



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**EXTRACCIÓN DE INULINA A PARTIR DE PIÑAS DE
AGAVE MEZCALERO, *Agave angustifolia*. Haw.**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUÍMICO DE ALIMENTOS
P R E S E N T A:
FRANCISCO JOSÉ GUZMÁN LUNA



MÉXICO, D. F.

2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



JURADO ASIGNADO

| | |
|---------------------------------|---------------------------------------|
| Presidente. | Prof. Amelia Farrés González |
| Vocal. | Prof. Bertha Julieta Sandoval Guillén |
| Secretario. | Prof. Francisco Ruiz Terán |
| 1^{er} Suplente. | Prof. Maricarmen Quirasco Baruch |
| 2^{do} Suplente. | Prof. Ma. Teresa Plata Jiménez |

SITIO DONDE SE REALIZÓ EL TRABAJO:

Departamento de Alimentos y Biotecnología, Laboratorio 321
Conjunto E, Facultad de Química

ASESOR DEL TEMA

Dr. Francisco Ruiz Terán

ASESOR TÉCNICO

Dr. Arturo Navarro Ocaña

SUSTENTANTE

Francisco José Guzmán Luna



AGRADECIMIENTOS

Antes que nada quiero dar mi agradecimiento infinito a Dios por darme la paciencia y sabiduría necesaria para culminar con este proyecto de vida que tantas satisfacciones me ha brindado, así mismo por haberme permitido conocer a tantas amistades invaluables durante mi formación.

A mi universidad, la Universidad Nacional Autónoma de México por brindarme la oportunidad de tener una excelente formación profesional.

A mis asesores por su dedicación e interés que mostraron en la realización de este trabajo, por sus tan oportunas observaciones que me permitieron llevar a cabo el presente proyecto.

A las profesoras Amelia Farrés y Julieta Sandoval por su interés en la revisión y corrección del mismo.

A todos mis seres queridos que me brindaron el apoyo cuando más lo necesite, por esas palabras de aliento que tan atinadamente me ofrecieron en el momento adecuado.

DEDICATORIAS

A mis padres:



Este trabajo se los dedico a ustedes por darme la oportunidad y el apoyo en mi sueño de poder terminar una carrera, especialmente a ti mami por tus noches de preocupación y desvelo, por que pese a todas las adversidades siempre he recibido cariño de parte de ustedes, esto es una forma de agradecerles su sacrificio, aunque nunca voy a tener con que pagar todo lo que he recibido.

A mis dos corazones:

A ustedes mis dos amores, que con su comprensión y cariño han hecho que el sacrificio que este proyecto implicó tenga sentido, por que ustedes son el motor que me impulsa para ser mejor cada día, a ustedes que han estado con migo en todo momento, este trabajo es una manera de decirles GRACIAS.

A mis abuelitos:

También se los dedico a ustedes por que representan algo muy importante en mi vida, por que de ustedes solo recibí cariño, a ti abuelito por que se que donde quiera que estés tu siempre vas con migo, a ustedes les dedico mi trabajo.

A mis amigos:

A todos aquellos que durante el transcurso de mi vida universitaria me han favorecido con su amistad, a ustedes que compartieron inolvidables momentos que hicieron que mi formación académica tuviera un toque especial; A mis amigos de generación: Lino(compadre), Carmen, Julieta, Izau, Benito, Maritza, Liz, Cesar, Sibila, Xionara, Fabiola; A los que conocí durante el transcurso de la carrera: Leo, Nacho, Karla(mi gran amiga), Aidé Almozablar, Beto; Como olvidar a mis cuates con quien comparto ideales que espera siempre los conserven y defiendan, mis brothers del movimiento(HHCROM y ANEXAS): Jahaziel, Azael, Rafa, Neto, Víctor, Guicho, Manuel E., Moy, Manolo, Ponchito, El sifi, Nora,



Elianet, Noemí, Lili, Xitlali, José Luis, Ray, Charly, Juanita, Kika; y a todas aquellas que por alguna razón no recuerdo pero que saben que se les estima.

A mis profesores:

Este trabajo también va dedicado a todos aquellos profesores con los que tuve el privilegio de tomar clases y que con sus enseñanzas formaron parte de mi desarrollo tanto personal como académico, gracias por compartir sus conocimientos.

A mis compañeros del laboratorio 321:

A todos ustedes con quien tuve la oportunidad de compartir el laboratorio, por que siempre hubo un ambiente de cordialidad esto también es para ustedes.



ÍNDICE

[RESUMEN.....](#)

[INTRODUCCIÓN.....](#)

[OBJETIVOS.....](#)

[ANTECEDENTES.....](#)

[Inulina.....](#)

[Origen e historia de la inulina.....](#)

[Fuentes de obtención e identificación de inulina.....](#)

[Estructura química de la inulina.....](#)

[Síntesis de inulina en las plantas.....](#)

[Producción industrial de inulina.....](#)

[La inulina como probiótico y prebiótico.....](#)

[Productos de la fermentación de inulina.....](#)

[La inulina como nutriente humano.....](#)

[Aplicaciones de la inulina en la salud.....](#)

[Características funcionales y aplicaciones en alimentos de la inulina.....](#)

[Seguridad y tolerancia de la inulina.....](#)

[Estatus legal y regulatorio de la inulina.....](#)

[Agaves.....](#)

[Variedades de agave.....](#)

[Clima y suelo para el desarrollo del agave.....](#)

[Preparación del terreno para el cultivo de agave.....](#)

[Plantación del agave.....](#)

[Cosecha del agave.....](#)

[Composición química del agave.....](#)

[Usos del agave.....](#)

[Producción nacional de agave.....](#)

[Producción de mezcal.....](#)

[DESARROLLO EXPERIMENTAL.....](#)

[Diagrama general de la investigación.....](#)

Descripción de la metodología.....

Obtención de las muestras.....

Evaluación de los parámetros de extracción de la inulina.....

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....

Evaluación del efecto del tamaño de los fragmentos de la piña sobre la extracción del polifrufructano a temperatura y tiempo constante (60 °C).....

Evaluación del efecto de la temperatura del disolvente sobre la extracción de inulina proveniente de fibras de agave, durante 6 h de extracción.....

Evaluación del efecto del tiempo de extracción en la recuperación de la inulina a partir de piñas de agave desgarradas y a 80°C de temperatura del disolvente.....

Evaluación de la relación entre la edad de las plantas de agave y el rendimiento de inulina obtenido bajo condiciones de desfibrado de la piña, durante 8 horas y 80 °C de extracción.....

CONCLUSIONES.....

BIBLIOGRAFÍA.....



INTRODUCCIÓN

La inulina es un polifructano que funciona como material de reserva de energía en un gran número de plantas en las que se almacena principalmente en los tallos y raíces. Debido a sus propiedades ha ganado gran importancia en la industria de los alimentos, especialmente en lo que se refiere a alimentos con propiedades funcionales, esto debido en parte a que la inulina es un tipo de fibra dietética con un valor calórico bajo y es un promotor bifidogénico. Además la inulina tiene la propiedad de formar geles con excelentes propiedades, tales como el de ligar agua, punto de fusión bajo y posee características reológicas semejantes a la grasa. La inulina es un modificador reológico y puede ser usado para optimizar la textura en sistemas alimenticios. La inulina también mejora la estabilidad de las emulsiones, dispersiones y mousses, además de darles cuerpo y volumen. Por otra parte también se le atribuyen propiedades relacionadas a la salud, como el de bajar el nivel de lípidos y glucosa en sangre, mejorar la absorción de minerales y tener efectos benéficos en las personas con cáncer aumentando la apoptosis de células cancerosas y reduciendo los niveles de toxinas y enzimas productoras de cancerígenos.

A pesar de que la inulina está presente en muchas plantas sólo se extrae industrialmente de la raíz de la achicoria, la cual crece en climas suaves y amplios periodos de iluminación, condiciones con las que sólo cuentan los países europeos occidentales.

En México hay varias plantas que contienen este polifructano, entre ellas el agave, del cual se sabe que de los carbohidratos que contiene casi en su totalidad corresponden a la inulina, misma que es aprovechada en la industria tequilera y mezcalera para la obtención de tequila y mezcal,



respectivamente. El mezcal es un producto obtenido del *Agave angustifolia* Haw, este es elaborado en su gran mayoría de forma artesanal y bajo condiciones poco salubres, características que lo hacen poco redituable tanto por los rendimientos obtenidos como por el precio que adquiere en el mercado y aunado a esto están los impuestos, mismos que son muy elevados.

