicos que tienen actividad antioxidante, es decir tienen la capacidad de neutralizar la actividad oxidante de moléculas inestables –conocidas como radicales libres– que ingresan al cuerpo como contaminantes externos (humo de cigarro, contaminación atmosférica, pesticidas, ciertas grasas que se ingieren en la dieta, etc). Los radicales libres dañan las membranas de las células, llegando a destruir y mutar su información genética, facilitando así el camino para que se desarrollen diversos tipos de enfermedades, como el cáncer y algunas enfermedades degenerativas. Su acción está ligada también al daño causado en las arterias por la oxidación del colesterol LDL o colesterol bueno, lo que aumenta el riesgo de enfermedades cardiovasculares.

Algunos estudios han demostrado que la infusión de hojas de yacón ayuda a reducir el nivel de glucosa en la sangre en ratas normales y diabéticas. Sin embargo, se desconoce el componente químico

¹ Ibid., p.6

² Ibid., p.6

responsable de este efecto y si éste se encuentra también en las raíces. Aunque el sentido común indica que los FOS podrían tener alguna relación con este efecto, es poco probable que sea así ya que su concentración en las hojas es demasiado baja¹.

4.5 CUIDADOS DURANTE LA COSECHA Y POSTCOSECHA

En comparación a otras raíces, el yacón es excepcionalmente susceptible al daño físico, sobre todo durante la cosecha y el transporte. Las raíces tuberosas están unidas a la cepa por un cuello delgado y fibroso que a veces resulta difícil de romper. Durante la cosecha tradicional se jalan fuertemente las raíces con el fin de separarlas de la cepa. El problema es que al romper el cuello se produce, por lo general, una herida en la raíz y con ello un probable foco de contaminación microbiológico. Es preferible usar un cuchillo u otra herramienta para hacer un corte limpio en el cuello sin afectar la integridad de las raíces.

Las raíces sufren muchos golpes durante la cosecha o se maltratan fácilmente cuando soportan pesos excesivos durante el embalaje y el transporte. Se debe evitar en todo momento golpear las raíces y apilar mucho peso en los contenedores ya que las raíces son bastante susceptibles a sufrir rajaduras y a romperse fácilmente por este tipo de manipulación. La tierra adherida a la superficie de las raíces recién cosechadas puede otorgar protección frente al rozamiento y a la deshidratación durante el transporte. Por este motivo, es recomendable evitar el lavado del yacón antes del transporte.

Diferentes estudios han demostrado que luego de la cosecha las raíces empiezan un rápido proceso de cambio en la composición química de sus azúcares: los FOS son hidrolizados en azúcares simples por la acción de una enzima llamada fructano hidrolasa, que los convierte en fructosa, sacarosa y glucosa. Después de una semana en almacenamiento a temperatura ambiente, alrededor del 30 a 40% de los FOS se habrán transformado en azúcares simples. Sin embargo, la velocidad de esta conversión es más lenta si se almacena el yacón a temperaturas de refrigeración. Las temperaturas de refrigeración son útiles también para reducir la tasa de pudrición y deterioro de las raíces durante el almacenamiento. Las raíces pueden llegar a perder alrededor del 40% de su peso en tan sólo una semana, únicamente por efecto de la deshidratación al medio ambiente².

¹ Ibid., p.7

² Ibid., p.7

4.6 LA INULINA

4.6.1 Reseña histórica. En 1804, Rose un científico alemán, obtuvo con agua hirviendo el primer aislado de una peculiar sustancia de origen vegetal a partir de un extracto de *Inula helenium*, que en 1818 Thomson llamó inulina. El alemán, fisiólogo de plantas, Julius Sachs (1864) fue un pionero en la investigación de fructanos y, mediante el uso de un microscopio, pudo detectar esferocristales de inulina en los tubérculos de *Dahlia*, *Helianthus tuberosus* e *Inula helenium* después de su precipitación en etanol. Aunque hoy en día, la achicoria es el principal cultivo utilizado para la producción industrial de inulina, la primera referencia que se conoce sobre el consumo de la achicoria se produjo durante la primera mitad del siglo XIX por Pedanios Dioscoride que, como médico del ejército de Roma, elogió la planta por sus efectos beneficiosos en el estómago, el hígado y los riñones. En un plano fisiológico, Kûlz, informó en 1874 que la orina de diabéticos estaba libre de azúcar tras incluir en su dieta entre 50 y 120 g de inulina por día, y a finales del siglo XIX Von Mehring en 1876, dio a conocer que la alimentación de los pacientes diabéticos con inulina pura en dosis de 40 a 100 g al día dio resultados positivos. Los primeros estudios de los efectos de la inulina en hombres sanos se dieron en 1912, mientras que la no toxicidad de la inulina se demostró de manera contundente algunos años más tarde gracias a Shannon y Smith en 1935, cuando uno de los autores se inyectó a sí mismo por vía intravenosa 160 g de inulina. Posteriormente, como la inulina pasó de ser un mero objeto de interés científico a un producto industrial con muchas aplicaciones, hubo un importante estímulo de la investigación relacionada con su producción y uso¹.

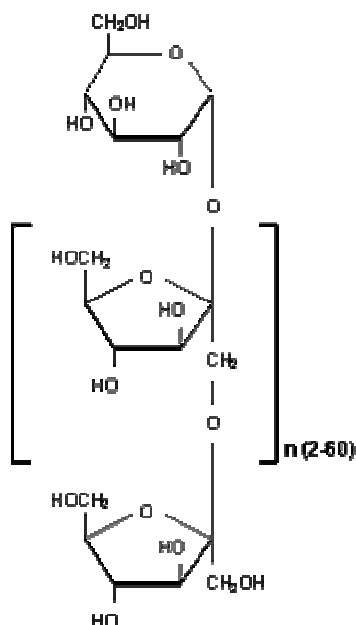
4.6.2 Generalidades de la inulina. Cuando un oligofructosacárido presenta de manera predominante o incluso exclusiva la unión β -(2 \rightarrow 1) fructosil-fructosa (“enlace inulina”), recibe el nombre genérico de inulina.

La inulina constituye una mixtura polidispersa muy heterogénea de carbohidratos y polímeros, que tienen la misma estructura química básica. La inulina obtenida del tejido vegetal con agua caliente, suele denominarse “inulina bruta” porque además de la parte polímera contiene monosacáridos como glucosa y fructosa y disacáridos como sacarosa hasta en un 10%, sin embargo la inulina puede dissociarse en cadenas cortas con un grado de polimerización (GP) de 10 – 12 aproximadamente dejando así libre inulina cuyas moléculas sean exclusivamente de cadena larga con un GP >20. La inulina de cadena larga a diferencia de la cadena corta, precipita en condiciones adecuadas de la solución acuosa en presencia de altas concentraciones o mediante adición de cristales inyectados. La longitud de la cadena

¹ FRANCK, A. and DE LEENHER, L. Inulin. [en línea]. [citado el 24 de febrero 2008]. Disponible en internet: <URL: http://www.wiley-vch.de/books/biopoly/pdf_v06/bpol6014_439_448.pdf>

depende tanto del tipo de planta como de la fase de crecimiento de la misma¹.

Figura 3. Estructura molecular de la inulina



Fuente: Chacón 2006.

Los enlaces del tipo $\beta(2 \rightarrow 1)$ son los responsables de que los FOS y principalmente la inulina no sean digeribles como lo sería cualquier carbohidrato típico, lo que a su vez tiene como consecuencia que tengan un bajo valor calórico y una funcionalidad nutricional como fibra dietética.

A nivel industrial, la inulina se presenta como un polvo blanco, sin olor, con sabor neutral y sin efecto residual. La inulina nativa, a diferencia de la inulina de alta pureza, contiene azúcares libres (glucosa, fructosa, sacarosa), lo que le confiere cierto dulzor (10% del dulzor de la sacarosa). La inulina de alta pureza presenta menor solubilidad que la inulina nativa, debido a la casi total ausencia de azúcares libres (0,5 % de materia seca)².

En la siguiente tabla se presenta un resumen de las características de la inulina:

¹ KUNZ, Op. cit., p. 2

² Ibid., p. 1

Tabla 2. Características fisicoquímicas de la inulina nativa

Característica	Parámetro
Estructura química	GF(2=n=60)
GP	12
Materia seca (g/100g)	95
Pureza (g/100g)	92
Azúcares (g/100g)	8
pH	5 - 7
Cenizas (g/100g)	<0.2
Metales pesados (g/100g secos)	<0.2
Apariencia	Polvo blanco
Sabor	Neutral
Dulzor % (Vs sacarosa 100%)	10
Solubilidad en agua a 25 °C (g/l)	120
Viscosidad en agua (5% p/p solución acuosa) a 10°C	1.6
Funcionalidad en alimentos	Sustituto de grasa
Sinergismo	Con agentes gelificantes

G: Unidades de glucosa; F: Unidades de fructosa

Fuente: Madrigal 2007¹

“Otros estudios reportan solubilidad de inulina en agua igual a 60 g/l a una temperatura de 10 °C y de 330 g/l a 90 °C”² aunque Silver³ reporta una solubilidad de 30 g/l a 30 °C. Además, en su fase sólida pura suele presentar formas cristalinas, las cuales suelen ser higroscópicas y difíciles de mantener en forma liofilizada a no ser que se empleen atmósferas modificadas. Estos cristales pueden tener puntos de fusión que van de los 199 °C a los 200 °C cuando se trata de inulina de bajo grado de polimerización. La solubilidad es también apreciable en etanol al 80% especialmente a una elevada temperatura de alrededor de 80 °C.

La capacidad de ser hidrosolubles otorga a los FOS propiedades humectantes cuando se emplean como aditivos en la industria de alimentos. La viscosidad de las disoluciones de FOS es generalmente más alta que la de los demás carbohidratos a la misma concentración y suelen ser de mayor estabilidad térmica.

El método oficial para la detección y cuantificación de FOS es un método basado en una cromatografía de intercambio iónico de alta resolución medida con una detección electrónica. El método cromatográfico de

¹ MADRIGAL, Lorena y SANGRONIS, Elba. La inulina y derivados como ingredientes claves en alimentos funcionales. En: Archivos Latinoamericanos de Nutrición – ALAN. Año 2007. Volumen 57. Número 4.

² CHACÓN, Op., cit., p. 269

³ SILVER, Op. cit., p. 3

intercambio iónico consiste en disolver la muestra en agua caliente para separar la fracción soluble que incluye los FOS, seguido de una filtración centrífuga para 10.000 Da. Las muestras filtradas se someten ahora a un cromatógrafo de intercambio iónico cuyo gradiente de elusión se encuentra programado, comparándose luego las áreas y los picos obtenidos con patrones estandarizados en una curva de calibración. Es posible emplear un detector del tipo PED (Detector de Emisión de plasma o Emisión Atómica). No obstante este no es el único método de detección y cuantificación al que se puede recurrir, siendo posible emplear cromatografía HPLC o cromatografía líquida. La cromatografía HPLC es muy útil especialmente en la determinación de la composición molecular de los FOS. La muestra se extrae en agua y después de sufrir una metilación se somete a la cromatografía¹.

4.6.3 Fuentes de inulina. Los FOS, y más explícitamente la inulina, son compuestos orgánicos fundamentalmente de origen vegetal encontrados comúnmente en la dieta humana desde tiempos inmemoriales.

Los FOS, pueden ser elaborados de manera natural por microorganismos, hongos y plantas. Artificialmente, pueden ser sintetizados a partir de la sucrosa gracias a la acción de la enzima fructofuranosidasa que se extrae de hongos como *Aureobasidium* sp., *Candida* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp., y *Aspergillus niger*.

Hasta 36.000 especies diferentes de plantas contienen entre sus carbohidratos de reserva a diversos tipos de FOS. En algunas de estas plantas el contenido de FOS puede llegar a constituir hasta el 24% de la masa cruda. Las principales familias de plantas que incluyen a los FOS en su composición son la Liliaceae, Amaryllidaceae, Gramineae, Poaceae, Solanaceae y Compositae. Es común encontrar FOS en alimentos tales como el trigo, que de hecho es la principal fuente nutricional de los mismos en los Estados Unidos. Las gramíneas en general pueden tener contenidos de FOS que rondan entre 0,38 g/100g y 0,96 g/100g. Es además significativa la cantidad de FOS presentes en alimentos tales como: ajo (*Allium sativum* L.), cebolla (*Allium cepa* L.), cebada (*Hordeum distichum*, *Hordeum tetrastichum*, *Hordeum hexastichum*), maní (*Arachis hypogaea* L.), tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill), espárrago (*Asparagus officinalis* L.), puerro (*Allium porrum* L.), y hasta las bananas (*Musa* sp.). En estos alimentos los FOS aportan valores energéticos entre 1 y 1,5 kcal/g².

¹ CHACÓN, Op. cit., p. 269

² Ibid., p. 270

Tabla 3. Fuentes comunes de inulina

Fuente	% de Inulina
Alcachofa	2-6
Raíz de espárrago	10-15
Plátano/banana	0,3
Raíz de achicoria	15-20
Tubérculo de dalia	15-20
Amargón	15-20
Bardana comestible (raíz)	16
Ajo	15-25
Alcachofa de la tierra	15-20
“Leak”	10-15
Cebolla	2-6
Centeno	0,7
Salsifí blanco	15-20
Trigo	0,4
Yacón	15-20

Fuente: Silver. 2004¹

No obstante, si de cantidades se trata, las principales fuentes de FOS son la achicoria (*Cichorium intybus*), alcachofa (*Cynara scolymus*), alcachofa de Jerusalén conocida también como topinambur (*Helianthus tuberosus*), alcachofa globo (*Cynara cardunculus*), yacón (*Smallanthus sonchifolius*) y dalia (*Dahlia pinnata* Cav.).

A diferencia de otras raíces y tubérculos que almacenan sus carbohidratos en forma de almidón, “el yacón los conserva principalmente en forma de FOS, que no son metabolizados por el organismo humano y que, por lo tanto, no aportan calorías al organismo, convirtiendo al cultivo en una fuente potencialmente importante para la industria de edulcorantes”².

4.7 PRINCIPIOS DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO

La extracción sólido-líquido es una operación que permite separar los componentes presentes en una mezcla sólida mediante contacto con un disolvente que disuelve selectivamente a algunos de dichos componentes. Se trata, por tanto, de una “operación de transferencia de materia en la que determinados componentes se transportan desde una fase sólida hasta una fase líquida”³.

¹ SILVER, Op. cit., p. 2

² CHACÓN, Op. cit., p. 273

³ AGUADO, J. et al. Ingeniería de la Industria Alimentaria. Vol II. Operaciones de procesado de alimentos. Madrid: Editorial Síntesis. p. 153

4.7.1 Equilibrio de extracción. La extracción sólido-líquido se lleva a cabo poniendo en contacto el alimento sólido de partida con el disolvente durante un período de tiempo determinado. A continuación, la mezcla resultante se separa para dar lugar a dos fases:

- **Extracto.** Es la fase líquida formada mayoritariamente por el disolvente y el soluto o solutos que han sido solubilizados. No obstante, el extracto también puede contener partículas sólidas que como consecuencia de su pequeño tamaño, no se han separado por decantación o han sido arrastradas por la corriente de extracto.
- **Residuo.** También denominado *agotado* o *refinado*. Se trata de un sólido humedecido formado por todos los sólidos que no se han disuelto, aunque también incorpora parte de la disolución que ha quedado adherida a las partículas sólidas.

Si el tiempo de contacto es lo suficientemente largo, el sistema llegará a alcanzar el equilibrio termodinámico, es decir el extracto y el residuo obtenidos se encuentran en equilibrio. En ese caso la etapa de contacto se denomina ideal o de equilibrio. Con frecuencia, en las etapas de extracción reales el tiempo de operación no es lo suficientemente largo como para que se alcance dicho equilibrio¹.

4.7.2 Cinética de extracción. La velocidad a la que se produce la extracción sólido-líquido viene determinada en gran medida por las etapas y fenómenos que tienen lugar:

- Absorción del disolvente por la fase sólida, lo que provoca un hinchamiento de las partículas. Este fenómeno puede estar impulsado por diferentes causas: fuerzas osmóticas, capilares y de solvatación de los iones contenidos en el sólido.
- Disolución del soluto. Se produce con gran rapidez si el soluto se encuentra como tal componente y en contacto directo con el disolvente. Es el caso de extracciones en las que la mezcla sólida se ha sometido previamente a un tratamiento de prensado con objeto de romper las paredes celulares y liberar los solutos contenidos en el interior de las células. En caso contrario, la solubilización no es tan inmediata ya que es el propio disolvente, normalmente caliente, el que provoca la desnaturalización de las paredes celulares para que permitan el transporte de los solutos a través de las mismas, lo que requiere un cierto tiempo de tratamiento. En otras ocasiones, el soluto no se en-

¹ Ibid., p. 154

cuentra como tal componente en la mezcla de partida sino que forma parte de macromoléculas insolubles. La extracción de este tipo de componentes requiere que el disolvente actúe como un agente químico provocando la degradación de dichas macromoléculas, normalmente mediante procesos hidrolíticos o enzimáticos.