Debido a lo anterior, el aprovechamiento del agave para la obtención de inulina puede ser una alternativa que permita tener mejores ganancias promoviendo así el cultivo del mismo.



RESUMEN

En este trabajo se describe un proceso a seguir para la extracción de inulina a partir del agave mezcalero (*A. angustifolia*. Haw.). Para ello, se utilizaron piñas de agaves cultivados en el municipio de Sola de Vega, en el estado de Oaxaca. Las muestras fueron tomadas de plantas de agave sanas, con un intervalo de edad de entre 6 meses y hasta 4 años. Se utilizó agua destilada como disolvente en la extracción de la inulina y a las muestras se les realizó una cromatografía de capa fina para verificar la presencia del polifrufructano.

Se trabajó en muestras de agave de 4 años de edad para evaluar los parámetros de extracción de inulina. Se analizó la influencia del tamaño de partícula de los fragmentos de piña de agave sometidos a extracción, posteriormente el efecto de la temperatura del disolvente en la extracción y finalmente el tiempo de residencia de los fragmentos de piña en la extracción. Una vez establecidos estos parámetros se procedió a analizar la influencia de la edad de la planta con respecto a la cantidad de inulina extraída, para lo cual se eligieron piñas de plantas de agave de 6, 12, 24, 36 y 48 meses de edad.

Se encontró que conforme disminuye el tamaño de partícula la eficiencia de extracción aumenta proporcionalmente. Así mismo, se obtuvo que el tiempo y la temperatura óptimos fueron de 8 horas y 80 ° C respectivamente, obteniéndose rendimientos de recuperación de inulina de hasta 21.6 % en base húmeda. En lo que respecta a la influencia de la edad de la planta se encontró que el contenido de inulina aumenta de manera logarítmica, obteniéndose un máximo entre las muestras de 3 y 4 años de edad.



ANTECEDENTES

Inulina

Origen e historia de la inulina

La inulina fue descubierta por el científico alemán Rose en 1804, en un extracto de agua hirviendo de raíces de la *Inula helenium*. La inulina pertenece a los hidratos de carbono de origen natural conocidos como oligosacáridos no digeribles (NDO) y se producen naturalmente en muchas plantas. Después de la celulosa y el almidón, éstos son los hidratos de carbono más abundantes encontrados en la naturaleza (Carpita *et al.*, 1989; Marchetti, 1993b). Se ha estimado que un tercio de la vegetación total en la tierra contiene fructanos. La inulina ha sido consumida por los humanos desde tiempos históricos, en diversas plantas comestibles y frutas, una gran variedad de los cuales son productos alimenticios comunes.

La inulina, además de ser una reserva de energía en las plantas, puede actuar como osmorregulador. Debido a que se encuentra soluble en agua y a que se almacena en las raíces o los rizomas de las plantas que la contienen y en caso particular del agave, en el tallo, es osmóticamente activa. Cambiando el grado de polimerización (DP) de la molécula en la vacuola, la planta puede modificar fácilmente el potencial osmótico de sus células sin afectar la cantidad total de moléculas de hidratos de carbono. La hidrólisis interna de la inulina (GF_n) y los levanos (F_m) por endoinulinasas, baja el DP de las moléculas permitiendo a las plantas su osmoregulación, para su sobrevivencia en periodos de invierno en regiones moderadamente frías y con sequía (French, 1989).



Históricamente varios alimentos que contiene inulina, especialmente achicoria (*Cichorium intybus*), dalia (*Dahlia pinnata* Cav.), alcachofa de Jerusalén (*Helianthus tuberosus*) y yacon (*Smallanthus sonchifolius*), han sido usados como alimento principal o como cosechas de sustento (Gott, 1984).

La raíz de achicoria es originaria de Europa Occidental y ha sido cultivada en gran escala desde el siglo XVI, utilizándose verde y con todo y raíz para el consumo humano. Después de la segunda guerra mundial, poblaciones de Inglaterra y Alemania asaron raíz de achicoria para utilizarla como complemento o sustituto de granos de café y desde entonces las variedades de achicoria han sido usadas en Europa y Norteamérica para impartir el color adicional, el cuerpo y la acción sedativa del café o como sustituto del mismo (Meijer *et al.*, 1993). Esta raíz todavía es usada para ese fin en el sur de los Estados Unidos, particularmente en Louisiana. Una taza de café de achicoria puede contener 3 gramos de inulina (Van Loo *et al.*, 1995).

Fuentes de obtención e identificación de inulina

La inulina se clasifica bajo una clase general de polímeros de fructosa conocidos como fructanos. La inulina extraída de la achicoria es un carbohidrato natural polidisperso (Roberfroid, 1999). Este es un fructano que consiste predominantemente de cadenas lineales de unidades de fructosa. Todos los fructanos encontrados en las dicotiledóneas, así como de algunas monocotiledóneas, son de este tipo.



Actualmente la inulina es extraída industrialmente de la raíz de la chicoria, aunque también se extrae de la raíz de las dalias y las alcachofas de Jerusalén. En la tabla 1 se muestra el contenido de inulina en algunas plantas (Van Loo et al., 1995).

Fuentes de inulina.

| FUENTE | CONTENIDO DE INULINA |
|------------------------|-----------------------------|
| Chicoria | 15 - 20% |
| Alcachofa de Jerusalén | 16 - 20% |
| Ajo | 9 - 16% |
| Cebolla | 1 - 8% |
| Trigo | 1 - 4% |
| Espárragos | 2 - 3% |
| Plátano | 0.3 - 0.7% |

Tabla 1. Contenido de inulina en base húmeda en algunas plantas. Van Loo et al., 1995.

Estructura química de la inulina

La inulina consiste en una cadena larga compuesta de 2 a 60 moléculas de fructosa y una molécula de glucosa al final. Las moléculas de fructosa están conectadas por enlaces β -(2-1), la última fructosa se une con una glucosa por un enlace α -(1-2), como en la sacarosa (Roberfroid, 1999).

La fórmula molecular general de la inulina es GF_n , donde G representa una unidad glucosil terminal, F representa las unidades de fructosil y n representa el número de unidades fructosil. El fructano más corto del tipo de las inulinas es 1-kestosa (GF_2). Las fracciones de cadena corta de fructooligosacáridos como 1-kestosa, compuesto principal en las raíces de chicoria y en la alcachofa de Jerusalén, y la neokestosa en la cebolla, no se pueden diferenciar analíticamente (Van

Loo *et al.*, 1995). Más aun, cadenas de fructanos unidos naturalmente a cualquiera de estos trisacáridos tienen la configuración β -(2-1), implicando que con excepción de un enlace glucosídico dentro del trisacárido básico, no hay ninguna diferencia entre una molécula de fructano basado en 1-kestosa o neokestosa. La longitud de la cadena o grado de polimerización (DP) es $n+1$.

El peso molecular promedio y grado de polimerización de inulina dependen de la fuente de obtención, el tiempo de cosecha y el proceso de producción (Dysseleer y Hoffem, 1995).