- Transporte interno del soluto a través de los poros del sólido hasta alcanzar la superficie externa de las partículas.
- Transporte externo del soluto a través de la capa límite que rodea las partículas sólidas hasta el seno de la disolución¹.

4.7.3 Factores que influyen en la extracción sólido-líquido. Las variables y factores que se deben considerar al diseñar una operación de extracción son los siguientes:

- **Disolvente.** El disolvente es la variable que determina en mayor medida el resultado de la extracción. Un buen disolvente ha de poseer no sólo una elevada solubilidad del soluto que se desea extraer, sino también una elevada selectividad, lo que implica que no debe disolver al resto de componentes presentes en el sólido de partida. La elección del disolvente se lleva a cabo, por tanto, teniendo en cuenta la naturaleza del soluto o solutos a extraer. El disolvente más utilizado en la Industria Alimentaria es el agua, ya que combina su bajo precio y elevada disponibilidad con un gran poder disolvente de numerosos componentes: azúcares, proteínas, sales minerales, etc. No obstante, cuando los solutos son compuestos orgánicos apolares, su baja solubilidad hace necesario recurrir a disolventes diferentes del agua.

- **Temperatura.** Es una variable que afecta positivamente tanto al equilibrio como a la velocidad de extracción. Un aumento de la temperatura provoca un incremento en la solubilidad del soluto, favorece la desnaturalización de las paredes celulares, haciéndolas más permeables, y acelera las etapas físicas de transporte. No obstante, una temperatura demasiado alta puede tener también efectos negativos, al dañar a los componentes termo-sensibles o al producir la disolución de especies no deseadas, con la consiguiente pérdida de selectividad e impurificación del extracto. Cuando la extracción se basa en el desarrollo de procesos hidrolíticos y/o enzimáticos, la temperatura se fija en los niveles óptimos para este tipo de reacciones.

¹ Ibid., p. 156

Con frecuencia, la temperatura no se mantiene constante durante la extracción, sino que se eleva progresivamente a fin de conseguir mayores grados de recuperación del soluto.

- **pH.** Se trata de una variable que afecta en gran medida a la solubilidad del soluto. Una adecuada selección del pH del medio de extracción puede permitir obtener una elevada solubilidad del soluto a extraer, al mismo tiempo que evita la disolución de componentes no deseados. El pH posee un efecto notable cuando la extracción requiere del transcurso de reacciones hidrolíticas o enzimáticas, ya que la actividad de estos procesos depende en gran medida de la acidez o basicidad del medio. En el caso de procesos enzimáticos, el pH se selecciona de forma que la actividad de la enzima sea máxima.

- **Tamaño de las partículas sólidas.** Normalmente, interesa que el sólido de partida se encuentre en forma de partículas de pequeño tamaño ya que, de esta forma, se incrementa la superficie útil de transferencia de materia y se favorece el transporte interno del soluto y disolvente. Por ello, la extracción suele ir precedida de una operación de disminución de tamaño del sólido mediante corte, trituración, molienda, etc. No obstante, un tamaño de partícula muy pequeño tampoco es aconsejable ya que dificulta la circulación relativa de las fases líquidas y sólidas, y favorece que, una vez finalizada la extracción, la separación del residuo y del extracto no sea total, quedando este último impurificado por la presencia de partículas sólidas en suspensión¹.

4.8 PRINCIPIOS DEL PROCESO DE CRISTALIZACIÓN

La operación de cristalización permite separar un componente de una solución líquida transfiriéndolo a la fase sólida en forma de cristales que precipitan. Es una operación necesaria para todo producto químico que se presenta comercialmente en forma de polvos o cristales.

En la cadena de operaciones unitarias de los procesos de fabricación se ubica después de la evaporación y antes de la operación de secado de los cristales y envasado.

“Toda sal o compuesto químico disuelto en algún solvente en fase líquida puede ser precipitada por cristalización bajo ciertas condiciones de concentración y temperatura que se establecen dependiendo de las características y propiedades

¹ Ibid., p. 158

de la solución, principalmente la solubilidad o concentración de saturación, la viscosidad de la solución, entre otros”¹.

4.8.1 Sobresaturación. La cristalización a partir de una solución es un ejemplo de la creación de una nueva fase dentro de una mezcla homogénea. El proceso tiene lugar en dos etapas. La primera de ellas consiste en la formación del cristal y recibe el nombre de nucleación. La segunda corresponde al crecimiento del cristal. El potencial impulsor de ambas etapas es la sobresaturación.

Para generar la sobresaturación se pueden utilizar tres métodos distintos. Si la solubilidad del soluto aumenta fuertemente con la temperatura, como ocurre frecuentemente con muchas sales inorgánicas y sustancias orgánicas, una solución saturada se transforma en sobresaturada simplemente disminuyendo la temperatura por enfriamiento. Si la solubilidad es relativamente independiente de la temperatura como en el caso de sal común, la sobresaturación se puede dar evaporando una parte del disolvente. Si tanto el enfriamiento como la evaporación no resultan adecuados, como en el caso de solubilidad elevada, la sobresaturación se puede generar añadiendo un tercer componente. El tercer componente puede actuar físicamente dando lugar a una mezcla con el disolvente original en la que la solubilidad del soluto disminuye bruscamente. También, si se desea una precipitación prácticamente completa, se puede crear químicamente un nuevo soluto añadiendo un tercer componente que reaccione con el soluto original para formar una sustancia insoluble. Este proceso recibe el nombre de precipitación, los métodos utilizados en análisis cuantitativo constituyen ejemplos típicos de precipitación. Mediante la adición de un tercer componente es posible crear rápidamente sobresaturaciones muy grandes².

4.8.2 Solubilidad de equilibrio en la cristalización. El equilibrio en la cristalización de cualquier sistema puede ser definido en términos de su curva de solubilidad o saturación y sobresaturación. La curva de sobresaturación difiere de la de solubilidad en que su posición no es solamente una propiedad del sistema sino también depende de otros factores como el rango de enfriamiento, el grado de agitación y la presencia de partículas extrañas.

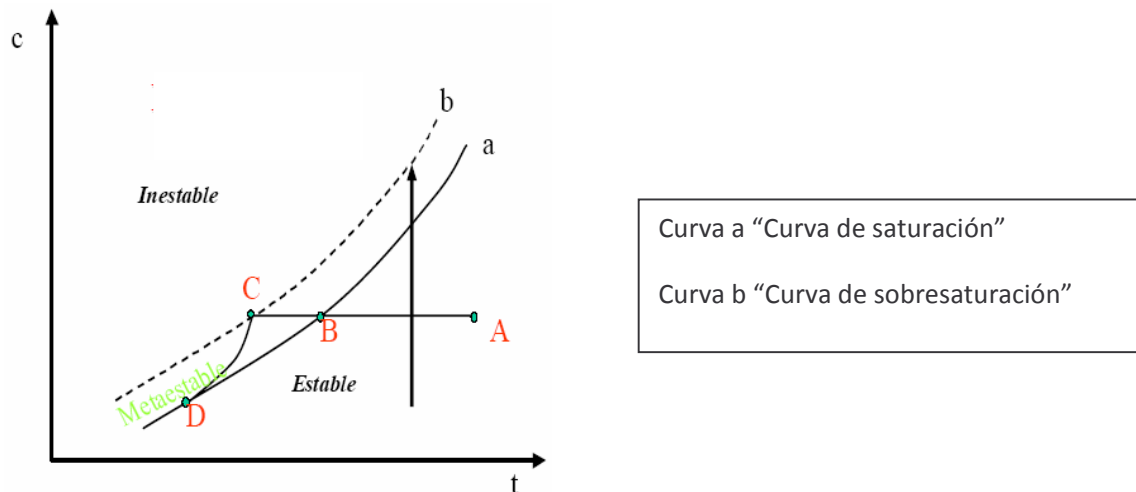
Sin embargo bajo ciertas condiciones, la curva de sobresaturación para un sistema dado es definible, reproducible, y representa la máxima sobresaturación

¹ TEORÍA DE la cristalización. [en línea]. [citado el 27 de enero 2008]. Disponible en: <URL: <http://www.textoscientificos.com/quimica/cristales/teoria-cristalizacion> >

² Ibid. p. 1

que el sistema puede tolerar, punto en el cual la nucleación ocurre espontáneamente. La curva de solubilidad describe el equilibrio entre el soluto y el solvente y representa las condiciones bajo las cuales el soluto cristaliza y el licor madre coexiste en equilibrio termodinámico.

Figura 4. Diagrama de equilibrio en cristalización Teoría de Meers



Fuente: Cristalización: Introducción¹

Las curvas de saturación y sobresaturación dividen el campo de concentración-temperatura en tres zonas:

- La región insaturada o zona estable, a la derecha de la curva de saturación donde no es posible la cristalización
- La región metaestable o zona sobresaturada, entre las curvas de sobresaturación y saturación donde la cristalización espontánea es improbable.
- La región sobresaturada, lábil o inestable, a la izquierda de la curva de sobresaturación donde es probable la cristalización espontánea.

4.8.3 Nucleación. El fenómeno de la nucleación es esencialmente el mismo para la cristalización a partir de una solución, cristalización a partir de un producto fundido, condensación de gotas de niebla en un vapor sobre-enfriado, y generación de burbujas en un líquido sobrecalentado, en todos los casos, la nucleación se produce como consecuencia de rápidas fluctuaciones locales a

¹ CRISTALIZACIÓN: INTRODUCCIÓN. [en línea]. [citado el 28 de enero 2008]. Disponible en: <URL: <http://www.iq.uva.es/opsep2/cristalizacion/cristalizaci%C3%B3n.pdf>>

escala molecular en una fase homogénea que esta en estado de equilibrio metaestable.

Los núcleos cristalinos se pueden formar a partir de moléculas, átomos, o iones. En soluciones acuosas pueden ser hidratados. Debido a sus rápidos movimientos, estas partículas reciben el nombre de unidades cinéticas.

Debido a las fluctuaciones, una unidad cinética individual penetra con frecuencia en el campo de fuerza de otra y las dos partículas se unen momentáneamente, lo normal es que se separen inmediatamente, pero, si se mantienen unidas, se le pueden unir sucesivamente otras partículas. Las combinaciones de este tipo reciben el nombre de agregados. Al aumentar considerablemente el número de partículas, el agregado se puede ya reconocer y recibe el nombre de embrión. La inmensa mayoría de los embriones tienen una vida muy corta, rompiéndose para volver a formar agregados o unidades individuales. Sin embargo, dependiendo de la sobresaturación, algunos embriones crecen hasta un tamaño suficiente para alcanzar el equilibrio termodinámico con la solución. En este caso el embrión recibe el nombre de núcleo. El número de partículas para un núcleo está comprendido en el intervalo de unas pocas unidades a varios centenares.

Los núcleos se encuentran en equilibrio inestable: si pierden unidades se disuelven y si las ganan se transforman en un cristal, la secuencia de etapas en la formación de un cristal es por consiguiente¹:

Agregado => embrión => núcleo => cristal

4.8.4 Efecto de las impurezas. La presencia de relativamente bajas concentraciones de sustancias ajenas a las especies a cristalizar, impurezas, juega un importante papel en la optimización de los sistemas de cristalización. Su papel es muy importante por diversas razones.

La primera, todos los materiales son impuros o contienen trazas de impurezas añadidas durante su procesamiento. La variación aleatoria de las impurezas es un efecto indeseable. Su efecto en las especies a cristalizar debe ser bien conocido, si sobre el sistema de cristalización se desea establecer un control satisfactorio. La segunda, y la más importante, es posible influenciar la salida y el control del sistema de cristalización, o cambiar las propiedades de los cristales mediante la adición de pequeñas cantidades de aditivos cuidadosamente elegidos.

¹ TEORÍA DE la cristalización, Op., cit. p. 1

Esto, agregando ciertos tipos y cantidades de aditivos es posible controlar el tamaño de los cristales, la distribución de tamaño del cristal, el hábito del cristal y su pureza.

El ambiente químico puede ser utilizado apropiadamente para:

1. Alterar significativamente la cinética de cristalización y de aquí la distribución de tamaño del cristal.
2. Tener mejor control del cristizador.
3. Mejorar la calidad del producto y/o el rendimiento, mediante la producción de un cierto tipo de cristal.
4. Producir cristales muy puros de ciertos materiales en los cuales las impurezas sean inaceptables¹.

4.8.5 Efecto de la temperatura sobre la solubilidad. Recordemos que la solubilidad se define como la máxima cantidad de un soluto que se puede disolver en una determinada cantidad de un disolvente a una temperatura específica.

“La temperatura afecta la solubilidad de la mayoría de las sustancias. En la mayoría de los compuestos iónicos, aunque no en todos, la solubilidad de la sustancia sólida aumenta con la temperatura”².

4.8.6 Tipo de cristales. Para poder cristalizar, un soluto cualquiera debe eliminar su calor latente o entalpía de fusión, por lo que la fase cristalina además de ser la más pura, es la de menor nivel energético de las tres fases físicas de la materia, en la que las moléculas permanecen inmóviles unas respecto a otras, formando estructuras en el espacio, con la misma geometría, sin importar la dimensión del cristal.

Un cristal puede ser definido como un sólido compuesto de átomos arreglados en orden, en un modelo de tipo repetitivo. La distancia interatómica en un cristal de cualquier material definido es constante y es una característica del material. Debido a que el patrón o arreglo de los átomos es repetido en todas direcciones, existen restricciones definidas en el tipo de simetría que el cristal posee.

La forma geométrica de los cristales es una de las características de cada sal pura o compuesto químico, por lo que la ciencia que estudia los cristales en general, la cristalografía, los ha clasificado en siete sistemas universales de cristalización:

¹ Ibid. p. 1

² Ibid. p. 1

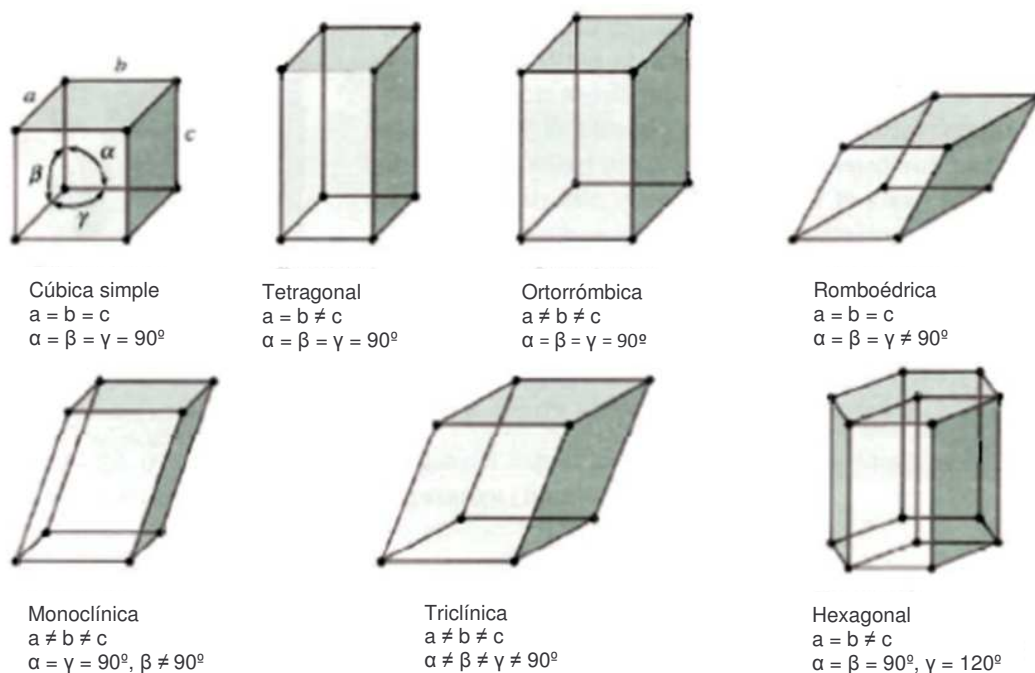
- **Sistema Cúbico.** Las sustancias que cristalizan bajo este sistema forman cristales de forma cúbica, los cuales se pueden definir como cuerpos en el espacio que manifiestan tres ejes en ángulo recto, con “segmentos”, “látices”, ó “aristas” de igual magnitud, que forman seis caras o lados del cubo. A esta familia pertenecen los cristales de oro, plata, diamante, cloruro de sodio, entre otros.
- **Sistema Tetragonal.** Estos cristales forman cuerpos con tres ejes en el espacio en ángulo recto, con dos de sus segmentos de igual magnitud, hexaedros con cuatro caras iguales, representados por los cristales de óxido de estaño.
- **Sistema Ortorrómbico.** Presentan tres ejes en ángulo recto pero ninguno de sus lados o segmentos son iguales, formando hexaedros con tres pares de caras iguales pero diferentes entre par y par, representados por los cristales de azufre, nitrato de potasio, sulfato de bario, entre otros.
- **Sistema Monoclínico.** Presentan tres ejes en el espacio, pero sólo dos en ángulo recto, con ningún segmento igual, como es el caso del bórax y de la sacarosa.
- **Sistema Triclínico.** Presentan tres ejes en el espacio, ninguno en ángulo recto, con ningún segmento igual, formando cristales ahusados como agujas, como es el caso de la cafeína.
- **Sistema Hexagonal.** Presentan cuatro ejes en el espacio, tres de los cuales son coplanares en ángulo de 60° , formando un hexágono bencénico y el cuarto en ángulo recto, como son los cristales de zinc, cuarzo, magnesio, cadmio, entre otros.
- **Sistema Romboédrico.** Presentan tres ejes de similar ángulo entre sí, pero ninguno es recto, y segmentos iguales como son los cristales de arsénico, bismuto y carbonato de calcio y mármol.

Además de su forma geométrica, los cristales son caracterizados por su densidad, su índice de refracción y color.

Los cristales se producen mediante diversos métodos de cristalización que van desde los más sencillos que consisten en dejar reposar recipientes que se llenan originalmente con soluciones calientes y concentradas, hasta procesos continuos rigurosamente controlados y otros con muchos pasos o etapas diseñados para proporcionar un producto que tenga uniformidad en la forma, tamaño de la partícula, contenido de humedad y pureza.

A continuación se muestra la forma geométrica de cristales que pertenecen a cada uno de los sistemas antes citados:

Figura 5. Cristales de los sistemas de cristalización



Fuente: Estructura de los sólidos¹

El proceso de cristalización debe su importancia a la gran pureza y la forma atractiva del producto químico sólido, que se puede obtener a partir de soluciones relativamente impuras en un solo paso de procesamiento. En términos de los requerimientos de energía, la cristalización requiere mucho menos para la separación que lo que requiere la destilación y otros métodos de purificación utilizados comúnmente. Además se puede realizar a temperaturas relativamente bajas y a una escala que varía desde unos cuantos gramos hasta miles de toneladas diarias. La cristalización se puede realizar a partir de un vapor, una fusión o una solución. La mayor parte de las aplicaciones industriales de la operación incluyen la cristalización a partir de soluciones².

¹ ESTRUCTURA de los sólidos. [en línea]. 2004. [citado el 8 de abril de 2009]. Disponible en internet: <URL: http://docencia.udea.edu.co/qf/farmacotecnia/01/01_solidos.html>

² TEORÍA DE la cristalización, Op., cit. p. 1

4.9 AVANCES EN LA EXTRACCIÓN Y CRISTALIZACIÓN DE INULINA A PARTIR DE MATERIAL VEGETAL

Es necesario mencionar que la mayoría de los estudios realizados con respecto a la extracción de inulina, toman como materia prima las raíces de achicoria, bulbos de dalia y alcachofa de Jerusalén debido a que estos tubérculos se cultivan en mayor cantidad en comparación con el yacón, por lo tanto con fines de la investigación se tomará como referencia la información de estos estudios pues los mecanismos de extracción utilizados sirven para la obtención de inulina a partir de cualquier material vegetal que la contenga, pues como afirma Chacón¹: Los FOS se extraen de los vegetales por simple molienda y solubilización en agua caliente.

Existen varios estudios que ofrecen múltiples alternativas para la extracción y cristalización o separación de inulina. Por ejemplo en la patente española de Silver², se plantea un proceso de extracción de inulina a partir de achicoria que consta de tres etapas: Extracción, pasteurización y clarificación y la separación de inulina en diferentes fracciones.

Del mismo modo en una forma de ejecución típica de procesos para la fabricación de inulina de achicoria, las técnicas de fabricación convencionales comprenden las siguientes etapas consecutivas:

1. Aislamiento de la inulina a partir de las raíces de achicoria, proporcionando una solución acuosa de inulina bruta.
2. Purificación de la inulina bruta obtenida en la etapa (1), produciendo una solución acuosa de inulina purificada, opcionalmente seguida por concentración de esta solución para el retiro parcial del agua produciendo un concentrado de inulina purificado; y
3. Aislamiento de la inulina a partir de la solución acuosa o concentrado de inulina purificada obtenida en la etapa (2), produciendo respectivamente inulina de achicoria en partículas.
Por su parte, las técnicas adecuadas para el aislamiento de inulina a partir de raíces de achicoria comprenden, por ejemplo, trituración y molturación húmeda o molienda de las raíces de achicoria o preferiblemente, extracción de la inulina con agua caliente a partir de raíces de achicoria cortadas en láminas o desmenuzadas recientemente. Las técnicas adecuadas para la purificación de la inulina bruta obtenida en la etapa (1) comprenden, por ejemplo, depuración del líquido acuoso

¹ CHACÓN, Op. cit., p. 272

² SILVER, Op. cit., p. 7

por tratamiento en baño de cal y carbonatación u otra técnica de floculación y filtración, seguido por el refinado que comprende por ejemplo tratamiento sobre intercambiadores de iones, tratamiento con carbón activado y filtración o ultrafiltración, mientras que la solución puede ser concentrada por la retirada parcial del agua por medio de calor y/o presión reducida.

El aislamiento de la inulina de achicoria de calidad estándar o inulina de achicoria de calidad estándar mejorada en forma de partículas a partir de la solución acuosa o concentrado de inulina purificada obtenida en la etapa (2), anteriormente mencionada, es típicamente realizado por secado por pulverización u otro método utilizado es la inyección directa de cristales de inulina a la solución acuosa concentrada induciendo a una cristalización de manera que ésta precipite y pueda separarse por centrifugado, una vez centrifugadas las partículas son secadas¹.

Sin embargo, pese a técnicas de depuración y refinado de la solución acuosa con inulina se han efectuado otras investigaciones en las que se menciona que bajo condiciones menos exigentes en cuanto a tecnología, han logrado resultados satisfactorios al obtener el compuesto precipitado a través de un buen manejo de la concentración de la solución, temperaturas de precipitación y velocidad y tiempo de centrifugación^{2,3}.

A la fecha no se han desarrollado en el departamento de Nariño proyectos de investigación para la obtención de inulina tomando como materia prima el yacón, debido principalmente al desconocimiento de esta planta y sus propiedades benéficas fácilmente aprovechables, en comparación con países desarrollados donde se realizan eventos exclusivos para compartir información con respecto a dicho fructooligosacárido, como es el caso de la celebración en París de la "IV Conferencia Internacional sobre Inulina y Oligofructosa" patrocinada por el laboratorio belga ORAFTI en la cual se presentaron diferentes estudios en los que se mostraban las numerosas propiedades y efectos positivos de estos activos vegetales para el bienestar humano.

¹ SMITS, Georges y DE LEENHEER, Leen. Proceso para la fabricación de inulina de achicoria. En: Oficina española de patentes y marcas. No.ES 2 203 063 T3 (2004); p. 1-23.

² TÓFANO, Op. cit.

³ LINGYUN, Wei. et al. Studies on the extracting technical conditions of inulin from Jerusalem artichoke tubers. En: Journal of Food Engineering. Vol. 79, (2007); p. 1087 - 1093.

5. DISEÑO METODOLÓGICO

Con el fin de analizar el proceso de obtención de inulina a partir de yacón (*Smallanthus sonchifolius*), se estudiaron las etapas tanto de extracción de una solución con alto contenido en inulina como de cristalización de la misma. Mediante la metodología de superficie de respuesta, se determinaron los parámetros óptimos de tiempo, temperatura y relación agua-materia prima para el proceso de extracción. Por su parte la cristalización se efectuó bajo las indicaciones dadas por diferentes autores en sus estudios y los cristales obtenidos fueron caracterizados a través de diferentes pruebas físico-químicas y organolépticas. Una vez establecido el rendimiento de inulina a través de los procesos mencionados con anterioridad, se estimaron los costos de producción bajo las condiciones del proceso experimental.

5.1 MATERIALES Y EQUIPOS

5.1.1 Material experimental. Raíces tuberosas de yacón, adquiridas en la Reserva Natural “Raíces Andinas” vereda El Carrizo, corregimiento del Encano, Nariño y en el cantón de Pujilí en la ciudad de Latacunga, provincia de Cotopaxi, Ecuador. Las raíces se cosecharon en un periodo no superior a 48 horas antes de los experimentos de extracción. Cabe mencionar que si bien la investigación contempla el aprovechamiento de yacón en el corregimiento de El Encano (Nariño), la presencia de esta planta en la zona se da de forma silvestre por lo que su volumen de producción es muy bajo razón por la cual fue necesario el desplazamiento al Ecuador donde la producción del cultivo es mayor.

Figura 6. Raíces tuberosas de yacón de Pujilí – Ecuador y Encano - Nariño



Fuente: Esta investigación

5.1.2 Maquinaria y equipo. La maquinaria y equipo utilizados para la presente investigación se encuentran ubicados en los Laboratorios de Química, Biología, Ingeniería Acuícola, Laboratorios Especializados, así como en la Planta Piloto de la Universidad de Nariño.

Para la adecuación de la materia prima se utilizó una balanza marca NAGENA ref. AV IVS/3-3, peladores domésticos, rallador doméstico, cuchillos, escurridores plásticos, pipetas y agua potable.

Figura 7. Instrumentos de adecuación de materia prima



Fuente: Esta investigación

Para la determinación de materia seca del yacón se utilizaron cápsulas de porcelana, papel aluminio, mufla marca INDUSTRIAS TERRIGENO modelo L2 y balanza analítica marca ADVENTURER OHAUS ref. AR3130.

Figura 8. Mufla y balanza analítica



Fuente: Esta investigación



Para efectuar la extracción sólido-líquido con agua se utilizó un equipo de agitación con regulador de velocidad, conformado por un motor de 1 HP tipo BD 6222, acoplado a un agitador elaborado en acero inoxidable ref. 304 para alimentos. Se utilizó también un recipiente en aluminio con capacidad de 11 l y una estufa de una boquilla marca HACEB ref. EM-1, como fuente de calor. Con el fin de efectuar un control adecuado de temperatura se hizo uso de un termopar tipo J con selector de canales marca LUTRON ref. TM-903 y para el registro de datos refractométricos de las soluciones extraídas, se hizo uso de un refractómetro de ABBE marca BAUSCH & LOMB.

Figura 9. Equipo de agitación, termopar tipo J y refractómetro



Fuente: Esta investigación

Para efectuar la separación del residuo y extracto por filtración a vacío, se utilizó un kitasato en vidrio con capacidad de 500 ml y una bomba de vacío marca DOSIVAC modelo OVR de 1/3 HP. Para el almacenamiento de las muestras obtenidas tras los diferentes experimentos se hizo uso de frascos en vidrio con tapa metálica con capacidad de 250 ml que se refrigeraron a temperaturas entre 0 y 4 °C en el cuarto frío de la Planta Piloto de la Universidad de Nariño.

Para identificar de manera cualitativa la inulina por cromatografía en capa fina de la solución obtenida en la etapa anterior, se utilizó, beacker, vidrio de reloj, agitador de vidrio, mufla marca INDUSTRIAS TERRIGENO modelo L2, balanza analítica marca ADVENTURER OHAUS ref. AR3130, atomizador de vidrio, capilar, pipetas, placa de sílica gel con base en aluminio para cromatografía en capa fina, butanol, isopropanol, agua destilada, ácido acético, anilina, difenilamina, ácido fosfórico y acetona.

La cuantificación de inulina en la solución se hizo a través de HPLC, para esto se contrató el servicio de los Laboratorios de Química de la Universidad Nacional, sede Bogotá, como se explicará más adelante.

Con el fin de efectuar la separación de la inulina se hizo uso de una centrífuga marca VEB MLW ZENTRIFUGENBAU ENGELSDORF modelo T24, una estufa de secado por convección de aire forzado marca DIES THERMOLAB, placas metálicas, papel aluminio y espátula de cobre.

Figura 10. Centrífuga y Estufa de secado



Fuente: Esta investigación

Para realizar la caracterización de los cristales obtenidos se recurrió a un microscopio marca NIKON con un sistema de fotografía y video adaptado y un microscopio AXIOSTAR PLUS con medición de longitudes.

Figura 11. Microscopio con fotografía y video



Fuente: Esta investigación

5.2 MÉTODOS Y PROCEDIMIENTO

El procedimiento efectuado para la adecuación del material experimental y desarrollo de las pruebas experimentales fue el siguiente:

5.2.1 Recepción de materia prima. En la etapa de recepción, la materia prima se recibió en sacas sintéticas con peso aproximado de 15 kg. Las raíces de yacón provenientes de la vereda el Carrizo, El Encano – Nariño, fueron cosechadas a los 10 meses después de su siembra según recomienda Manrique¹ teniendo en cuenta la altura promedio de la vereda que corresponde a 2850 m.s.n.m.² y las raíces provenientes de Pujilí, Latacunga – Ecuador fueron cosechadas luego de la florescencia de la planta a los 10 meses aproximadamente pues la altura de la localidad corresponde a 2961 m.s.n.m.³

5.2.2 Almacenaje. La materia prima se almacenó en sacas sintéticas en el cuarto frío de la Planta Piloto a una temperatura entre 0 y 4 °C. Este rango de temperatura garantizó una disminución de la actividad metabólica de la raíz responsable de la conversión de inulina en fructosa y glucosa por la acción de fructano hidrolasas, por otra parte según el estudio de Saengthongpinit⁴ bajas temperaturas de almacenamiento no provocan cambios significativos en la cantidad de inulina presente en el material experimental.

5.2.3 Mezcla de material experimental. Como solución a la baja disponibilidad de material experimental en el municipio del Encano – Nariño, las pruebas experimentales fueron realizadas con una mezcla de material, utilizando 70% de yacón proveniente del cantón de Pujilí – Ecuador y un 30% de yacón procedente del Encano.

5.2.4 Selección y clasificación. Como principal criterio de selección de la materia prima se consideró su integridad física, raíces con magulladuras, grietas y zonas blandas, fueron descartadas por su deterioro y susceptibilidad de contaminación. Por su parte, la clasificación de las raíces se efectuó según su

¹ MANRIQUE, Op. cit. p. 4

² RED DE Reservas Naturales de La cocha. [en línea]. 2006. [citado el 10 de febrero 2008]. Disponible en: <URL:http://www.adc.org.co/adc/index.php?option=com_content&task=view&id=27&Itemid=41>

³ WIKIPEDIA. [en línea]. 2007. [citado el 10 de febrero 2008]. Disponible en internet: <URL:[http://es.wikipedia.org/wiki/Pujil%C3%AD_\(cant%C3%B3n\)](http://es.wikipedia.org/wiki/Pujil%C3%AD_(cant%C3%B3n))>

⁴ SAENGTHONGPINIT, W. y SAJJAANANTAKUL, T. Influence of harvest time and storage temperature on characteristics of inulin from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers. En: Journal of food engineering. Vol. 37, (2005); p. 93 -100

tamaño con el fin de hacer una distribución homogénea de material para cada prueba experimental de extracción.

5.2.4.1 Determinación de materia seca. Para el desarrollo satisfactorio de la presente investigación, se efectuó una determinación de materia seca de las muestras vegetales a trabajar según los criterios propuestos por Waissbluth¹ con parámetros de temperatura y tiempo de 105 °C y 5 h² respectivamente. El procedimiento que se realizó se describe en el anexo A.

Los autores de la presente investigación vieron la necesidad de desarrollar esta prueba debido a las inconsistencias encontradas entre algunos autores referenciados en el estado del arte con respecto al porcentaje de inulina y materia seca reportado en las raíces de yacón frescas.