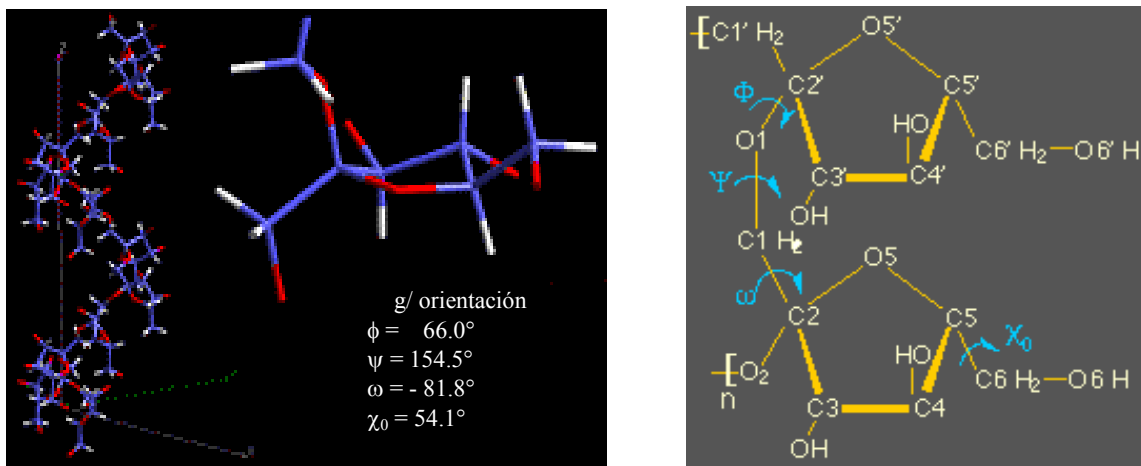


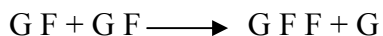
Figura 1. Estructura química y tridimensional de la inulina

Síntesis de inulina en las plantas

Pollock y colaboradores (1993) revisaron la síntesis enzimática de los fructanos *in vivo*. La biosíntesis de inulina dentro de la planta comienza por las células que usan una enzima vacuolar, sacarosa-sacarosa fructosiltransferasa (SST), la cual cataliza la reacción (Ecuación 1) para la producción de trisacáridos (isokestosa, kestosa y neokestosa) y una molécula de glucosa a partir de dos moléculas de sacarosa.



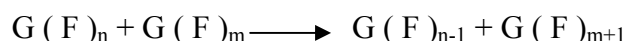
SST



Ecuación 1

La sacarosa-sacarosa fructosiltransferasa sólo presenta actividad en altas concentraciones de sacarosa (5-6%), por lo tanto el metabolismo de los fructanos es una extensión del metabolismo de la sacarosa. Después de la producción de un trisacárido, la cadena polimérica se alarga por la acción de otra enzima vacuolar, la fructan-fructan fructosiltransferasa (FFT), catalizando la transferencia de una unidad de fructosa de un polímero donante a otro aceptor. La enzima utiliza el trisacárido formado por la SST para el alargamiento de la cadena del polímero de fructosa liberando la sacarosa (ecuación 2). Por lo tanto SST y FFT tienen algunas actividades de superposición. Durante esta transferencia las moléculas de sacarosa sólo actúan como aceptores y no pueden funcionar como donadores. El mecanismo de equilibrio entre los fructanos de diferentes grados de polimerización (DP) y la ausencia de nuevas síntesis parece tener un efecto regulador sobre la fisiología de la planta (Marchetti, 1993a).

FFT



Ecuación 2

La inulina de la achicoria es una mezcla de oligómeros y polímeros de diferentes grados de polimerización, con un rango típico de DP tres (correspondiente a GF₂) hasta aproximadamente 60 unidades con una longitud de cadena promedio de aproximadamente 9. La inulina originaria de la achicoria generalmente contiene de 1 a 2 % de enlaces β-(2-6) debido a ramificaciones de cadena corta (Van Loo *et al.*, 1995). Se ha encontrado que la inulina extraída de raíces frescas de achicoria, además de tener las cadenas lineales del tipo GF_n, también contiene aproximadamente de



1 a 1.5% en base seca de compuestos (F_m). Estos homopolímeros de fructosa están limitados por un enlace β -(1-2) (Van Loo *et al.*, 1995). La m representa el número de unidades fructosil en el homopolímero. Las moléculas GF_n y F_m tienen propiedades fisicoquímicas similares, sólo que las del tipo de F_m tienen propiedades reductoras por la presencia de una fructosa final con grupos reductores libres, mientras que los compuestos GF_n no.

El término de oligofructosa se introdujo como un sinónimo de fructooligosacárido en 1989 (Coussement, 1999). La oligofructosa es un producto de la hidrólisis enzimática parcial de la inulina nativa de la chicoria que contiene moléculas del tipo F_m predominantemente. La oligofructosa ha sido definida por la IUB-IUPAC, junto con la Comisión en Nomenclatura Bioquímica y el AOAC, como oligosacáridos de fructosa que contienen de 2 a 10 residuos del monosacárido unidos por enlaces glicosídicos (Niness, 1999). Como previamente se mencionó, la inulina de la raíz de achicoria es una polidispersión de fructanos con una longitud de cadena de 2 a 60 unidades que tienen un DP promedio de 9 unidades del monómero. La inulina de la achicoria está compuesta de aproximadamente 2 % de monosacáridos, 5 % de disacáridos y 93 % de inulina. La Neosugar® es una mezcla de FOS o más específicamente de kestosa ($n=2$), nistosa ($n=3$) y E- β fructofuranosil nistosa ($n=4$). Básicamente estas son moléculas de sacarosa a las cuales se les ha agregado hasta 3 unidades de fructosa. El desarrollo y separación de la Neosugar® fue reportado primeramente en la literatura japonesa en 1993 (Oku *et al.*, 1984).

La Neosugar® puede ser aislada de salvados de triticale, trigo, centeno o sintetizado por la acción de la enzima fúngica β -fructofuranosidasa, producida naturalmente por *Aspergillus niger* (Fishbein *et al.*, 1988). Usando la nomenclatura más extensamente disponible y aceptada, todos los FOS e inulinas son fructanos, todos los FOS son inulinas pero no todas las inulinas son FOS.



Todas las inulinas que tienen un DP de menos de 10 unidades de fructosa son generalmente consideradas como FOS.

Producción industrial de inulina

Hasta hace poco la inulina no se producía a nivel industrial y no estaba disponible como un ingrediente de los alimentos para el consumo humano. La inulina se produjo a escala piloto en Kulörfabrik Alemania a principios de los años 1920's y posteriormente se extrajo a nivel industrial. En 1927 Belval reportó que varias fábricas alemanas de azúcar extrajeron inulina de achicoria de forma similar a la extracción de azúcar de la remolacha. Al igual que el azúcar de la remolacha, el extracto de inulina tenía un alto contenido de impurezas que fueron eliminadas por purificación con dióxido de carbono-cal. El enfriamiento posterior del precipitado purificó la inulina. Sin embargo, el proceso de producción fue considerado poco económico debido al proceso de purificación que utiliza la precipitación en frío (Gibson *et al.*, 1994).

En los últimos 10 años el cultivo europeo de la raíz de achicoria ha proporcionado los medios para la producción de jarabes de fructosa de alta pureza y los productos refinados de inulina de diferentes longitudes de cadena.

La achicoria es una planta bienal que requiere de la tierra y condiciones semejantes a las que requiere la remolacha: suelo profundo, fértil, permeable y fresco, con pH cercano al neutro, intolerancia a las sequías y drenaje pobre. Las mejores condiciones para la obtención de altos rendimiento son los climas suaves, suelos de arcilla ligera a suelos de arcilla arenosa y amplios



periodos de iluminación diarios, similares a los que se encuentran en países Europeos occidentales como Francia, Holanda y Bélgica. La planta es similar a la raíz de la remolacha y comparte similitudes en prácticas agronómicas y tecnologías de producción. El proceso de producción de inulina involucra tres pasos generales: la extracción con agua caliente, purificación y secado del jugo purificado a un polvo puro de inulina. Aunque la inulina sea secada por aspersion, la molécula es bastante flexible y se cristaliza fácilmente (French, 1989). El proceso de producción se presenta en la figura 2.

Proceso de producción de inulina



Figura 2. Diagrama de proceso de producción de inulina a nivel industrial. French, 1989.



La inulina como probiótico y prebiótico

Los **probióticos** están definidos como suplementos alimenticios, los cuales son microorganismos vivos adicionales a la dieta y que tienen efectos benéficos sobre el huésped, mejorando el equilibrio de su biota intestinal (Fuller, 1989). En humanos, Lactobacilos, ya sea solos ó en cultivos mixtos con otras bacterias como Bifidobacteria y Estreptococos, son probióticos comunes (Gibson, 1995).

Además, la incorporación de bacterias benéficas viables en productos alimenticios procesados es difícil debido a su alta sensibilidad al oxígeno, calor y pH (Tomomatsu, 1994). El ingreso del alimento como un bolo y el desarrollo de especies que son más resistentes a oxígeno y ácido es de gran importancia. Más aun, debido a la competencia por las fuentes de nutrientes y por los sitios de colonización con la biota endógena previamente establecida, la fijación y actividades del probiótico individual dependen de la cepa. También hay evidencia de que los efectos del probiótico son temporales. Cuando el consumo del producto probiótico cesa, las bacterias agregadas son excretadas (Bouhnik *et al.*, 1992). Sin embargo, para que las bifidobacterias sean benéficas para la salud del huésped es necesario que estos microorganismos sean metabólicamente activos en la parte inferior del tracto gastrointestinal (Hashimoto, 1985).