5.2.5 Lavado y desinfección. El lavado se hizo con abundante agua, frotando las raíces unas con otras y empleando un abrasivo suave (cepillo o esponja) que facilitó la remoción de la tierra y materia orgánica adherida a la superficie de las raíces. Después del lavado, las raíces se sumergieron durante 5 minutos en una solución desinfectante de hipoclorito de sodio con concentración de 200 ppm³ con el objetivo de disminuir la carga microbiana que permanece adherida a la superficie de las mismas.

5.2.6 Escaldado. Las raíces lavadas y desinfectadas fueron sometidas a una operación de escaldado a una temperatura de 90 °C durante 5 min, tratamiento térmico similar al de la zanahoria considerando sus similitudes en cuanto a forma, tamaño y características de la corteza, con el fin de controlar el pardeamiento del extracto gracias a la inactivación de las polifenoloxidasas (PPO) que son las enzimas responsables de catalizar la oxidación de fenoles a quinonas en un proceso conocido como oxidación enzimática.

En la siguiente fase, las quinonas formadas que son moléculas muy reactivas, se combinan con grupos amino o sulfhidrilo de las proteínas y con azúcares reductores, dando lugar a polímeros de alto peso molecular y con diversas coloraciones. Estos compuestos son

¹ WAISSBLUTH. R. y VALENZUELA. J. Determinación del porcentaje mínimo de materia seca para autorizar la cosecha de paltas cv. hass para ser exportadas. [en línea]. [citado el 11 de febrero 2008]. Disponible en internet: <URL: <http://www.avocadosource.com/WAC6/es/Extenso/5b-213.pdf>>

² LA HUMEDAD y la materia seca. Capítulo 3. [en línea]. [citado el 11 de febrero 2008]. Disponible en internet:<URL:<http://www.scirus.com/srsapp/search?q=metodologia+materia+seca%2Bpapa&ds=jnl&ds=nom&ds=web&g=s&t=all>>

³ MANRIQUE, Op. cit. p. 11

denominados melaninas y son los responsables de transferir coloraciones oscuras a los alimentos después del pardeamiento¹.

5.2.7 Pelado. El pelado de las raíces se hizo manualmente utilizando un pelador doméstico de papas que permitió la remoción de la cáscara con la menor cantidad de pulpa posible. Con éste método se obtuvo una pérdida de alrededor del 20% del peso inicial de las raíces.

5.2.8 Troceado. El troceado se realizó con la ayuda de un rayador doméstico que permitió obtener pequeños trozos de yacón lo suficientemente pequeños facilitando el proceso de extracción gracias al incremento de la superficie de contacto con el solvente utilizado.

5.2.9 Extracción. Para realizar la extracción se utilizó como solvente agua potable obedeciendo a dos razones: la primera que el agua es el solvente más utilizado en la industria alimentaria y la segunda debido a que muchos de los estudios e investigaciones realizadas respecto a la obtención de inulina a partir de diferente material vegetal, utilizan el agua potable como solvente. Los trozos de yacón y el agua en una cantidad determinada, fueron depositados en un recipiente de aluminio sometido a una fuente de calor con el fin de alcanzar una temperatura determinada según el experimento efectuado. Para facilitar la difusión de la inulina en el solvente se utilizó un agitador con regulador de velocidad operando a 90 rpm aproximadamente.

Figura 12. Montaje para la extracción de inulina



Fuente: Esta investigación

¹ Ibid. p. 9

En esta etapa del proceso, se determinaron los puntos óptimos de las variables con las que se obtuvo el mejor rendimiento de inulina en la extracción, las variables experimentales seleccionadas para construir el diseño experimental fueron la temperatura de extracción, el tiempo de extracción y la relación solvente/materia prima, todas trabajadas en dos niveles, máximo y mínimo, basados en el estudio de Lingyun¹ quien presenta datos óptimos de rendimiento de inulina en la extracción utilizando material vegetal diferente (Tubérculos de alcachofa de Jerusalén) pero de características similares al yacón por la similitud entre los tubérculos y las raíces tuberosas.

La variable respuesta del diseño fue el rendimiento de inulina bruta en el extracto, rendimiento que se cuantificó utilizando la técnica de refractometría, método de estimación indirecto, que como Manrique² menciona, resulta sencilla, rápida y económica para la determinación de FOS en una solución. La metodología propuesta por los autores para la determinación del rendimiento de inulina bruta (principal fructooligosacárido presente en el yacón) vía refractométrica en el extracto, se describe en el anexo B. De esta manera, el rendimiento se expresó como el porcentaje de inulina obtenida por unidad másica de materia prima.

5.2.9.1 Diseño experimental de la extracción. El diseño experimental de la extracción se construyó con ayuda del paquete estadístico Statgraphics Plus 5.0³.

Se decidió utilizar un diseño compuesto central 2³ más puntos estrella y puntos centrales utilizando la metodología de superficie de respuesta, en el que se consideraron los diferentes factores o efectos que influyen sobre la variable respuesta a optimizar, para lo cual se planteó un modelo matemático que representa la región experimental.

De esta manera el diseño experimental contó con 18 experimentos que se realizaron por triplicado para aumentar la confiabilidad de la variable respuesta.

“Este diseño fue seleccionado por dos razones: la primera es que se disponía de un buen control local de las variables experimentales que a su vez eran continuas y en segundo lugar porque el objetivo era optimizar el proceso de extracción y esta metodología fue la que más se ajustó a este propósito”⁴.

¹ LINGYUN, Op. cit. p. 1087

² MANRIQUE, Op. cit., p. 11

³ STATGRAPHICS PLUS 5.0 (CD-ROM). Copyright by statistical graphics corporation. 2000

⁴ MONTENEGRO. A. y BETANCOURTH. E. Estudio del proceso térmico y análisis de su efecto durante el enlatado para las variedades de arveja (*Pisum sativum* L.) San Isidro y andina, en el municipio de San Juan de Pasto, departamento de Nariño-Colombia. Pasto. 2003. 64 p. Trabajo de grado. (Ingeniero Agroindustrial) Universidad de Nariño. Facultad de Ingeniería Agroindustrial.

En la siguiente tabla se muestra de manera resumida el diseño experimental descrito con anterioridad.

Tabla 4. Descripción del diseño experimental de la extracción

Design Summary

Design class: Response Surface
 Design name: Central composite design: 2^3 + star
 Design characteristic: Rotatable
 File name: <Untitled>

Base Design

Number of experimental factors: 3 Number of blocks: 3
 Number of responses: 1
 Number of runs: 54 Error degrees of freedom: 42
 Randomized: Yes

Factors	Low	High	Units	Continuous
Temperatura	65,0	85,0	°C	Yes
Tiempo	15,0	25,0	min	Yes
Relación	3,0	7,0	lt/500g	Yes

Responses Units

Rendimiento %

Fuente: Esta investigación

5.2.9.2 Diseño del análisis. Para el análisis del diseño experimental propuesto, se hizo una selección de tablas y figuras que mostrarán, de una manera clara y de interpretación sencilla, el efecto de las variables evaluadas.

Las tablas y figuras con información estadística seleccionadas fueron:

- Diagrama de Pareto
- Diagrama de efectos principales
- Diagrama de interacciones
- Superficie de respuesta
- Diagrama de contorno de la superficie de respuesta estimada
- Modelo matemático

- Tabla ANOVA
- Respuesta óptima

A continuación se enumeran los pasos a seguir para realizar cada ensayo:

1. Se toman 500 g del material vegetal (yacón) troceado y se depositan en el recipiente de aluminio para la extracción
2. Se mide la cantidad del solvente (agua) según la información proporcionada por el diseño correspondiente en cada ensayo y se deposita en el recipiente
3. El recipiente que contiene el material vegetal y el solvente se somete a una fuente de calor
4. Se acciona el agitador con regulador de velocidad a una velocidad aproximada de 90 rpm
5. Se controla la temperatura con un rango de ± 2 °C con ayuda de un termopar tipo J, según corresponda con el experimento que se esté llevando a cabo
6. Una vez la temperatura alcance su valor previamente establecido, se mide el tiempo en minutos según lo designe cada experimento
7. Cumplido el tiempo de extracción, la solución se pasa a través de un lienzo para separar el extracto del residuo
8. Con el fin de realizar una purificación del extracto se realiza un filtrado a vacío

5.2.10 Filtrado a vacío. Esta operación se realizó con el fin de retirar impurezas de menor tamaño presentes en el extracto. Es importante que el extracto conserve una temperatura superior a 25 °C¹ para contribuir a una solubilidad adecuada de la inulina y así disminuir el riesgo de su retención en el papel filtro por su posible precipitación.

¹ SILVER, Op. cit. p. 8

Figura 13. Montaje de filtrado a vacío



Fuente. Esta investigación

5.2.11 Identificación cualitativa y cuantitativa de inulina en la solución. La identificación cualitativa de inulina en el extracto se realizó según el método de cromatografía en capa fina realizado por Lingyun¹ que sirve para corroborar la presencia de inulina en la solución acuosa obtenida. Este procedimiento se describe en el anexo D. Para una identificación satisfactoria se efectuaron 6 cromatografías a lo largo de la fase experimental de la extracción.

Figura 14. Cromatografía en capa fina



Fuente. Esta investigación

¹ LINGYUN, Op. cit. p. 1089

Para la identificación cuantitativa se utilizó el método refractométrico recomendado por Manrique¹ descrito en el anexo B, donde se incluye una curva de calibración construida con inulina comercial (inulina de ágave) que posee características similares a las de la inulina nativa (Tabla 2), esta información fue suministrada por el Señor Felix Montesinos². Esta muestra fue considerada muestra patrón, tanto para el método refractométrico como para el análisis HPLC, para estimar el porcentaje de inulina bruta presente en los diferentes extractos obtenidos en cada uno de los experimentos realizados a partir de la cantidad de yacón utilizado (Anexo C).

Figura15. Inulina de ágave muestra patrón



Fuente. Esta investigación

Finalmente para dar soporte a los resultados obtenidos del contenido de inulina a través del método refractométrico, se recurrió a una identificación cuantitativa de inulina presente en el extracto obtenido en los puntos óptimos arrojados por el diseño experimental mediante un análisis HPLC realizado en los laboratorios de Ingeniería Química de la Universidad Nacional de Colombia – sede Bogotá, que se trata de una prueba más confiable para la cuantificación y se muestra en el anexo E.

5.2.12 Separación de la inulina. Para la separación de la inulina del medio acuoso que la contiene, se desarrollaron dos técnicas, la primera se trata de inducir una cristalización según el método propuesto por Kunz³ en su patente y la

¹ MANRIQUE, Op. cit. p. 9

² ENTREVISTA TELEFÓNICA con Félix Montesinos, Gerente nacional de ventas de Mielés Unicornio. Jalisco - Guadalajara – México. 25 de marzo 2009

³ KUNZ, Op. Cit., p. 1-6.

segunda técnica se trata de una alternativa de separación propuesta por los autores de la presente investigación cuya metodología se muestra más adelante.

5.2.12.1 Cristalización. Para efectuar la cristalización de la inulina presente en el extracto, la metodología que se adoptó consistió en concentrar a vacío la solución obtenida por extracción con temperatura de $70\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$, según recomienda Tófano¹ en su estudio, ésta fue entonces la etapa previa a la separación de la inulina mediante la técnica de cristalización en condiciones previamente determinadas de acuerdo al método empleado en la patente española de Kunz², que consiste en que una vez preparada la solución de inulina que se debe encontrar a $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ y con una concentración del 50% de inulina bruta, esta fuera sometida a un enfriamiento lento hasta llegar a una temperatura de $50\text{ }^{\circ}\text{C}$. Según la patente en este punto parte de la inulina habría precipitado en forma sólida y la solución restante debería ser sometida a centrifugación. Como velocidad de centrifugación los autores se remiten al estudio de Tófano³ en el que determina que una velocidad de centrifugación de 10000 rpm durante 15 min representa el punto óptimo para obtener el mayor rendimiento en la separación de inulina aun sin precipitar. Luego de la centrifugación la operación siguiente fue realizar una filtración al vacío y un secado para las muestras obtenidas.

Figura 16. Montaje de concentración a vacío y centrifugación



Fuente. Esta investigación

¹ TÓFANO, Op. cit. p. 834

² KUNZ, Op. cit., p. 1- 6

³ TÓFANO, Op. cit. p. 838

5.2.12.2 Separación por secado del extracto. Los autores propusieron la siguiente metodología, como una alternativa de fácil ejecución y efectiva para la separación de la inulina en contrapropuesta a la metodología de cristalización aplicada en diversos estudios y a una de las técnicas más utilizadas a nivel industrial, la pulverización¹.

La metodología propuesta consistió en efectuar una concentración a vacío de 20 in.Hg al extracto a una temperatura de 70 °C +/- 3 °C, hasta alcanzar una reducción del volumen de agua del extracto del 80% aproximadamente con una concentración aproximada de 22 °Bx. Lo anterior con el fin de obtener una solución con densidad manejable que evitara pérdidas por adherencia de la solución a los recipientes que la contenían y que permitiera su fácil distribución en las placas metálicas de secado.

El secado de la solución concentrada se realizó en una estufa de secado por convección de aire forzado marca DIES THERMOLAB a una temperatura constante de 90 °C +/- 2 °C durante aproximadamente 4 horas, se manejó esta temperatura debido a que “la inulina puede ser tratada térmicamente hasta los 140 °C”² sin que sufra modificaciones en su estructura.

5.2.13 Identificación cualitativa de inulina en los cristales obtenidos. Con el fin de dar confiabilidad o no a los resultados que arrojaría la alternativa de separación de inulina propuesta por los autores, se hizo necesario efectuar una vez más una identificación de inulina, esta vez en los cristales, a través de la cromatografía en capa fina. Para ello los cristales fueron redisueltos en agua destilada y una vez la solución estuvo homogénea se efectuó el análisis.

5.2.14 Caracterización de la inulina obtenida. Se realizó una caracterización de la inulina obtenida valorando algunas de sus propiedades físico-químicas y organolépticas.

Dentro de estas:

5.2.14.1 Morfología y tamaño de los cristales. Tanto la morfología como el tamaño de los cristales fueron determinados mediante la técnica de microscopía utilizando un microscopio NIKON al cual se le acopló un sistema de toma de imágenes a través de una cámara digital. La morfología se estableció a partir de la literatura disponible referente a cristalografía y artículos relacionados con el estudio de la inulina.

¹ ENTREVISTA TELEFÓNICA con Félix Montesinos. Gerente nacional de ventas de Miele Unicorno. Jalisco - Guadalajara – México. 18 de noviembre 2007.

² LA INULINA el tesoro del yacón. [en línea]. 2007. [citado el 28 de enero 2008]. Disponible en internet: <URL: <http://cinafrix.com/download/LA%20INULINA.pdf>>

Por su parte el tamaño de las partículas, aprovechando la gran similitud de las partículas a una esfera, consideró como medida característica el diámetro aparente de las mismas con ayuda de un microscopio AXIOSTAR PLUS con medición de longitudes.

Figura 17. Identificación de cristales de inulina



Fuente. Esta investigación

5.2.14.2 Densidad aparente. Para determinar la densidad aparente primero fue necesario calcular la humedad de los cristales con el fin de referenciarla según esta característica, pues la propiedad cambia en función de ésta. Se recurrió a la metodología expuesta en el anexo A con la diferencia de que el resultado se obtuvo tras aplicar la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de humedad} = \left(\frac{\text{peso inicial} - \text{peso final}}{\text{peso inicial}} \right) * 100$$

Posteriormente la densidad aparente fue determinada mediante la metodología que se describe en el anexo F.

5.2.14.3 Punto de fusión. El punto de fusión de los cristales obtenidos se determinó mediante la metodología expuesta en el anexo G.

Figura 18. Montaje para determinación de punto de fusión



Fuente. Esta investigación

5.2.14.4 Solubilidad. Para determinar la solubilidad de los cristales, a una temperatura de 21 °C y en 10 ml de agua destilada se aplicó la metodología propuesta en el anexo H.

5.2.14.5 Características organolépticas. Características como color, apariencia, textura y sabor fueron determinadas mediante una valoración cualitativa y sensorial de la inulina obtenida utilizando la siguiente tabla de atributos propuesta por los autores:

Tabla 5. Encuesta de calificación de los cristales de inulina

Atributo	Valoración				
	Malo	Regular	Bueno	Muy bueno	Excelente
Color					
Apariencia					
Textura					
Sabor					

Fuente: Esta investigación

Este formato fue aplicado a 20 personas de la comunidad universitaria y personas particulares. Los resultados obtenidos entonces se tabularon y con la ayuda del programa Excel fueron representados en diagramas circulares.