Como un requisito para la supervivencia y viabilidad, estas bacterias exigen una fuente de carbono que puedan utilizar para su fermentación que no haya sido metabolizada por el sistema digestivo humano, antes de alcanzar el colon. Las fuentes de hidratos de carbono selectivas no digeribles que promueven la proliferación de los géneros de Bifidobacterias y Lactobacilos han sido definidas



como **prebióticos** (Gibson y Robertfroid, 1995). Los prebióticos que se emplean potencialmente como ingredientes alimenticios deben ser no digeribles, con una larga vida de anaquel, no requerir de refrigeración, que sean fácil y eficazmente incorporados a los alimentos procesados y que nutran a las bacterias benéficas endógenas. La forma combinada de un prebiótico y un probiótico, como lo describieron Gibson y Robertfroid (1995) es llamado un simbiótico. En una revisión, Fuller y Gibson (1997) discutieron sobre una variedad de mecanismos que pueden ser responsables de los efectos benéficos de los suplementos prebióticos y probióticos.

Varios estudios *in vivo* e *in vitro* han demostrado que una dieta suplementada con fructanos del tipo β -(2,1) (inulina/FOS) proporcionan los medios eficaces para promover el desarrollo de Bifidobacterias y Lactobacilos con características selectivas, reduce el crecimiento de microorganismos patógenos y trata potencialmente disfunciones intestinales (Wang y Gibson, 1993; Robertfroid *et al.*, 1998). Como consecuencia de un proyecto financiado por una comisión europea sobre oligosacáridos no digeribles, el proyecto ENDO determinó por consenso general que hay suficiente evidencia científica para mostrar que los fructanos del tipo β -(2,1) son prebióticos (Van Loo *et al.*, 1999). Además, existen patentes en los Estados Unidos que aprueban el uso de inulina como un auxiliar gastrointestinal general en humanos (Paul, 1996), así como también el uso de inulina como método para tratar la colitis ulcerativa (Garleb y Demichele, 1995) y para inhibir infecciones generadas por *Clostridium difficile* (Garleb *et al.*, 1997).

En una revisión, Robertfroid (1993) definió a la inulina como un buen sustrato para la mayoría de las especies *Bacteroides* y *Bifidobacterium*, excepto *Bifidobacterium bifidum* y algunas cepas de *Bifidobacterium longum*. La longitud de la cadena parece ser un factor determinante para algunas especies.



Wang y Gibson (1993, 1994a) demostraron que la inulina de chicoria (DP promedio de 10 unidades) permite un desarrollo más rápido de *B. infantis*, *B. pseudolongum* y *B. angulatum* en comparación con la glucosa, al mismo tiempo que *B. longum* mostraba un desarrollo más lento y el crecimiento de otras cuatro especies no era significativamente diferente. Se demostró que la inulina suprime significativamente el crecimiento de *E. coli* y *Clostridium perfringens*, así como que durante la fermentación de inulina no se produce CO₂, H₂ y tampoco CH₄.

En estudios *in vitro* utilizando *B. infantis*, *B. brevis* y diferentes fragmentos de inulina, mostraron que la inulina (DP ≥ 15, con un valor promedio de 12 unidades) indujo para *B. infantis* un índice de crecimiento más lento que la glucosa o que la lactosa. Los datos reportados hicieron énfasis en que el peso molecular de la fuente de hidratos de carbono debe de ser relativamente grande y que su extremo reductor debe estar ocupado por fructosa para permitir el desarrollo selectivo de Bifidobacterias. Los tiempos de generación bacteriana fueron iguales para los fragmentos de inulina independientemente del peso molecular (de 1200 a 4500). Además se mostró que *B. infantis* requiere de aproximadamente 4 horas para su adaptación a estos sustratos, por consiguiente, cuando la inulina se usa como sustrato para el desarrollo de *B. infantis*, éstas se deben adaptar a ella al mismo tiempo que la digieren (Yazawa y Tamura, 1982).

Mackellar y colaboradores (1993) caracterizaron el crecimiento y la producción de inulinasa por *Bifidobacterium spp.* en fructooligosacáridos y observaron que estas cepas crecen de igual forma en fructooligosacáridos de cadena corta (DP promedio de 3.7 unidades) que en inulina de un extracto de raíz de chicoria (DP promedio de 10 unidades del monómero). Varias cepas de origen



animal (*B. thermophilum*, *B. minimum* y *B. cuniculi*) crecen mejor que las cepas de origen humano sobre inulina (DP \geq 15 con un valor promedio de 22 unidades).

Además de las bacterias algunas levaduras tienen actividad de enzima exo-inulinasa para romper enlaces β -(2,1) de inulina. Ellas pueden crecer potencialmente en períodos posteriores a las terapias con antibióticos o en individuos con un sistema inmune deprimido. Sin embargo, debido a que las levaduras son organismos patógenos principalmente oportunistas, su crecimiento excesivo es controlado y la candidiasis se previene por competencia con organismos benéficos ácidos lácticos que se alimentan selectivamente de inulina. De aproximadamente 590 especies de levaduras sólo 13 son de importancia clínica y 5 de ellas tienen crecimiento positivo y variable sobre inulina (Barnett *et al.*, 1990).

En cuanto a estudios en vivo, Bornet y otros (1997b) trabajando con fracciones de inulina de cadena corta (DP promedio de 3.7 unidades), observaron que el aumento de Bifidobacterias fecales estaba relacionado a la dosis. Ellos notaron que una dosis de 5 a 10 g/día aumentaba considerablemente el número de bifidobacterias del colon ($p < 0.05$) mientras que una dosis menor o igual a 2.5 g/día no mostraba estadísticamente efectos de modificación significativos.

Gibson y colaboradores (1995) demostraron que en personas que consumen 15 g/día de inulina (DP 2 a 60 con un promedio de 10 unidades) aumenta significativamente la población de Bifidobacterias en un período de 2 semanas (\log_{10} 9.2 a \log_{10} 10.1 por gramo, $p < 0.001$) representando la población dominante (fig 3). El número de cocos gram positivos disminuyó de \log_{10} 6.0 a \log_{10} 5.5 ($p < 0.001$), el total de aerobios, anaerobios y la cuenta de otro grupo de

bacterias quedaron al mismo nivel. Buddington y otros (1996) encontraron que la adición de Neosugar® a la dieta de sujetos saludables incrementa la cuenta de anaerobios representada por Bifidobacterias de 3.4% a 9.5%. Los anaerobios totales y las enterobacterias son afectados de menor manera por Neosugar®.

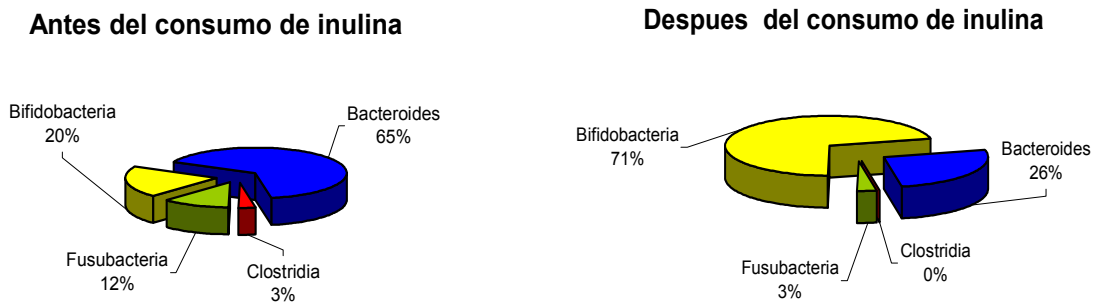


Figura 3. Estimulación selectiva de bifidos por el consumo de inulina-estudios in vivo en humanos. (Adaptado por Gibson *et al.*, 1995.)