5.3 DETERMINACIÓN DE COSTOS DE EXTRACCIÓN DE INULINA

Una vez obtenidos los cristales de inulina se determinó el rendimiento de inulina conseguido en el proceso de extracción óptimo, el rendimiento se expresó como la

cantidad de inulina obtenida por unidad másica de yacón. Aquí se calcularon los costos del proceso de extracción con el fin de determinar, de manera aproximada, los costos reales de obtención de inulina a través de la metodología propuesta en la investigación.

Para ello se tomó la información, sobre alquiler de equipos y espacio físico, suministrada en la Planta Piloto de la Universidad de Nariño, lugar donde se llevó a cabo la extracción y cristalización de la inulina obtenida, la información incluye el costo de los servicios públicos (agua y energía eléctrica) utilizados. Los cálculos se realizaron tomando como base de cálculo 1 kg de materia prima. Esta base de cálculo responde al hecho de haber identificado el cuello de botella durante el proceso, que determina la cantidad de producto que puede entrar a la línea de producción, que para este caso es la etapa de extracción por contar con un agitador con capacidad máxima de 11 litros.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 RESULTADOS

6.1.1 Determinación de materia seca. El resultado obtenido tras estimar el porcentaje de materia seca según lo indica el anexo A fue del 25.6%. Lo que significa que de cada 100 g de raíces de yacón frescas, 25.6 g corresponden a materia seca, es decir el contenido de humedad de la materia prima utilizada en el presente estudio fue de 74.4%.

6.1.2 Identificación cualitativa de inulina en la solución. Una vez efectuada la cromatografía en capa fina para las muestras experimentales y la muestra patrón, según lo describe el anexo D, los resultados obtenidos fueron contundentes comprobando la existencia de inulina en el extracto analizado como lo indica la siguiente imagen.

Figura 19. Placa de la cromatografía en capa fina para identificación de inulina en la solución



Muestra patrón – Extracto

Fuente. Esta investigación

Como se puede apreciar en las fotografías, el resultado de la presencia de inulina en la solución es positivo ya que la marca de la solución extraída (lado derecho) tiene el mismo desplazamiento que la marca de la muestra patrón (lado izquierdo).

6.1.3 Diseño experimental de la extracción. Para analizar los diferentes experimentos de la extracción de inulina con agua utilizando la técnica sólido-líquido, se utilizó el programa estadístico Statgraphics plus versión 5.0.

Tabla 6. Análisis de varianza para extracción

Analysis of Variance for Rendimiento					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
A:Temperatura	226,133	1	226,133	108,54	0,0000
B:Tiempo	7,22833	1	7,22833	3,47	0,0954
C:Relación	57,6496	1	57,6496	27,67	0,0005
AA	103,369	1	103,369	49,62	0,0001
AB	1,12667	1	1,12667	0,54	0,4808
AC	13,2017	1	13,2017	6,34	0,0329
BB	1,19304	1	1,19304	0,57	0,4686
BC	1,12667	1	1,12667	0,54	0,4808
CC	455,7	1	455,7	218,74	0,0000
blocks	6,79704	2	3,39852	1,63	0,2486
Lack-of-fit	57,5926	33	1,74523	0,84	0,6685
Pure error	18,75	9	2,08333		

Total (corr.)	899,784	53			

R-squared = 91,5154 percent
R-squared (adjusted for d.f.) = 89,78 percent
Standard Error of Est. = 1,44338
Mean absolute error = 0,852365
Durbin-Watson statistic = 1,77593 (P=0,1676)
Lag 1 residual autocorrelation = 0,106152

Fuente: Esta investigación

Al analizar la tabla ANOVA (Tabla 6) se observa que el efecto del tiempo, al igual que los efectos de las interacciones AB (Temperatura-tiempo), BB (Cuadrado del tiempo) y BC (Tiempo-relación) no son significativos sobre el rendimiento pues su P-valor es superior a 0.05. Estos efectos se ven con más claridad en el diagrama de Pareto el cual se muestra más adelante.

Se destaca también que el P-valor de los bloques es muy elevado (0.2486) superior a 0.05 lo que indica que el utilizar o no bloques no influye de manera significativa en los resultados que puedan obtenerse, es decir la variación entre las repeticiones de cada experimento, no tubo un efecto significativo en el rendimiento de inulina en el extracto.

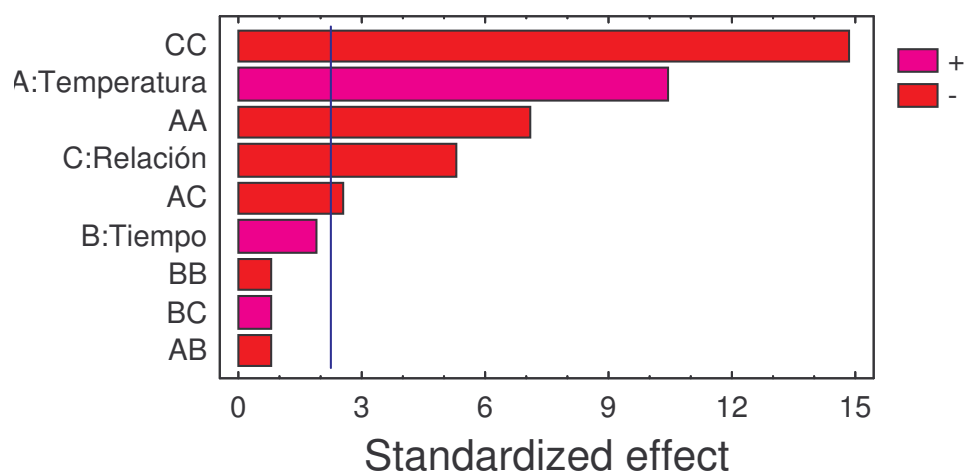
Por su parte el coeficiente de R-cuadrado (R-squared tabla ANOVA) evidencia un buen ajuste indicando que el modelo diseñado explica el 91.5154% de la variabilidad en el rendimiento de inulina como variable de respuesta, con lo que se puede deducir que el diseño cuenta con un buen ajuste permitiendo hacer análisis confiables sobre las variables implicadas en la extracción. Esta afirmación es respaldada por el P-valor de la prueba lack of fit que corresponde a 0.6685, valor

superior a 0.05, indicando que el diseño experimental no requiere ajuste lo que permite asegurar que el modelo es adecuado para describir los datos observados con un nivel de confianza del 95%.

El test estadístico de Durbin-Watson señala un valor de 1.77593 cercano a 2, lo que garantiza que no se presentan problemas de autocorrelación, es decir “no se hizo omisión de ninguna variable importante y los errores estándar obtenidos no presentan sesgo alguno”¹ garantizando una buena aleatorización de los experimentos.

A continuación se presenta el diagrama de Pareto (Figura 20) en el que se muestran claramente los efectos tanto significativos como no significativos de los efectos de las variables como de sus interacciones sobre la variable respuesta.

Figura 20. Diagrama de Pareto para el estudio de los factores de extracción sobre el rendimiento de inulina en la solución



Fuente: Esta investigación

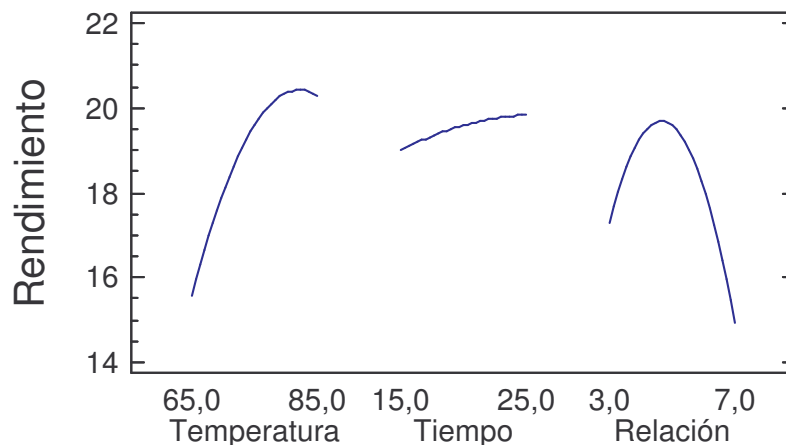
El diagrama de efectos principales que se muestra a continuación (Figura 21), muestra un marcado efecto de las variables temperatura y relación sólido-solvente sobre el rendimiento de inulina en la solución. Se observa claramente el efecto positivo del incremento de la temperatura sobre la variable respuesta notándose que leves incrementos en ella causan un aumento importante en el rendimiento.

Sin embargo a temperaturas muy cercanas al nivel superior se evidencia un cambio drástico en su comportamiento de positivo a negativo. Por su parte el efecto de la relación sólido-solvente, muestra un comportamiento muy particular sobre la variable respuesta, así leves cambios en la relación causan una

¹MOREU, P. Estadística informatizada. Madrid: Editorial Paraninfo. 1999. p. 117 - 123

variabilidad radical tanto en el efecto positivo como negativo sobre el rendimiento, siendo evidente que a niveles superiores su efecto negativo será más marcado. Finalmente se nota que el efecto del tiempo sobre el rendimiento presenta una estabilidad relativa en sus dos niveles, reconfirmando que el efecto de esta variable no es significativo en el comportamiento de la variable respuesta.

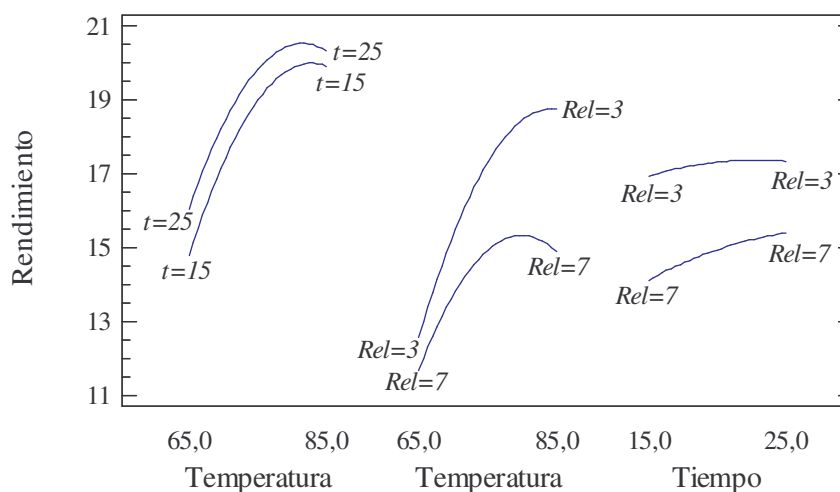
Figura 21. Diagrama de efectos principales para el rendimiento de inulina



Fuente: Esta investigación

Las interacciones que se muestran en el siguiente diagrama (Figura 22) permiten identificar que al igual que lo muestra la tabla ANOVA, la única interacción relevante sobre el rendimiento es la interacción AC (Temperatura-relación) con un P-valor de 0.0329 valor menor que 0.05.

Figura 22. Diagrama de interacciones para el rendimiento de inulina



Fuente: Esta investigación

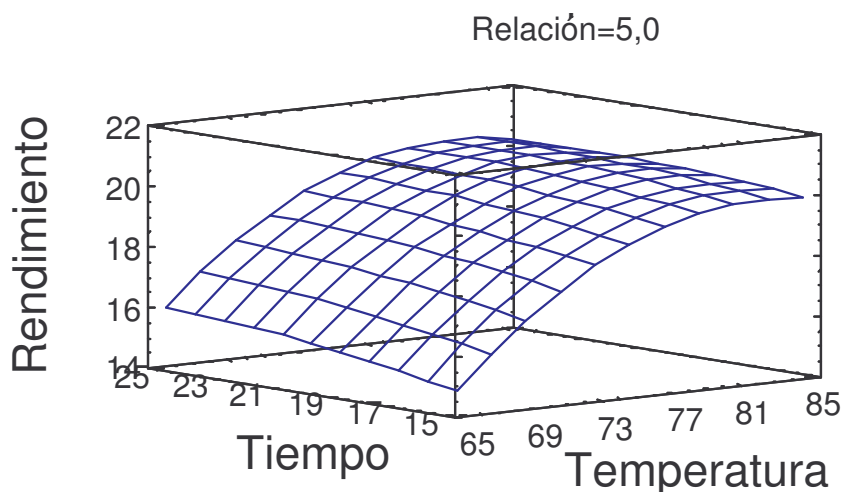
El diagrama de interacciones muestra entonces que el mejor efecto de la interacción frente al rendimiento se da cuando la temperatura se encuentra cercana a su nivel superior y la relación en su nivel inferior.

La superficie de respuesta que se presenta a continuación (Figura 23), muestra que la combinación óptima de las variables independientes para maximizar el rendimiento, se encuentra dentro de la región delimitada por los niveles mínimos y máximos de los factores.

De este modo, se observa con facilidad que el mejor rendimiento se obtiene al trabajar con temperaturas entre 81 y 85 °C durante un tiempo comprendido entre los 21 y 25 min con una relación solvente-materia prima estimada en 5.

Esta apreciación es corroborada por la tabla de respuesta óptima (Tabla 7) que se muestra más adelante.

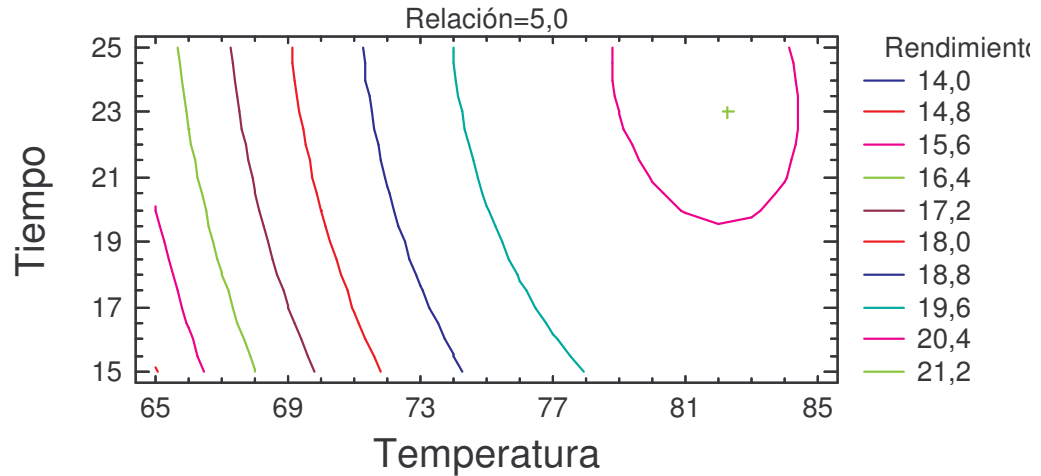
Figura 23. Superficie de respuesta para rendimiento de inulina



Fuente: Esta investigación

La gráfica del contorno de la superficie de respuesta, muestra claramente que al desplazarse de izquierda a derecha sobre el efecto de la temperatura y de abajo hacia arriba sobre el efecto tiempo, considerando una relación de 5, se obtiene cada vez un mejor comportamiento de la variable respuesta hasta el momento en que alcanza su punto óptimo.

Figura 24. Contorno de la superficie de respuesta estimada para el rendimiento de inulina



Fuente: Esta investigación

Tabla 7. Respuesta óptima para extracción

Optimize Response

Goal: maximize Rendimiento

Optimum value = 20,703

Factor	Low	High	Optimum
Temperatura	58,1821	91,8179	82,2407
Tiempo	11,591	28,409	23,0095
Relación	1,63641	8,36359	4,54036

Fuente: Esta investigación

El modelo matemático que describe la extracción de inulina se muestra en la siguiente ecuación. Esta ecuación es la que modela de forma adecuada el fenómeno de extracción de inulina según los resultados obtenidos tras cada experimento y se indica a continuación:

$$\text{Rendimiento} = -132,318 + 2,9827 \cdot \text{Temperatura} + 0,584369 \cdot \text{Tiempo} + 10,4182 \cdot \text{Relación} - 0,0165046 \cdot \text{Temperatura}^2 - 0,00433333 \cdot \text{Temperatura} \cdot \text{Tiempo} - 0,0370833 \cdot \text{Temperatura} \cdot \text{Relación} - 0,00709239 \cdot \text{Tiempo}^2 + 0,0216667 \cdot \text{Tiempo} \cdot \text{Relación} - 0,866337 \cdot \text{Relación}^2$$

6.1.4 Identificación cuantitativa de inulina por HPLC. La identificación cuantitativa de inulina por HPLC en la solución acuosa obtenida en los puntos óptimos, dio como resultado la presencia de inulina en el extracto en una concentración de 7.574 g/l como se puede apreciar en el anexo E resultado que será discutido más adelante.

6.1.5 Separación de inulina. Obtenidos los puntos óptimos del diseño experimental de la extracción, se tomó la solución extraída bajo esos parámetros y fue sometida a las dos metodologías planteadas para la separación de inulina, los resultados solo fueron satisfactorios para una de ellas y se describen a continuación.

6.1.5.1 Cristalización. Luego de seguir y aplicar la metodología propuesta tanto por el estudio de Kunz¹ como por el de Tófano², los cuales reportan resultados satisfactorios para la cristalización de inulina en las soluciones experimentales por precipitación, de manera imprevista no se obtuvieron los resultados esperados pues tras ejecutar los pasos de la metodología planteada en el numeral 5.2.12.1 no se observó precipitación de inulina en ninguna de las etapas.

Debido a este percance y considerando la información obtenida en otras investigaciones relacionadas con la cristalización de inulina a través de su precipitación en soluciones acuosas, se efectuaron pruebas adicionales que sin salir del principio básico de la metodología original, contemplaban diferentes parámetros de operación.

Por ejemplo, se recurrió a inducir la cristalización a través de la inyección directa de cristales de inulina a la solución concentrada según propone Kunz³ en su patente. En otro ensayo, se probó elevar la concentración de la solución acuosa de inulina a un 40 – 70%, operación seguida de la inyección de cristales de inulina enfriando la solución a una temperatura de 1 a 15 °C durante 12 h, como propuso Smits⁴ citando a Mitchell et al. en su estudio. Finalmente se experimentó con los parámetros dados por Tófano⁵ aplicando el principio básico de su estudio: reducir la temperatura de la solución con inulina, de 22 °Bx, hasta alcanzar temperaturas de congelación durante 24 h. para precipitar la inulina y centrifugar aproximadamente a 5 °C a una velocidad de 8500 rpm durante 30 min con el fin de separar las fases de la solución.

Como respuesta común de los diferentes ensayos mencionados con anterioridad, se obtuvo resultados negativos ya que no se logró precipitar la inulina en la solución acuosa que la contenía.

¹ KUNZ, Op. cit. p. 2

² TÓFANO, Op. cit. p. 835

³ KUNZ, Op. cit. p. 2

⁴ SMITS, Op. cit. p. 4

⁵ TÓFANO, Op. cit. p. 835

6.1.5.2 Separación por secado del extracto. Al secar el extracto a través de la metodología de separación planteada en el numeral 5.2.11.2 los resultados alcanzados fueron satisfactorios al obtener un polvo cristalino de color amarillo-verdoso.

Figura 25. Secado del extracto y cristales de inulina obtenidos



Fuente. Esta investigación

El rendimiento logrado tras esta técnica fue del 17.3% que representa la cantidad de cristales obtenidos respecto a la cantidad de materia prima utilizada luego de someter la solución acuosa de inulina, trabajada en los puntos óptimos que arrojó la respuesta óptima del análisis del diseño experimental planteado para la extracción, a la técnica de secado propuesta por los autores.

6.1.6 Identificación cualitativa de inulina en los cristales. La cromatografía en capa fina para los cristales de inulina fueron los siguientes:

Figura 26. Placa de cromatografía en capa fina para identificación de inulina en cristales



Muestra patrón – Cristales

Fuente. Esta investigación

Como lo muestra la fotografía de la cromatografía en capa fina, realizada a los cristales obtenidos por la técnica de secado, indica de forma clara la presencia de inulina pues el desplazamiento de la muestra patrón (lado izquierdo) señala una marca a la misma altura que la señala la muestra de cristales obtenidos (lado derecho), sin embargo en esta última se pone en evidencia, gracias a unas marcas adicionales y extendidas, la presencia de otros compuestos no identificados.

6.1.7 Caracterización de la inulina obtenida. Los resultados de la caracterización se describen en los numerales a continuación:

6.1.7.1 Morfología y tamaño de los cristales. De acuerdo a las imágenes captadas a través del microscopio NIKON, los autores sugieren que el polvo obtenido tras el secado del extracto posee una morfología de estructura cristalina semejante a una estructura de sistema cúbico de clase icositetraedro o trapezoedro cuyas caras forman trapecios¹ como se observa en las siguientes fotografías:

Figura 27. Vista microscópica de los cristales de inulina



Cristales de inulina patrón 40x

Fuente: Esta investigación



Cristales obtenidos por secado 40x

Como se puede observar en las fotografías, los cristales de inulina bien podrían ser llamados “esferocristales” como cita Anne Franck² en su artículo.

¹ RAMDOHR, P. y BRUHNS, W. *Cristalografía*. Quinta edición. Editorial Rabasa S.A. México. 1965. 41 p.

² FRANCK, Op. cit., p. 442

Por su parte, los autores sugieren que el rango de tamaño de las partículas cristalinas evaluadas con ayuda del microscopio AXIOSTAR PLUS que cuenta con un micrómetro reticular, se encuentra entre 2 y 8.5µm.

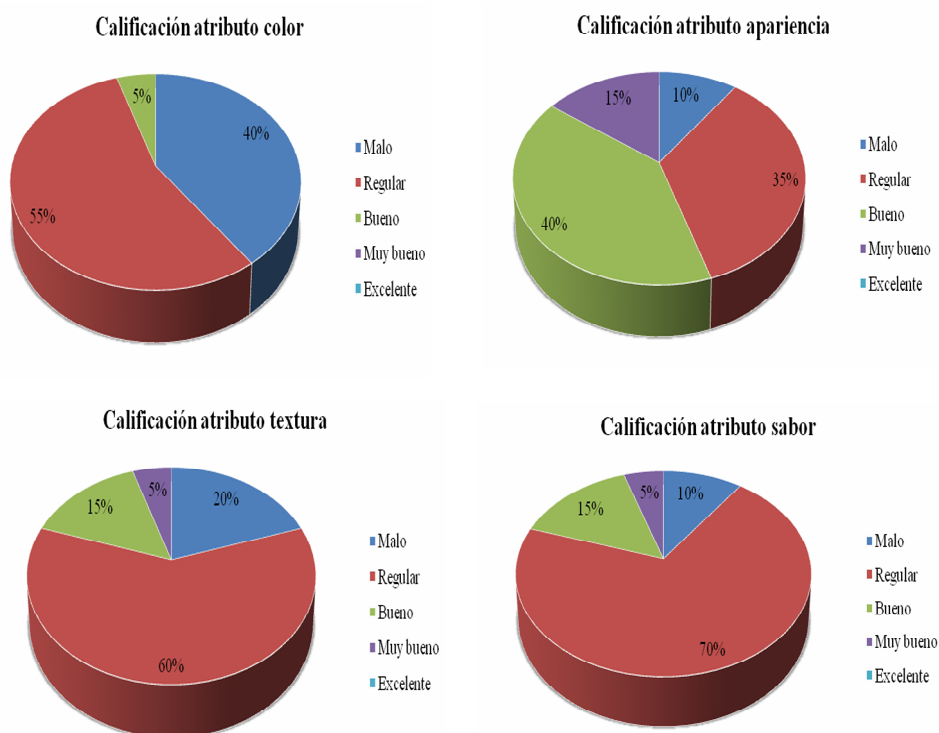
6.1.7.2 Densidad aparente. La densidad aparente de los cristales de inulina obtenidos con una humedad del 1% corresponde a 1097,2 kg/m³.

6.1.7.3 Punto de fusión. El punto de fusión de los cristales obtenidos tras dos ensayos se estimó en un rango de 150 - 160 °C.

6.1.7.4 Solubilidad. La solubilidad que se obtuvo para los cristales de inulina a una temperatura de 21 °C fue de 60 g/l.

6.1.7.5 Características organolépticas. No se consideró el atributo de olor entre los planteados debido a que el sólido cristalino fue inodoro. Luego de aplicar la encuesta planteada en la metodología, los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Figura 28. Diagramas circulares de la calificación de los cristales de inulina



Fuente: Esta investigación

6.1.8 Determinación de costos de extracción. Para la determinación de los costos de extracción y cristalización de inulina se hizo uso de la siguiente tabla, tomando como base de cálculo 1 kg de materia prima puesta en Planta:

Tabla 8. Determinación de costos de extracción y cristalización de inulina

CONCEPTO	COSTO UNITARIO (\$)	TIEMPO DE USO	COSTO (\$)/kg
Materia prima	4000/ kg		4000
Cuarto frío	15 kg/ día	2 días	30
Agitador	6000/ h	1 h	6000
Instrumentación	2925/ h	1.5 h	4387.5
Espacio físico	2187.5/ h	8 h	17500
Bomba de vacío	1200/ h	2 h	2400
Estufa de secado	1200/ h	4 h	4800
Mano de obra	2070.4/ h	8 h	16563.2
COSTO TOTAL			55680.7

Fuente: Esta investigación

Según el rendimiento (17.3 %) de cristales obtenidos por la metodología de secado se tiene que: producir 173 g de cristales de inulina estimados mediante experimentación, tiene un costo de \$55680.7.

6.2 DISCUSIÓN

6.2.1 Determinación de materia seca. La determinación de materia seca del material experimental permitió obtener este valor característico sin caer en la ambigüedad causada por las diferencias existentes entre la información proporcionada por estudios como el de Manrique¹, Silver² y Franck³. En este sentido de acuerdo al valor de materia seca obtenido, correspondiente a un 25.6%, cabe afirmar que el contenido de inulina que puede existir en la materia prima debe ser inferior a este valor y por otra parte la humedad del material experimental utilizado para el presente estudio corresponde a 74.4% valor de humedad distante de los reportados por la literatura.

6.2.2 Diseño experimental de la extracción. Como se pudo observar en los resultados mostrados en la tabla ANOVA (Tabla 6) y el diagrama de Pareto (Figura 20), la variable tiempo y sus interacciones no son relevantes dentro de la variable respuesta, el rendimiento. Dicho comportamiento puede relacionarse con el tamaño de partícula utilizado en la extracción. El tamaño de partícula aparte de ser muy pequeño se trabajó homogéneo durante la fase experimental facilitando

¹ MANRIQUE, Op. cit.

² SILVER, Op. cit., p. 2

³ FRANCK, Op. cit., p. 445

así la separación del componente de interés de la matriz sólida por la gran superficie de contacto con el solvente.

Por otra parte, el P-valor obtenido para los bloques experimentales resultó ser no significativo para la variable rendimiento, lo que lleva a suponer que no es importante la variación entre las repeticiones de los experimentos, indicando por una parte que el material experimental mantuvo durante la fase experimental características homogéneas atribuidas al estricto tiempo de cosecha de la materia prima, efectuado según recomendaciones de la literatura, por otra parte que se mantuvo invariable la relación de mezcla del material experimental proveniente del cantón de Pujilí- Ecuador y del Corregimiento del Encano, y finalmente, que se mantuvo un buen control de las condiciones experimentales de extracción.

En el diagrama de efectos principales (Figura 21) se puede observar un comportamiento particular de la relación solvente-materia prima, indicando que al trabajar en el nivel inferior no se obtienen resultados satisfactorios, esto puede atribuirse a que, cuando se trabaja con una relación en el nivel inferior, la cantidad de solvente disponible para la extracción es muy baja dándose en el sistema un rápido equilibrio de la concentración de inulina tanto en el solvente como en la matriz sólida lo que hace que al final de proceso quede inulina atrapada en la materia prima, un comportamiento similar se presenta con el factor temperatura en el nivel inferior llevando a suponer que una baja temperatura no es suficiente para solubilizar la totalidad del componente de interés y esto no permite su total separación de la matriz sólida, por otra parte bajas temperaturas no alcanzan a desnaturalizar por completo la pared de las células razón por la cual su permeabilidad no es suficiente para permitir la salida del componente de interés hacia el solvente.

6.2.3 Identificación cuantitativa de inulina por HPLC. Frente a la cuantificación de inulina por HPLC y al rendimiento obtenido por la técnica de refractometría planteada en el anexo B para la solución acuosa obtenida en los puntos óptimos, cabe mencionar que no se encontró una relación directa entre los resultados que cada uno de los análisis arrojó. Sin embargo este hecho puede ser explicado a partir de la técnica de cromatografía HPLC, que aplica un método de identificación selectivo para la inulina utilizando una muestra patrón, mientras la técnica refractométrica se ve influenciada por la presencia de otros componentes ajenos (azúcares simples) a la inulina en el extracto.

Para hacer una discusión del comportamiento de estos resultados, es necesario tener en cuenta los siguientes aspectos:

El rendimiento óptimo que se obtuvo por la técnica refractométrica fue de 20.7%, es decir aproximadamente 103.5 g de inulina bruta /500 g de yacón, según la tabla de respuesta óptima para la extracción (Tabla 7).

El rendimiento obtenido trabajando en los niveles óptimos, tras efectuar el secado del extracto fue del 17.3 %, es decir aproximadamente 86.5 g/500 g de yacón, esta diferencia de rendimientos puede ser resultado de las pérdidas que se presentaron durante el trabajo experimental y que se hacen más significativas por tratarse de un proceso a escala de laboratorio.

El rendimiento según la técnica HPLC es de 7.574 g/l, es decir aproximadamente 34.4 g / 500 g de yacón fresco, según lo muestra el anexo E, lo que representa un 26.8% de inulina presente en las raíces de yacón en base seca.

El bajo rendimiento de inulina en base fresca, reportado por el análisis HPLC, correspondiente a 6.88% se puede explicar a partir de la presencia significativa de otros azúcares simples en el extracto como fructosa, sucrosa y glucosa que influyeron en la lectura refractométrica. El perfil cromatográfico del extracto indica de manera clara la existencia de otros componentes en la solución en una concentración incluso mayor que la inulina, para uno de los picos en particular, componente que no fue identificado pero que probablemente corresponda a fructosa resultado de la degradación de la inulina en el extracto a azúcares simples, como fructosa y glucosa por causa de acción enzimática o una posible contaminación pues finalmente se debe considerar que la prueba HPLC fue realizada fuera de la ciudad, lo que lleva a suponer que la muestra pudo sufrir alteraciones en el contenido de inulina debido a que no se pueden controlar las condiciones de conservación una vez la muestra es enviada.

Teniendo en cuenta estas circunstancias, es importante señalar que, el perfil cromatográfico para el extracto de inulina bruta por HPLC no representó de manera fidedigna el perfil real que se obtendría si el extracto hubiese sido sometido a esta técnica de análisis de manera inmediata, no obstante éste análisis permitió ratificar los resultados obtenidos tras la cromatografía en capa fina que mostró la presencia de inulina en las raíces tuberosas de yacón.

6.2.4 Separación de inulina. Los resultados negativos que se obtuvieron a través de la técnica de cristalización, se pueden atribuir a dos razones: la primera es que la materia prima utilizada pudo contener en su totalidad inulina de cadena corta que por su bajo peso molecular no precipita cuando se encuentra en soluciones acuosas. Y la segunda es que la inulina presente en el extracto, pudo haber sido separada si éste se hubiera sometido a una etapa de purificación que incluyera métodos complejos de depurado y refinado.

Por otra parte, la técnica de secado del extracto permitió obtener un polvo con estructura cristalina de una manera sencilla y eficaz, las partículas obtenidas presentaron un color amarillo-verdoso que se puede atribuir a la ausencia de una etapa de clarificación del extracto.

6.2.5 Identificación cualitativa de inulina en los cristales. Como se puede identificar en la placa de cromatografía en capa fina, es clara e indiscutible la presencia de inulina en los cristales, pero a su vez, es notable que otras sustancias no identificadas hacen parte del sólido obtenido, por la dispersión que muestra la marca de la solución de cristales en la placa, las cuales pueden corresponder a monosacáridos como fructosa y glucosa. Este comportamiento se soporta en el análisis cromatográfico por HPLC que fue discutido en el numeral 6.2.3.

6.2.6 Caracterización de los cristales de inulina obtenidos. EL uso de la técnica de microscopía utilizada para la caracterización de los cristales en cuanto a su morfología y tamaño, resultó adecuada ya que permitió observar de manera clara la morfología característica de la inulina en la muestra patrón que permitió luego identificar a los esferocristales de inulina entre las diferentes formaciones encontradas en la muestra de cristales obtenidos por el secado del extracto. La cantidad de esferocristales identificados fue relativamente baja en comparación con la cantidad de partículas observadas, debido principalmente a las aglomeraciones presentes que no permitían diferenciar los cristales de manera individual y a la ruptura de los cristales causada por el método mecánico de pulverización. Fueron los cristales encontrados de manera individual, los que permitieron sugerir el tamaño aproximado de los esferocristales, de ahí su amplio rango.