La inulina también puede afectar enzimas intestinales y hepáticas importantes en la eliminación de compuestos tóxicos del cuerpo. Roland y otros (1994) encontraron que la actividad específica de glutatión-S-transferasa (GSH-T) en ratas alimentadas con inulina era significativamente más alta que en ratas alimentadas con otras fibras dietéticas. Buddington y otros complementaron la dieta control de 12 personas saludables con 4g de Neosugar®, la que causó que las actividades de β -glucosidasa y ácido glicólico hidroxilasa disminuyeran en un 75% y un 90%, respectivamente.



Productos de la fermentación de inulina

Al alcanzar la inulina el intestino grueso es utilizada preferentemente por un grupo de bacterias benéficas, Bifidobacterias y Lactobacilos que están presentes en el ceco-colon. Durante el proceso de fermentación, la energía es proporcionada por la proliferación de bacterias y el incremento de masa celular. Unas pocas especies de Lactobacilos producen dióxido de carbono durante su fermentación (Hartemink y Rombouts 1997). No se han encontrado bifidobacterias que produzcan hidrógeno o dióxido de carbono.

El butirato remanente del metabolismo del colon, el propionato, y el L (+) lactato entran en el hígado por el torrente sanguíneo y son completamente metabolizados. El propionato es transformado en metilmalonil-SCoA y luego en succinil-CoA. El L (+)-lactato es el precursor en la gluconeogénesis. La pequeña cantidad de butirato que alcanza el hígado es un precursor en la lipogénesis. Aproximadamente entre un 50% a un 75% de acetato se metaboliza en el hígado para la producción de energía y, del mismo modo que el butirato, sirve como sustrato lipogénico. La fracción remanente de acetato pasa al tejido del músculo periférico, donde es metabolizado (Roberfroid y Delzenne, 1993).

Las fracciones de ácidos grasos de cadena corta (SCFA) individuales son muy importantes, debido a que cada SCFA impacta de forma diferente en el metabolismo del huésped. Se ha demostrado que el propionato es eficaz en la disminución de la síntesis del colesterol, probado tanto *in vitro* en hepatocitos aislados de rata (Nishina y Freeland, 1990; Demigné *et al.*, 1995), como *in vivo* en ratas (Illman *et al.*, 1998) y en humanos (Wolever *et al.*, 1995), probablemente por inhibición de la



gluconeogénesis, estimulando la glucólisis e inhibiendo la síntesis de ácidos grasos. A la inversa, el acetato estimula la gluconeogénesis (Rémésy *et al.*, 1992b), inhibe la glucólisis y es un conocido precursor del colesterol.

La inulina como nutriente humano

La inulina como fuente de fibra dietética

Los enlaces β -(1-2) y β -(2-6) que forman la inulina son resistentes a las enzimas digestivas de los mamíferos, así como a las disacaridasas (sacarasa, maltasa, isomaltasa o lactasa) de la mucosa intestinal y la α -amilasa del homogenizado pancreático (Oku *et al.*, 1984). Por consecuencia, la inulina alcanza el colon prácticamente intacta. Los fructooligosacáridos de cadena corta tampoco son hidrolizados ni absorbidos por el intestino delgado (Tsuji *et al.*, 1986).

La inulina se compara con fibras dietéticas solubles-viscosas-fermentables, ya que éstas no son digeribles por el sistema digestivo humano, pero son hidrolizadas y fermentadas por la microbiota del colon que tiene efectos en funciones sistémicas fisiológicas. Debido a que la inulina no posee los efectos físicos típicos de las fibras dietéticas solubles viscosas, ésta no hace que se reduzca considerablemente el tiempo de tránsito digestivo. La inulina está definida como un “alimento funcional”, un alimento que cuando es consumido en el curso de la dieta diaria tiene beneficios fisiológicos específicos. Según Roberfroid (1993) y Prosky (1999) estas características deben de clasificar a la inulina como una fibra soluble dietética única.



Como la Administración de Drogas y Alimentos (FDA) y el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) han definido a la fibra dietética como un material que precipita en 78% de etanol, la inulina y los FOS no están clasificados actualmente como fibra dietética. Esta definición se encuentra en revisión, por lo que en un futuro puede incluirse a la inulina y a los FOS. Los métodos analíticos oficiales de la AOAC (997.08 y 999.03), han sido aprobados para cuantificar los fructanos β -(2-1) como la fibra dietética soluble compleja en alimentos y productos alimenticios (Kennedy, 1999). A la fecha, la inulina y los FOS han sido aceptados como fibra dietética en 15 países (Austria, Bélgica, Dinamarca, Francia, Alemania, Grecia, Irlanda, Italia, Países Bajos, Noruega, Portugal, Sudáfrica, Suecia y Suiza), con aprobaciones pendientes en otros cuatro países además de los Estados Unidos (Australia, Canadá, España y el Reino Unido) (Prosky y Hoebregs, 1999).

Una definición fisiológica de fibra dietética combina el criterio nutricional de no digerible con el efecto fisiológico que está asociado con la ingesta regular de fibra dietética. En la tabla 3 se presentan los efectos potenciales fisiológicos atribuidos a carbohidratos no digeribles incluyendo efectos locales y sistémicos (Jenkins *et al.*, 1999).

Efectos potenciales de carbohidratos no digeribles:

Efectos Fisiológicos

| Locales | Sistémicos |
|--|---|
| ↑ Volumen fecal | ↓ Colesterol |
| ↑ Bacterias | ↓ Triglicéridos (↓ insulina; ↓ glucosa) |
| ↑ Selección de bacterias | ↓ NH ₃ |
| ↑ Producción de SCFA | ↓ Urea |
| ↑ Selección de SCFA | ↑ Vitaminas del complejo B |
| ↑ Absorción mineral | ↑ Funciones inmunológicas |
| ↑ Síntesis de vitaminas del complejo B | ↑ Glutamina |

Tabla 3. Efectos generados por el consumo de carbohidratos no digeribles. Jenkins et al., 1999.



Valor calórico de la inulina

Los oligosacáridos de cadena larga (inulina) y fructooligosacáridos (GF₂, GF₃, GF₄) alcanzan el intestino grueso casi intactos, por lo que se consideraba que no eran una fuente mayor de energía (Oku et al., 1984). Además, no parece haber algún ajuste hidrolítico enzimático en el intestino delgado por la ingesta de estos factores a largo plazo. Nilsson y otros (1988) usaron una entubación oral para dar a las ratas fructanos con un DP de aproximadamente 9 o de un DP 16 y encontraron que ambos continuaron como material no digerible a través del tracto gastrointestinal hasta el colon. Sin embargo debido a la fermentación bacteriana que se produce en el colon, estos oligosacáridos contribuyen a la reserva de energía. El valor calórico de las unidades fructosil de oligofructosa se calcula a un 30 o 40% de la digestión de una molécula de fructosa o entre 1-1.5 Kcal/g (Roberfroid *et al.*, 1993). Ranhotra y colaboradores (1993) reportaron un valor calórico de oligofructosa de 1.48 Kcal/g. Ellos determinaron el valor de energía utilizable basado en la eficiencia de conversión de energía neta del alimento, usando ratas jóvenes como modelo de prueba. Para propósitos a nivel nutricional, Roberfroid (1993) recomienda que a la inulina y oligofructosa, así como todos los oligosacáridos no digeribles que se fermentan principalmente en el colon, se les asigne un valor calórico de 1.5 Kcal/g (6.3 KJ/g).

Efecto de la inulina en metabolismo de lípidos

Un efecto sistémico comúnmente referido de la inulina es el relacionado al metabolismo de lípidos. La mayoría de los estudios en animales ha demostrado que la inulina tiene efecto sobre el nivel de lípidos en la sangre. Una alimentación diaria de oligofructosa (DP promedio de 4.8) a ratas en niveles de dosis de 10%, generó que los niveles de triglicéridos en el suero bajaran



considerablemente después de una semana de iniciada la alimentación (Fiordaliso *et al.*, 1995). Los triglicéridos en el suero de ratas alimentadas con oligofructosa permanecieron considerablemente bajos en relación a ratas alimentadas con una dieta control durante 12 semanas adicionales de la alimentación. La disminución en los niveles de triglicéridos en el suero al parecer no era debida al aumento de la excreción fecal, dado que los niveles de excreción fecal se mantuvieron inalterados durante todo el estudio.

En confirmación al trabajo de Fiordaliso y otros (1995), Kok y otros (1996b) demostraron una disminución de triglicéridos VLDL en el suero cuando incorporaron 10% de oligofructosa (DP=4.8) en dietas normales para ratas. Ya que la actividad enzimática en el hígado también se redujo para dos de las cuatro enzimas estudiadas, es muy probable que la oligofructosa haya disminuido la capacidad del hígado para la síntesis de nuevos triglicéridos y ácidos grasos, mediante la inhibición de la actividad de algunas enzimas importantes, principalmente glicerol-3-fosfato aciltransferasa y la ácido graso sintasa.

Se ha sugerido que la oligofructosa pueda tener la capacidad de proteger contra o modificar la acumulación de lípidos en el hígado que fue inducida por otro nutriente como la fructosa ingerida al mismo tiempo (Kok *et al.*, 1996a).

El efecto de los fructooligosacáridos en el metabolismo de los lípidos en humanos puede variar y puede depender de la presencia de alguna enfermedad crónica (Yamashita *et al.*, 1984).

Otro estudio cruzado que implicó a 21 hombres y mujeres hipercolesterolémicos que ingirieron 18 g/día de inulina en una dieta baja en grasas, mostró reducciones estadísticamente significativas



($p < 0.05$) para el colesterol-LDL (-4.4%) y para el colesterol total (-8.7%), respectivamente (Davidson *et al.*, 1998). Asimismo no se notaron efectos en el colesterol-HDL o de triglicéridos en el suero.

Efecto de la inulina en la absorción de minerales

Aunque la fibra de cereal y su contenido de fitato hayan sido encontrados como depresores de la absorción y retención de varios minerales (Greger, 1999), se ha supuesto que los carbohidratos fermentables, como la inulina, posiblemente podrían mejorar la absorción metabólica de varios iones, incluyendo calcio hierro y magnesio (Campbell *et al.*, 1997; Lopez *et al.*, 1998.). El mecanismo para esta mejora en la biodisponibilidad se especula que sea la producción de SCFA y lactato a partir de la fermentación de inulina en el colon. La reducción del pH luminal podría incrementar la forma iónica libre y la solubilidad de minerales y de esta manera incrementar la biodisponibilidad. El pH luminal más bajo podría incrementar la concentración de minerales ionizados y acelerar la difusión pasiva (Rémésy *et al.*, 1992a).

En particular, la acumulación de fosfato de calcio en el intestino grueso y la solubilización de minerales por SCFAs, probablemente jueguen un papel esencial en el aumento de la absorción mineral (Kashimura *et al.*, 1996).

Cuando se enfocó en el hierro, Ohta *et al.* (1995) investigaron los efectos de fructooligosacáridos en la absorción mineral en ratas que se hicieron anémicas antes del estudio. Ellos encontraron que la alimentación con fructooligosacáridos redujo el pH cecal, aumentando el contenido de hierro, calcio y la solubilidad del magnesio e incrementándose así la absorción de los mismos. Además los



niveles de hierro no afectaron la absorción de calcio y magnesio cuando se incluyó en la dieta fructooligosacáridos. Así, los fructooligosacáridos pueden ser provechosos corrigiendo la anemia por deficiencia de hierro al mismo tiempo que se incrementa la absorción de calcio y magnesio.

Cuando son ingeridos almidón resistente u oligosacáridos, el impacto del ácido fítico en la absorción mineral se ve disminuido (Lopez *et al.*, 1998), debido posiblemente a la fermentación que se efectúa en el intestino grueso cuando hay oligosacáridos presentes. Esto es especialmente verdadero para el calcio, magnesio, zinc, hierro y cobre. Los mecanismos de absorción puede variar con el mineral y el tipo o cantidad de carbohidrato no digerible presente (Greger, 1999).

La inulina como un factor en la producción de vitaminas

Generalmente se cree que las bifidobacterias sintetizan muchas de las vitaminas del complejo B (tiamina, ácido fólico, ácido nicotínico, piridoxina y vitamina B12) (Deguchi *et al.*, 1985). Cuando las bifidobacterias están presentes en la biota intestinal humana, pueden ser una fuente significativa de abastecimiento de vitaminas del complejo B. Muy probablemente la estimulación del crecimiento bifidobacterial por inulina y oligosacáridos puede producir la síntesis y la disponibilidad de las vitaminas del complejo B en los humanos.



Aplicaciones de la inulina en la salud

Efectos de la inulina sobre el cáncer

En una revisión de los posibles efectos mecánicos para la inhibición del cáncer de colon, Reddy (1999) enfatizó la importancia de examinar la actividad probiótica, prebiótica y el posible efecto sinérgico cuando ambos son usados juntos.

Factores prebióticos como inulina y oligofruktosa son capaces de estimular el crecimiento selectivo de bifidobacterias a expensas de bacterias más putrefactivas (Gibson y Roberfroid, 1995). Además la fermentación de estos oligosacáridos en las regiones colónicas da como resultado la producción de ácidos grasos de cadena corta (acetato, propionato y butirato) y ácido láctico (Roberfroid *et al.*, 1993; Wang y Gibson, 1993). Se ha demostrado que el ácido butírico aumenta la apoptosis en líneas de células en tumores de colon en humanos (Hague *et al.*, 1993). Hay evidencia que incrementando el número de bifidobacterias en el colon y reduciendo el pH intestinal, se puede tener un impacto directo sobre la carcinogénesis del intestino grueso (Hill, 1988; Koo y Rao, 1991).

Rumney y Rowland (1995) sugirieron que la producción de metabolitos tóxicos puede ser reducida incrementando la producción de más microbiota colónica saludable que compite con bacterias patógenas y putrefactivas para así reducir los niveles de toxinas y enzimas productoras de cancerígenos. Las enzimas productoras de toxinas y carcinógenos tienen una actividad relativamente baja en Bifidobacterias y Lactobacilos, comparado con otras microbiotas colónicas



más dañinas (Rowland, 1995). Estas alteraciones en las enzimas bacterianas pueden interferir en la conversión de pro carcinógenos a su forma cancerígena y así se reduce el riesgo de cáncer.

La inulina y oligofructosa agregados a dietas de animales han producido reducciones en el número de focos de cripta aberrante (ACF) (Reddy *et al.*, 1997). Los focos de cripta aberrante son reconocidos como lesiones preneoplásticas tempranas en el colon y como tal, son considerados predictivos de la incidencia del tumor eventual. Koo y Rao (1991) mostraron que la administración oral de bifidobacterias nativas y la incorporación de una fracción de 5% de inulina en la dieta de ratones reduce significativamente la incidencia de criptas aberrantes y focos en el proceso de carcinogénesis colónica inducido por 1, 2-dimetilhidrazina.

Efecto de la inulina sobre la diabetes mellitus

Uno de los primeros registros sobre el uso de plantas con alto contenido de inulina como un agente hipoglicémico, fue realizado por el médico Griego, Theophrastus, quien usó la planta diente de león (*Taraxacum officinalis*) para tal propósito (Bolyard, 1981). El diente de león también es usado por varias culturas en Euro-Asia para equilibrar el metabolismo de azúcar (Morton, 1981). En Norte América, inula campana (*Inula helenium*) ha sido usada para disminuir el azúcar en sangre (Foster y Duke, 1990).

En años más recientes, otros también han sugerido que productos alimenticios que contienen inulina pueden ser benéficos para personas enfermas de diabetes, debido a su efecto en la reducción de la captación de glucosa y así reduce la hiperglicemia postprandial (Kim y Shin, 1996).



Los beneficios en la salud por el consumo de oligosacáridos en la dieta pueden ir más allá de un efecto directo en la glucosa en suero o en los niveles de insulina. Algunos investigadores sugieren que la deficiencia de magnesio incrementa el riesgo para la diabetes e infarto al miocardio. A partir de que se sabe que los fructooligosacáridos ayudan a incrementar la absorción de magnesio (Ohta *et al.*, 1994a; 1995), estos podrían ser útiles por disminuir el riesgo de estas dos enfermedades.

Efecto de la inulina en las enfermedades del corazón

El efecto de la inulina y oligofruktosa en el metabolismo de lípidos y su papel definitivo en las alteraciones de los niveles de lípidos en suero, parece ser dependiente de los niveles previos de lípidos, las variaciones individuales, la duración de la administración de la inulina y/o la oligofruktosa y el nivel previo de grasa en la dieta ingerida. Si el colesterol y LDL-colesterol pueden ser reducidos del suero total sin la disminución de HDL-colesterol, debe haber un impacto positivo en el riesgo a largo plazo para las enfermedades del corazón, especialmente en quienes están en riesgo por los altos niveles de lípidos en suero (Roberfroid, 1993).