En cuanto al punto de fusión, el resultado obtenido indica que los cristales de inulina poseían sustancias no identificadas, las cuales causaron una disminución del punto de fusión de la inulina y que dicha fusión se dio en un rango de temperaturas, situación que confirma nuevamente la presencia de sustancias ajenas a la inulina.

A pesar de hacer la determinación de solubilidad pertinente a los cristales obtenidos, el resultado no puede ser calificado como característico o no, pues la literatura no tiene una referencia precisa del valor de solubilidad de la inulina, debido probablemente a que no se toma en cuenta el GP de la inulina cuya solubilidad reportan.

Finalmente, la constante predominante en la caracterización organoléptica (Figura 28) fue la calificación “regular” a excepción del atributo apariencia donde se obtuvo la mejor valoración por parte de los panelistas gracias al aspecto cristalino de las partículas. Por su parte los atributos de color, textura y sabor tuvieron la valoración mencionada por las siguientes observaciones: el color amarillo-verdoso de los cristales, adherencia de los cristales a la dentadura tras la degustación y la poca capacidad edulcorante respectivamente.

6.2.7 Determinación de costos de extracción. Los resultados obtenidos respecto a los costos de obtención de cristales de inulina, fueron supremamente

elevados debido a que el procedimiento se realizó a escala de laboratorio. Esta estimación bajo ningún punto representa una producción a escala industrial pues los volúmenes de producción que en esta escala se manejan permiten reducir significativamente los costos. Finalmente el costo calculado fue de \$322/g de cristales, en comparación con la empresa Mieles Unicornio de México, quien produce inulina de ágave -muestra patrón- a aproximadamente \$ 173.2/g.

7. CONCLUSIONES

El yacón es una planta promisoría que ha despertado interés científico hace poco tiempo, por lo que son escasos los estudios referentes a los factores genéticos y medioambientales que permitan determinar con claridad las diferentes variedades existentes de la planta y sus características en cuanto a composición química, rendimiento y otras propiedades relevantes, razón que lleva a encontrar incongruencias en los escasos estudios sobre esta planta.

Frente a los resultados arrojados por la presente investigación se concluye que es evidente la presencia de inulina en la raíz tuberosa en una cantidad considerable, cuyo rendimiento podría verse mejorado a través de nuevas investigaciones que tengan como fin impulsar un aprovechamiento industrial del yacón fomentando su cultivo como producto promisorio.

Con el diseño experimental utilizado para el análisis se pudo establecer que para la técnica de extracción de inulina con agua caliente, fueron las variables temperatura y relación solvente-materia prima las que tuvieron un efecto importante frente a la variable respuesta, el rendimiento de inulina bruta. Por su parte, la tercer variable analizada, el tiempo, presentó un efecto poco significativo en la presente investigación atribuido a que el tamaño de partícula permitió una fácil separación del compuesto de interés durante la extracción.

El haber considerado para el desarrollo de los experimentos, la cosecha de materia prima en un periodo de crecimiento de 10 meses y el haber manejado de manera constante la relación en la mezcla del material experimental, fue positivo para los resultados obtenidos en el diseño experimental donde el P-valor para los bloques indicó que no existió variabilidad significativa entre corrida y corrida indicando que la materia prima mantuvo al parecer una composición química homogénea atribuida además a la altura donde se hallaban los cultivos.

El método refractométrico, descrito en el anexo B, no es una técnica diseñada para identificar de forma exacta el contenido de FOS en soluciones acuosas extraídas de material vegetal, sin embargo, se trata de la técnica más empleada a nivel industrial considerando que la mayor cantidad de sólidos solubles en el yacón son FOS por lo que se cuenta con una buena aproximación de su contenido en la solución.

El máximo rendimiento de inulina bruta en el extracto (20.7%), se obtuvo sometiendo el material vegetal a una extracción a 82.2 °C durante 23 min con una relación solvente-materia prima de 4.5 l/500g.

La cromatografía HPLC resulta ser un análisis muy confiable para la detección y cuantificación de inulina en soluciones acuosas, sin embargo el contenido de este compuesto se ve seriamente comprometido por las condiciones de transporte y posterior manejo a las que la solución a analizar fue sometida.

Los costos estimados de producción a escala de laboratorio no son comparables con la producción a nivel industrial de inulina, principalmente por la economía de escala que manejan las grandes casas productoras de este compuesto lo que les permite reducir costos.

8. RECOMENDACIONES

Se recomienda efectuar un estudio que permita reconocer todas las propiedades y características del recurso genético existente en la región, de tal forma que se pueda reconocer el potencial de la planta y se desarrollen estudios de mayor impacto.

Es notable la falta de reconocimiento de la planta y de sus beneficios en nuestra región, realidad que pone su existencia en peligro de extinción por lo que los autores recomiendan trabajar en programas de concientización y protección del recurso genético tanto para el yacón como para muchas otras plantas que se encuentran en una situación similar.

Se recomienda adelantar estudios de investigación que permitan establecer el tiempo óptimo de maduración del cultivo de yacón en la región, en el que exista la mayor presencia de inulina en las raíces tuberosas.

Se recomienda adelantar estudios específicos para establecer las propiedades fisicoquímicas de la inulina con el fin de facilitar el desarrollo de estudios posteriores.

Las técnicas que en la actualidad existen para la identificación específica de FOS son muy costosas y poco viables para su uso a nivel industrial, por lo que se recomienda investigar y diseñar alternativas de identificación de FOS prácticas, confiables y útiles para su manipulación a escala industrial.

Se recomienda para posteriores estudios referentes a la cristalización de inulina a partir de soluciones acuosas extraídas de material vegetal, efectuar operaciones de purificación y refinado previas a la etapa de cristalización de la inulina.

Es recomendable efectuar una microscopía electrónica de barrido a los cristales de inulina obtenidos, con el fin de identificar de manera clara su estructura y morfología.

Los autores recomiendan profundizar en los estudios referentes a la optimización de extracción de inulina de yacón tomando como variables a aquellas que en la presente investigación no fueron consideradas como el pH de extracción y el tamaño de partícula e incluso la evaluación de solventes alternativos permitidos en la industria alimentaria y farmacéutica.

BIBLIOGRAFÍA

AGUADO, J. et al. Ingeniería de la Industria Alimentaria. Vol II. Operaciones de procesado de alimentos. Madrid: Editorial Síntesis. p. 151 – 157

ALAYÓN, Alicia. et al. Prevalencia de desórdenes del metabolismo de los glúcidos y perfil del diabético en Cartagena de Indias (Colombia), 2005. En: Salud Uninorte. Barranquilla (Col.) Vol. 22, No.1 (2006); p. 20-28

ARANGO, Alberto. et al. Mortalidad por cánceres del aparato digestivo en Colombia entre 1980 y 1998. En: Rev Fac Med Univ Nal Coloma. Vol. 52, No. 1 (2004); p. 19-37.

BRETÓN, Lesmes. Metabolismo colónico de la fibra. En: Revista Nutrición Hospitalaria. Sección de Nutrición Clínica y Dietética. Universidad de Navarra. España. No. XVIII (2002); p. 11 – 16.

CHACÓN, Alejandro. Perspectivas agroindustriales actuales de los oligofructosacáridos (FOS). En: Agronomía Mesoamericana. Vol. 17, No. 2 (2006); p. 275.

CRISTALIZACIÓN: INTRODUCCIÓN. Disponible en: <URL:<http://www.iq.uva.es/opsep2/cristalizacion/cristalizaci%C3%B3n.pdf>>

ENTREVISTA TELEFÓNICA con Félix Montesinos, Gerente nacional de ventas de Mielles Unicornio. Jalisco - Guadalajara – México. 18 de noviembre 2007.

_____ 25 de Marzo de 2009.

ESTRUCTURA de los sólidos. Disponible en internet: <URL:http://docencia.udea.edu.co/qf/farmacotecnia/01/01_solidos.html>

FEDERACION DIABETOLOGICA COLOMBIANA F.D.C. 14 de noviembre “Día Mundial de la Diabetes”. 2001. Vol. 1, No. 1, p. 1. Disponible en internet: <URL:<http://www.fdc.org.co/Periodico/vol1pag2.html>>

FLETCHER, Rob. Yacon (*Smallanthus sonchifolius* syn. *Polymnia sonchifolia*). En: The Australian New Crops Newsletter. Issue N^o 12. Julio 1999.

FRANCK, A. and DE LEENHER, L. Inulin. Disponible en internet: <URL:http://www.wiley-vch.de/books/biopoly/pdf_v06/bpol6014_439_448.pdf>

GARCÍA, Renso. Estudio fitoquímico y nutricional de *Smallanthus sonchifolius* (poepp. & endl.) H. Robinson. Distribución geográfica y adaptación del vegetal en tres pisos térmicos colombianos. 2003. Disponible en internet: <URL:http://ut.edu.co/investigacion/actas/2001/12_01.pdf >

KUNZ. M., MUNIR. M. y VOGEL. M. Procedimiento para la preparación de inulina de cadena larga En: Oficina española de patentes y marcas. No. ES 2 102 093 T3 (1997); p. 1-6.

LA HUMEDAD y la materia seca. Capítulo 3. Disponible en internet: <URL:<http://www.scirus.com/srsapp/search?q=metodologia+materia+seca%2Bpapa&ds=jnl&ds=nom&ds=web&g=s&t=all>>

LA INULINA el tesoro del yacón. 2007. Disponible en internet: <URL:<http://cinafrix.com/download/LA%20INULINA.pdf>>

LINGYUN, Wei. et al. Studies on the extracting technical conditions of inulin from Jerusalem artichoke tubers. En: Journal of Food Engineering. Vol. 79, (2007); p. 1087 - 1093.

MADRIGAL, Lorena y SANGRONIS, Elba. La inulina y derivados como ingredientes claves en alimentos funcionales. En: Archivos Latinoamericanos de Nutrición – ALAN. Año 2007. Vol. 57. Número 4.

MANRIQUE, I.; PÁRRAGA, A. y HERMANN, M. Jarabe de yacón: Principios y Procesamiento. En: Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: Una década de investigación para el desarrollo (1993-2003). No. 8A. Lima, Perú. 2005., p. 3.

MONTENEGRO. A. y BETANCOURTH. E. Estudio del proceso térmico y análisis de su efecto durante el enlatado para las variedades de arveja (*Pisum sativum* L.) San Isidro y andina, en el municipio de San Juan de Pasto, departamento de Nariño-Colombia. Pasto. 2003. 64 p. Trabajo de grado. (Ingeniero Agroindustrial) Universidad de Nariño. Facultad de Ingeniería Agroindustrial.

MOREU, P. Estadística informatizada. Madrid: Editorial Paraninfo. 1999. p. 117 – 123

RAFI. Rural Advancement Foundation International. Japón se llevó el yacón!. 24 de agosto de 2001. Disponible en internet: <URL:http://www.etcgroup.org/upload/publication/pdf_file/253>

RAMDOHR, P. y BRUHNS, W. Cristalografía. Quinta edición. Editorial Rabasa S.A. México. 1965. 41 p.

RED DE Reservas Naturales de La cocha. 2006. Disponible en: <URL:http://www.adc.org.co/adc/index.php?option=com_content&task=view&id=27&Itemid=41>

SAENGTHONGPINIT, W. y SAJJAANANTAKUL, T. Influence of harvest time and storage temperature on characteristics of inulin from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers. En: Journal of food engineering. Vol. 37, (2005); p. 93 -100

SALUD Y NUTRICIÓN alimentaria a base de cultivos andinos. Instituto para el Desarrollo de Proyectos Andinos. IDEPAS – Perú. Disponible en internet: <URL: http://ertic.inictel.net/img_upload/e417a531c4c9d0b5e3a30b4d96cc64f5/SALUD_Y_NUTRICION___IDEPAS.pdf>

SENECI, Alessandro. 2003. Composición edulcorante soluble COB inulina. En: Oficina española de patentes y marcas. No. ES 2 195 319 T3 (2003).

SEQUEIROS, Nícalas. Elaboración de una bebida nutritiva a partir del yacón. Tacna – Perú. 2003. Disponible en internet: <URL: <http://www.unjbg.edu.pe/coin/pdf/01040700203.pdf>>

SIICEX. Sistema Integrado de Información de Comercio Exterior. Yacón. [citado el 4 de mayo 2009]. Disponible en: <URL:<http://www.siicex.gob.pe/siicex/resources/fichaproducto/YACON.pdf>>

SILVER, Barnard Stewart. Fracciones de inulina novedosas, proceso para la preparación de las mismas y productos alimenticios que contienen dichas fracciones de inulina. En: Oficina española de patentes y marcas. No.ES 2 198 946 T3 (2004); p. 1-14.

SMITS, Georges y DE LEENHEER, Leen. Proceso para la fabricación de inulina de achicoria. En: Oficina española de patentes y marcas. No.ES 2 203 063 T3 (2004); p. 1-23.

STATGRAPHICS PLUS 5.0 (CD-ROM). Copyright by statistical graphics corporation. 2000

TEORÍA DE la cristalización. Disponible en: <URL:<http://www.textoscientificos.com/quimica/cristales/teoria-cristalizacion>>

TÓFANO, Juliana. et al. Optimization of a physical concentration process for inulin. En: Journal of Food Engineering. Vol. 80, (2006); p. 832 – 838.

WAISSBLUTH. R. y VALENZUELA. J. Determinación del porcentaje mínimo de materia seca para autorizar la cosecha de paltas cv. hass para ser exportadas.

Disponibile en internet: <URL: <http://www.avocadosource.com/WAC6/es/Extenso/5b-213.pdf>>

WANG, X. et al. Effects of the in vitro fermentation of oligofructose and inulin by bacteria growing in the human large intestine. En: Journal of applied Bacteriology. Vol. 75, No. 4 (1993); p. 373-380

WIKIPEDIA. 2007. Disponible en internet: URL:[http://es.wikipedia.org/wiki/Pujil%C3%AD_\(cant%C3%B3n\)](http://es.wikipedia.org/wiki/Pujil%C3%AD_(cant%C3%B3n))

ANEXOS

ANEXO A

DETERMINACIÓN DE MATERIA SECA

Materiales: Raíces de yacón, peladores domésticos, rayadores domésticos, balanza analítica, papel aluminio, crisoles y mufla.

Para la determinación de materia seca en las raíces de yacón se efectuaron los siguientes pasos:

- 1. Toma de muestras.** El muestreo se hace a partir de las raíces ya seleccionadas y clasificadas listas para la extracción según la metodología mencionada en el numeral 5.2.3. Se tomaron 4 raíces aleatoriamente con un peso aproximado de 300 g cada una.
- 2. Preparación de muestras.** Las raíces se pelan y se trocean finamente, se toma entonces 3 g de cada una y se depositan sobre papel aluminio en 4 crisoles respectivamente.
- 3. Secado de las muestras.** Los crisoles se llevan a un horno precalentado a 105°C por 5 hr. hasta alcanzar un peso constante.
- 4. Determinación de materia seca.** Una vez determinado el peso final de cada muestra, se aplica la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de materia seca} = \left(1 - \left(\frac{\text{peso inicial} - \text{peso final}}{\text{peso inicial}} \right) \right) * 100$$

Para determinar la materia seca de las raíces, se saca un promedio entre las 4 muestras.

ANEXO B

DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO DE INULINA POR UNIDAD MÁSCA DE MATERIA PRIMA POR REFRACTOMETRÍA

Materiales: Extractos, refractómetro, inulina comercial (inulina de ágave), agua destilada, balanza analítica, tubos de ensayo, pipetas, agitadores de vidrio y beakers.