Papel de la inulina en el sistema inmunológico

Es de interés adicional, el amplio uso histórico de hierbas medicinales que contienen inulina, usadas por sus efectos inmunoestimuladores. De estas hierbas, las más ampliamente reconocidas es la *Echinacea angustifolia*, que contiene aproximadamente 6 % de inulina. Se promueve como una sustancia que tiene un efecto estimulador en el sistema inmune celular (Bauer y Wagner, 1991). Aunque se han aislado otros polisacáridos inmunoestimuladores y anti inflamatorios leves de la especie *Echinacea* (Rawls, 1996), la inulina es el más notable de los polisacáridos de la *Echinacea*.



La inulina en la salud gastrointestinal

Durante siglos se han usado plantas que contienen fructanos para promover la salud gastrointestinal y tratar problemas del tracto gastrointestinal (Caius, 1986; Hsu *et al.*, 1986). Campbell y colaboradores (1997) sugirieron que la salud gastrointestinal puede ser mejorada por el consumo de oligosacáridos debido a su efecto en la producción de ácidos grasos de cadena corta, en la disminución del pH y en el incremento de bifidobacterias, sin embargo, como consecuencia de que los oligosacáridos alcanzan el intestino grueso en gran parte intactos, existen la posibilidad de que se experimente una incomodidad gastrointestinal, factor con el cual se deba combatir (Rumessen *et al.*, 1990). Por ejemplo, las ratas han desarrollado diarrea después de haber iniciado el consumo de FOS, la cual persiste por dos o tres semanas (Tokunaga *et al.*, 1986). Los niveles de FOS usados son comparables a más de 10g por Kg de peso corporal. Saunders y Wiggins (1981) han indicado que el colon humano es capaz de remover cantidades apreciables de dosis simples de carbohidratos probablemente absorbidos. Sin embargo, cuando la capacidad se excede, un aumento de diarrea puede resultar. Las moléculas polidispersas más largas (DP de 20 a 60; 10 unidades promedio) han demostrado ser mejor toleradas, solamente generando una leve incomodidad (Kleessen *et al.*, 1997). Como la inulina tiene un efecto algo laxante, podría ser útil en la disminución del estreñimiento sólo con una leve incomodidad (Kleessen *et al.*, 1997).

Se ha propuesto que el síndrome del intestino irritable, que es un trastorno gastrointestinal común, también puede ser ayudado por la suplementación con inulina u oligofruktosa debido a sus efectos en los números de bifidobacterias. Más allá, Scheppach (1998) ha sugerido que el butirato, uno de los productos de fermentación de la inulina, podría ser una variable potencialmente importante en la colitis ulcerativa y trastornos de mala absorción.



La inulina en la salud dental

El uso de inulina como sustituto de otros carbohidratos puede tener un papel en la salud dental. Usando en experimentos *in vitro*, placa dental, investigadores mostraron que los fructanos de bajo peso molecular ($DP < 5$) puede servir como substrato a microorganismos orales (Nilsson et al., 1988). Sin embargo la relación *in vitro* de producción ácida es más baja en comparación con la glucosa.

La inulina en la salud ósea y ayuda durante la menopausia

El uso de inulina, particularmente en combinación con otros ingredientes nutracéuticos, como son los isoflavonoides de soya, puede desempeñar un papel en la prevención de la osteoporosis, aumentando la absorción de calcio, incrementando el reciclado de compuestos como los estrógenos y elevando la densidad ósea. Se ha mostrado en estudios en animales y humanos que la inulina y la oligofructosa tienen efectos en el incremento del balance y absorción de calcio dietético, proporcionando así los medios para mejorar la densidad ósea (Coudray *et al.*, 1997). Más aun, los efectos de la inulina en la promoción de crecimiento de poblaciones de bacterias probióticas, podría reforzar potencialmente la recirculación de estrógenos, la cual también puede afectar la salud ósea (Chaintow y Trenev, 1990). Como lo resumieron Chaintow y Trenev (1990), el 60% de las hormonas femeninas circulantes como los estrógenos, son secretadas vía la bilis en el tracto gastrointestinal. Bajo condiciones normales, las hormonas son convertidas por enzimas bacterianas a una forma reciclada que es reabsorbida principalmente en el torrente sanguíneo y convertida a una forma biológicamente activa. Bajo condiciones de uso de antibióticos de amplio espectro, donde las poblaciones prebióticas pueden estar reducidas, el reciclado de estrógenos puede estar



disminuido. Si los FOS/inulina, como prebióticos, pueden aumentar las poblaciones bacterianas apropiadas, el efecto de reciclado podría mantenerse. Sin embargo, se requieren más estudios para elucidar el mecanismo y proporcionar evidencia clínica acerca de la influencia de los prebióticos en esta área.

Efecto de la inulina sobre infecciones oportunistas (salud del tracto urinario y candidiasis)

Los probióticos se resisten a la colonización de patógenos oportunistas compitiendo agresivamente por los sitios de enlace en la pared del epitelio colónico y produciendo agentes patógenos antagonistas, es decir ácido acético, láctico, peróxido de hidrógeno y varias sustancias antibióticas naturales. Sin embargo, partiendo de que los efectos probióticos pueden ser transitorios (Bouhnik *et al.*, 1992), el uso de prebióticos como la inulina puede proporcionar otro medio para modificar selectivamente las poblaciones de la microbiota colónica y establecer un equilibrio colónico saludable. En lo relacionado al ácido láctico producido por las bacterias, los microorganismos patógenos oportunistas como son *Candida* (infecciones por levaduras), *Clostridium difficile* (diarrea asociada a antibióticos) y *E. coli* (infecciones del tracto urinario), son intolerantes a niveles bajos de pH (5.0 y 4.5) (Barnett *et al.*, 1990; Wang y Gibson, 1993) y normalmente los microorganismos patógenos del intestino no tienen muy activas las enzimas intracelulares 2,1- β -D-fructan-fructohidrolasas (McKellar *et al.*, 1993). Más aun, solamente cinco de todas las especies de levaduras pueden utilizar a la inulina en cualquier proporción como sustrato de crecimiento (Barnett *et al.*, 1990). Por consecuencia, el crecimiento excesivo de microorganismo patógenos oportunistas puede ser reducido selectivamente y mantenido con el uso de probióticos y agentes prebióticos selectivos, como inulina.



Se ha demostrado que el consumo de inulina puede reducir significativamente las concentraciones de estas bacterias, por el mecanismo definido en la sección de bifidogénicos, minimizando el potencial de crecimiento excesivo en otras áreas del cuerpo.

Características funcionales y aplicaciones en alimentos de la inulina

La inulina posee características físicas y fisiológicas únicas que la hacen útil para conferir textura a los alimentos. Por ejemplo, cuando se reemplaza el jarabe de maíz por inulina en formulaciones de cremas de helados bajos en grasas, se crea una textura dura. Sin embargo, cuando se reemplaza el 50% de jarabe de maíz con inulina, se reduce la formación de cristales de hielo durante condiciones de almacenamiento excesivas (Schaller-Povolny y Smith, 1999). En pruebas de consumidor, hubo una mayor preferencia de yogurt sin endulzar que contenía inulina por encima de las muestras que no contenían inulina. El yogurth con inulina fue identificado como más cremoso en apariencia, menos contenido de crema, una mayor textura cremosa y fue más dulce, con un menor sabor a agrio/fermentado y ligero resabio (Spiegel *et al.*, 1994). Se encontró que un yogurt hecho con 10% de inulina con un DP de 12-16, incrementa la firmeza y disminuye la sinéresis, comparado con un yogurth hecho con inulina de cadena corta (DP 5-8) y con los controles que no contenían inulina (Terry *et al.*, 1999).