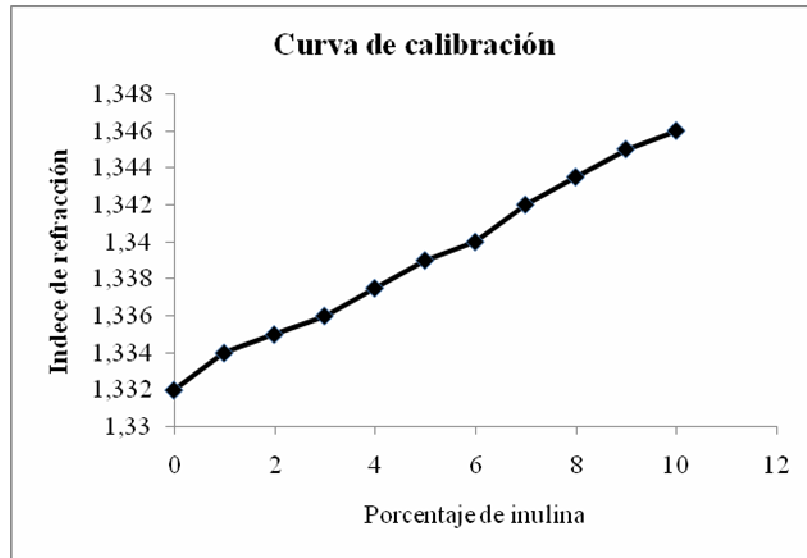
Para la determinación del rendimiento de inulina utilizando en cada ensayo 500 g de yacón, se efectuan los siguientes pasos:

1. Construcción de curva de calibración.

- Preparar disoluciones de inulina comercial en agua destilada del 1% al 10%
- Hacer lectura refractométrica por duplicado para cada disolución
- Registrar y tabular datos
- Elaborar gráfica

Los datos obtenidos y la gráfica correspondiente son:

% de inulina	Índice de Refracción
0	1,3320
1	1,3340
2	1,3350
3	1,3360
4	1,3375
5	1,3390
6	1,3400
7	1,3420
8	1,3435
9	1,3450
10	1,3460



2. Determinación de inulina presente en las soluciones experimentales.

- Medir refractometría de la solución experimental
- Ubicar el dato refractométrico en la curva de calibración y determinar el porcentaje de inulina presente en la solución

Nota: En caso de no encontrar un dato refractométrico en la curva, realizar la interpolación correspondiente

- Tomar la relación de agua/materia prima específica para cada uno de los experimentos y multiplicar por el porcentaje correspondiente según la curva de calibración, obteniéndose los gramos de inulina presente en dicha solución

3. Determinación del rendimiento de inulina por unidad másica de yacón.

- Obtener el cociente de los gramos de inulina del punto anterior entre los 500 g de yacón utilizados para cada experimento y multiplicar por 100

Ejemplo: El experimento N° 1 se realizó bajo los siguientes parámetros:

Temperatura: 85 °C
 Tiempo: 15 min
 Relación: 7 l/500 g

El extracto arrojó un dato refractométrico de 1.334 que corresponde al 1% de inulina disueltos en los 7 litros de agua. Lo que significa que en la solución hay 70 g de inulina y $70 \text{ g}/500 \text{ g} * 100$ da un rendimiento del 14% de inulina por unidad másica de yacón bajo las condiciones de extracción planteadas.

ANEXO C

RESULTADOS DE LA CUANTIFICACIÓN DE INULINA EN LA SOLUCIÓN POR ÍNDICE DE REFRACCIÓN

Nº EXP	BLOCKS	TEMP (°C)	TIEMPO (min)	REL (l/500g)	REND (%)
1	1	58,1821	20	5	10
2	1	65	15	3	12
3	1	65	25	3	15
4	1	65	25	7	14
5	1	65	15	7	10,5
6	1	75	20	1,63641	12,1
7	1	75	20	5	20
8	1	75	20	5	20
9	1	75	11,591	5	20
10	1	75	28,409	5	20
11	1	75	20	5	20
12	1	75	20	5	20
13	1	75	20	8,36359	8,4
14	1	85	25	3	19,8
15	1	85	15	3	18
16	1	85	15	7	14
17	1	85	25	7	14
18	1	91,8179	20	5	20
19	2	58,1821	20	5	10
20	2	65	15	3	12
21	2	65	25	3	12
22	2	65	25	7	10,5
23	2	65	15	7	10,5
24	2	75	20	1,63641	9,8
25	2	75	20	5	20
26	2	75	20	5	20
27	2	75	11,591	5	20
28	2	75	28,409	5	20
29	2	75	20	5	20
30	2	75	20	5	15
31	2	75	20	8,36359	8,4
32	2	85	25	3	18

33	2	85	15	3	18
34	2	85	15	7	14
35	2	85	25	7	14
36	2	91,8179	20	5	20
37	3	58,1821	20	5	10
38	3	65	15	3	15
39	3	65	25	3	12
40	3	65	25	7	14
41	3	65	15	7	10,5
42	3	75	20	1,63641	12,1
43	3	75	20	5	20
44	3	75	20	5	20
45	3	75	11,591	5	15
46	3	75	28,409	5	20
47	3	75	20	5	20
48	3	75	20	5	20
49	3	75	20	8,36359	8,4
50	3	85	25	3	18
51	3	85	15	3	18
52	3	85	15	7	14
53	3	85	25	7	14
54	3	91,8179	20	5	20

ANEXO D

IDENTIFICACIÓN CUALITATIVA DE INULINA POR CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

Materiales: extracto, inulina comercial (inulina de ágave), beakers, vidrios de reloj, agitadores de vidrio, pipetas, capilares, placas de sílica gel de (4 cm * 2 cm), atomizador de vidrio, mufla, butanol, isopropanol, agua destilada, ácido acético, anilina, difenilamina, ácido forfórico y acetona.

Para la determinación cualitativa de inulina en el extracto obtenido, se efectuaron los siguientes pasos:

- 1. Preparación de muestras.** Realizar una disolución en agua destilada de la muestra patrón (inulina comercial).
- 2. Preparación de placas.** Trazar una línea con lápiz a 1 cm del borde de la placa y con un capilar aplicar sobre ella y a un lado una gota de la solución de la muestra patrón y al otro una gota del extracto experimental.
- 3. Preparación del solvente.** En un beacker de 50 ml preparar 9 ml de solvente utilizando butanol-isopropanol-agua destilada-ácido acético (7:5:4:2).
- 4.** La placa preparada se introduce en el beacker con el solvente, cuidando de que éste no cubra las gotas de las muestras. Cuando el disolvente ascienda hasta un poco antes del final de la placa, esta se retira y se deja secar.
- 5. Preparación del revelador.** El revelador se prepara en el atomizador de vidrio con anilina-difenilamina-ácido fosfórico-acetona (1:1:5:50).
- 6.** La placa seca se rosea con el revelador y se deja secar en una mufla a 85 °C durante 10 min. Luego de este tiempo la placa se retira de la mufla y en ella se identifican las marcas de la muestra patrón y la muestra experimental.

ANEXO E

DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE INULINA EN EL EXTRACTO BAJO CONDICIONES ÓPTIMAS POR HPLC



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

INFORME DE LABORATORIO
HPLC
12.20.2007

Metodología

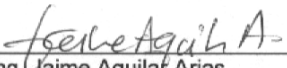
Se recibió una muestra líquida que se identifica como:
Muestra 1: Solución de Inulina.

La técnica de cromatografía líquida utilizada fue la siguiente:
Columna: Sugar-Pak 1
Fase móvil: Agua
Flujo fase móvil: 0.5 ml/min
Temperatura de la columna: 84 °C
Detector de índice de refracción
Volumen de inyección: 20 µl.

Se realizó una calibración con estándar externo empleando el patrón suministrado por el cliente. Un análisis de este patrón se presenta como anexo.

Resultados

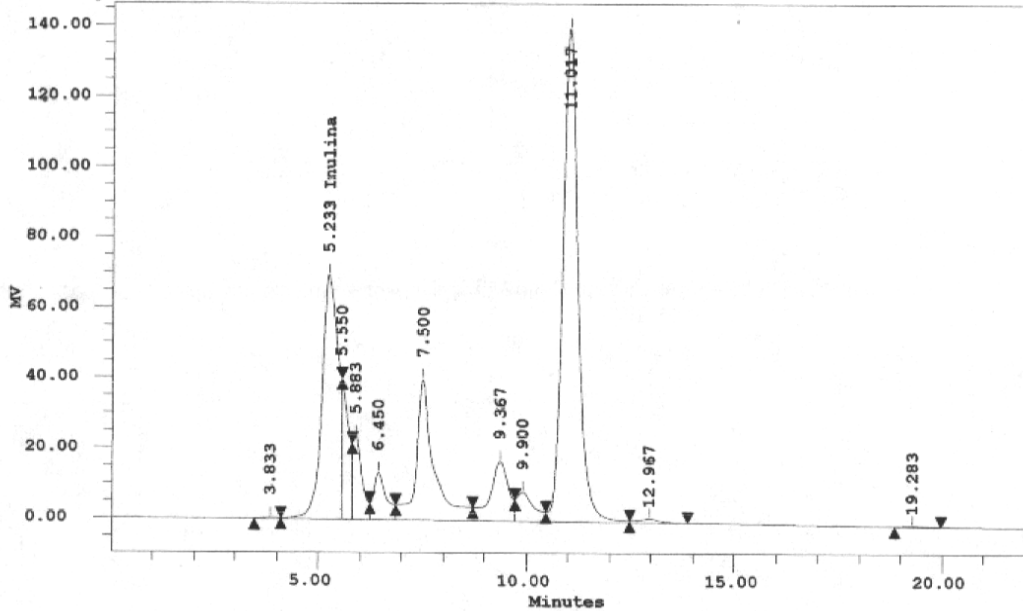
Según los reportes anexos, se encontró un contenido de Inulina de 7.574 g/l en la muestra analizada.


Ing. Jaime Aguilar Arias
Director Laboratorios de Ingeniería Química
Departamento de Ingeniería Química
Universidad Nacional de Colombia
Sede Bogotá
Tel. 3165000 ext. 14301
Ciudad Universitaria, Oficina 212

Millennium Acquisition Report	December 18, 2007	Page: 1 of 1
Report Method: Azucares	Version: 2.15.01	
Sample: muestraPasto2	Processed: 12/18/07 11:44:15 AM	
Vial: 13	Inj: 1	Channel: 410

Millennium Sample Information

Project Name:	ALactico	Sample Type:	Standard
Sample Name:	muestraPasto2	Volume:	20.00
Vial:	13	Run Time:	22.0 min
Injection:	1	Date Processed:	12/18/07 11:44:15 AM
Channel:	410	Dilution:	1.00000
Date Acquired:	12/17/07 06:55:31 PM		
SampleWeight:	1.00000		
Acq Meth Set:	AzucaresSugar		
Processing Method:	Inulina2007		

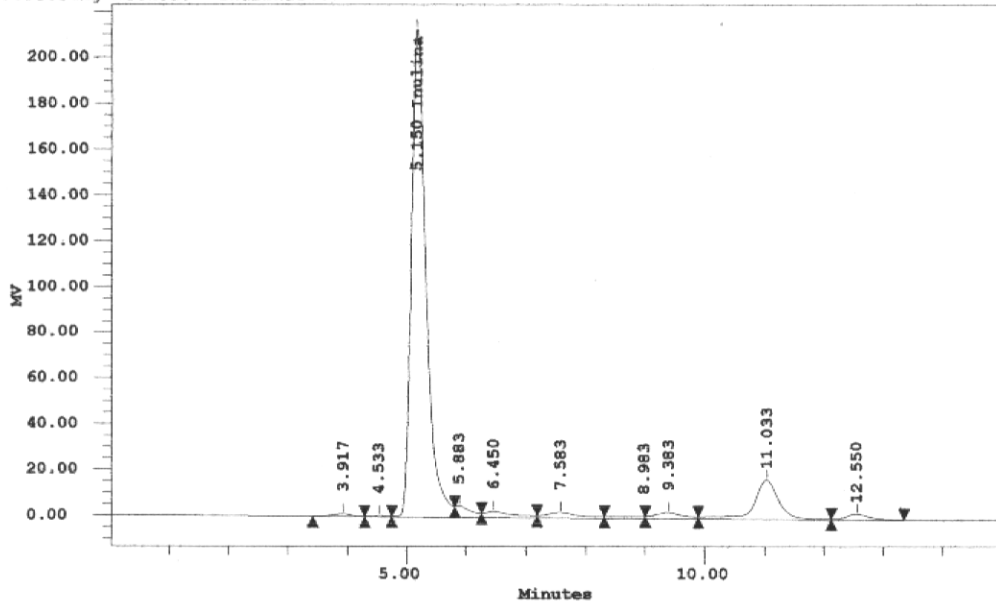


Peak Results

#	Name	Ret Time (min)	Area (uV*sec)	Height (uV)	Start Time (min)	End Time (min)	Amount	Units
1		3.833	1783	72	3.450	4.100		
2	Inulina	5.233	389605	14872	4.100	5.550	7.574	g/L
3		5.550	94578	8561	5.550	5.800		
4		5.883	81121	5052	5.800	6.233		
5		6.450	62796	2835	6.233	6.867		
6		7.500	252169	8523	6.867	8.717		
7		9.367	109318	3613	8.717	9.717		
8		9.900	51110	1759	9.717	10.467		
9		11.017	748386	29932	10.467	12.483		
10		12.967	7756	231	12.483	13.867		
11		19.283	1258	40	18.850	19.967		

Millennium Sample Information

Project Name:	ALactico	Sample Type:	Standard
Sample Name:	Inulina15g/L	Volume:	20.00
Vial:	9	Run Time:	15.0 min
Injection:	1	Date Processed:	12/18/07 11:40:04 AM
Channel:	410	Dilution:	1.00000
Date Acquired:	12/17/07 05:39:47 PM		
Sample Weight:	1.00000		
Acq Meth Set:	AzucaresSugar		
Processing Method:	Inulina2007		



Peak Results

#	Name	Ret Time (min)	Area (uV*sec)	Height (uV)	Start Time (min)	End Time (min)	Amount	Units
1		3.917	4944	244	3.417	4.283		
2		4.533	1447	77	4.283	4.750		
3	Inulina	5.150	767201	45495	4.750	5.800	15.072	g/L
4		5.883	19357	1022	5.800	6.250		
5		6.450	18792	548	6.250	7.183		
6		7.583	18729	499	7.183	8.300		
7		8.983	6781	190	8.300	9.000		
8		9.383	17778	557	9.000	9.883		
9		11.033	103094	3610	9.883	12.117		
10		12.550	12811	511	12.117	13.350		

ANEXO F

DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD APARENTE DE LA INULINA OBTENIDA

Materiales: cristales de inulina, probetas, balanza analítica, espátula.

Para la determinación de la densidad aparente de los cristales de inulina obtenidos, se efectuaron los siguientes pasos:

1. Secar la muestra de ensayo hasta masa constante en estufa a temperatura de $110^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ y homogenizar cuidadosamente.
2. Determinar el peso de un contenedor de volumen conocido.
3. Depositar la muestra en el contenedor desde una distancia de aproximadamente 5 cm hasta aforar.
4. Pesar el contenedor con la muestra.
5. Aplicar la siguiente fórmula expresada en kg/m^3 :

$$\text{Densidad aparente} = \frac{\text{masa de la muestra}}{\text{volumen}}$$

ANEXO G

DETERMINACIÓN DEL PUNTO DE FUSIÓN DE LA INULINA OBTENIDA

Materiales: muestra de cristales de inulina obtenidos, aceite, capilar, termómetro, Thiele, mechero, mortero, corcho, vidrio de reloj, pinza, soporte, hilo de atadura y espátula.

Para la determinación del punto de fusión de la inulina obtenida, se efectuaron los siguientes pasos:

1. Cerrar un tubo capilar por un extremo.
2. Pulverizar finamente la muestra, en un mortero y colocarla en un vidrio de reloj.
3. Introducir la muestra en el capilar, hasta unos 3 ó 4 mm de altura. Para ello se recoge con el mismo capilar y se presiona con una espátula. Se invierte el tubo y se golpea suavemente el extremo cerrado en una superficie endeble, hasta que el polvo se acumule en la parte baja del capilar.
4. Introducir el termómetro en un corcho que se ajuste a la boca del Thiele.
5. Sujetar el capilar al termómetro, de modo que el extremo cerrado quede a la altura del bulbo.
6. Sujetar el Thiele con una pinza a un soporte, llenarlo con y colocar el corcho con el termómetro y el capilar. El aceite ha de cubrir todo el brazo lateral y el capilar, sin llegar al extremo abierto.
7. Calentar, lentamente, el brazo lateral, para que el calor se propague por convección.
8. Anotar la temperatura a la que licua el sólido.

ANEXO H

DETERMINACIÓN DE LA SOLUBILIDAD DE LA INULINA OBTENIDA A 21 °C

Materiales: muestra de cristales de inulina obtenidos, agua destilada, balanza analítica, beacker, pipeta, termómetro, estufa eléctrica y espátula.

Para la determinación de la solubilidad de la inulina obtenida, se efectuaron los siguientes pasos:

1. Medir 10 ml de agua destilada en el beacker.
2. Determinar su temperatura y mantenerla a 21 °C a lo largo de la prueba con ayuda de una fuente de calor (estufa eléctrica).
3. Pesar una cantidad determinada de cristales y disolverlos con agitación leve.
4. Repetir el numeral 3 hasta llegar al punto de saturación de la solución, es decir el punto donde los cristales dejan de disolverse.