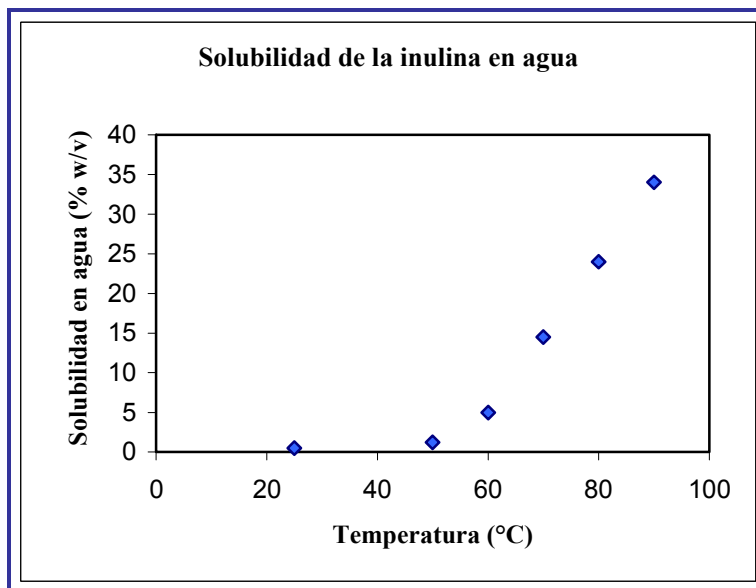
La purificación de inulina grado analítico se da como cristales esféricos con estriación radial. Su peso molecular promedio fluctúa entre 5600 y 6300 dependiendo del grado de polimerización de las moléculas usadas en la medición. Sin embargo, el polvo de inulina refinada extraída de chicoria, es blanca, amorfa e higroscópica; Esta tiene una gravedad específica de aproximadamente



1.35 y un peso molecular promedio de aproximadamente 1600. Es neutra en olor y sabor. La inulina comercial contribuye con un sabor ligeramente dulce debido a que contiene una pequeña cantidad de mono y disacáridos naturalmente.

La inulina de achicoria es soluble en agua, la solubilidad depende de la temperatura del agua, el grado de polimerización, de la distribución molecular de las cadenas y de como la molécula es procesada. Típicamente, la molécula de inulina es soluble en un poco más de 60 g/L a 10°C, mientras que a 90°C esta es soluble en aproximadamente 330 g/L. Bajo condiciones normales la inulina se encuentra dispersa en agua, pero puede tener una tendencia a agruparse durante la hidratación debido a su carácter hidrofóbico. La dispersabilidad puede mejorarse a través de la mezcla con azúcar o con almidón o por instantanizado del producto final. La inulina tienen una capacidad para atrapar agua de aproximadamente 1:1.5 (Y. Kim *et al.*, 2001).

En un estudio realizado por Yuoh (2003), en el que se analizaron diferentes disolventes para la precipitación de inulina se encontró que el grado de precipitación de inulina está en función del rango de DP de los productos; se observó que tanto para propanol y etanol los resultados son semejantes y en general, el acetonitrilo y la acetona precipitan mas inulinas.



Grafica 2. Solubilidad de la inulina en agua a diferentes temperaturas. Y Kim *et al.*, 2001

A continuación se enlistan algunas propiedades que confiere la inulina en soluciones acuosas.

- ✓ Disminución del punto de congelación del agua (sol 5% ↓0.1 °C)
- ✓ Aumento del punto de ebullición del agua (sol 30% ↑0.1 °C)
- ✓ Diferentes grados de solubilidad
 - <5 % forma soluciones cristalinas
 - 5 – 20 % solución coloidal
 - 20 % formación de geles (micropartículas suspendidas)

La inulina tiene una capacidad única para agregar propiedades reológicas y de textura a alimentos semi sólidos debido a su habilidad para formar geles de partículas discretas muy estables. Las características del gel de inulina son dependientes de un número de factores, incluyendo la concentración de sólidos de inulina, que se pone más viscosa y grasosa cuando se aumentan los



sólidos de inulina, además de la concentración, la distribución del largo de las cadenas de inulina también afecta las características del gel. Los grados más altos de polimerización disminuyen el nivel de inulina requerida para formar un gel. Incrementando la cantidad del contenido de monómeros y dímeros disminuye la viscosidad. Los geles de inulina son muy cremosos y grasosos, y como tal pueden ser usados reduciendo o sustituyendo la grasa en el alimento (Y. Kim, *et al.*, 2001).

Debido a las características antes mencionadas, la inulina ha sido utilizada en muchas áreas de aplicación en alimentos para el consumo humano de entre los cuales podemos mencionar las siguientes (Speigal *et al.*, 1994):

- Alimentos funcionales (**prebiótico**)
- Productos dietéticos (**↓ valor calórico**)
- Pastas (**propiedades reológicas**)
- Panificación (**retención de agua**)
- Mermeladas y jaleas (**retención de agua, textura**)
- Productos de pastelería (**retención de agua**)
- Heladería (**evitar la formación de cristales**)
- Mantequillas de cacahuete (**↓ valor calórico**)
- Alimentos bajos en grasa (**sustitutos de grasa**)
- Salsas y aderezos (**mejorar la textura**)
- Alimentos medicinales (**prebiótico**)
- Productos lácteos (**mejorar la textura**)
- Productos cárnicos (**retención de agua**)



Seguridad y tolerancia de la inulina

Las estimaciones de consumo diario de inulina de varios alimentos naturales varían en un rango de 1 a 4g para los americanos y hasta 12g para los europeos (Marchetti, 1993b). Históricamente, el consumo dietético de inulina ha sido significativamente más alto que el consumo real estimado. Las estimaciones de ingesta de inulina por el consumo de esos alimentos incluyen aproximadamente 25 a 32g de inulina por día para las poblaciones europeas que sustituyen las papas por las alcachofas de Jerusalén y aproximadamente de 160 a 260g de inulina por día debido al consumo del “murnong” por los aborígenes australianos.

La tolerancia humana a la inulina y a compuestos similares, parecer ser dictada por la longitud de la cadena y la dosis (Rumessen y Gudmand-Høyer, 1998). Los síntomas abdominales, principalmente problemas de gas y un ligero dolor abdominal, se incrementan con dosis crecientes y longitudes de cadena decrecientes. La diarrea osmótica asociada con la ingestión de oligosacáridos no disponibles o in absorbibles también se aumenta notablemente con la disminución del peso molecular de la molécula y como tal, es el factor más importante en la determinación de la tolerancia en humanos (Tokunaga *et al.*, 1986; Nilson y Björck, 1988). Por consiguiente, la tolerancia humana a inulina de chicoria (DP de 2 a 60, DP promedio de 9 unidades), es mayor que la tolerancia a FOS (DP de 3 a 7 con un promedio de 4.8) que a su vez es mayor que la tolerancia a FOS de cadena corta (DP 3 a 5, con un promedio de 3.7). Por lo tanto la microbiota del intestino, tanto de humanos como de animales que utilizan estos carbohidratos no digeribles como sustrato de fermentación, ha desarrollado enzimas inulinasas activas.



Se ha demostrado que de forma similar a otras fibras dietéticas, la tolerancia humana a la inulina es mayor cuando ésta es parte de la dieta regular y se expande a lo largo del día. Absolonne y otros (1995) observaron un incremento en la tolerancia a los FOS (DP 3 a 7) cuando la dosis inicial era dividida en dos dosis, administradas por la mañana y por la tarde. Bajo estas condiciones, la dosis máxima diaria, misma que no causó reacciones fue de 27 a 31g para los hombres y de 33 a 37g para las mujeres. Ellos determinaron que la dosis laxante más baja era de 41g para los hombres y de 40 para las mujeres.

Estatus legal y regulatorio de la inulina

La inulina derivada de varias fuentes naturales, como la raíz de la achicoria, la dalia y la alcachofa de Jerusalén está clasificada legalmente como un alimento o como un ingrediente natural de alimentos y tiene un estatus de no aditivo. En los Estados Unidos, la inulina tiene un estatus de ingrediente alimenticio y es reconocido generalmente como seguro (GRAS). Según la política GRAS, la inulina puede ser usada sin cualquier restricción significativa para todas las categorías de alimentos internacionales, a menos que el alimento esté estandarizado y la norma no permita su uso. Canadá también acepta a la inulina como un ingrediente alimenticio sin restricción en el nivel de uso o los alimentos en los que puede usarse, no hay ninguna limitación o estándar de identidad proporcionado para un alimento en específico.

La inulina está clasificada como un ingrediente alimenticio de acuerdo a la Directiva Europea 95/002 en aditivos de alimentos y está excluida del estatus como aditivo. En toda la Unión Europea (EU), los países enlistan a la inulina con un estatus de ingrediente alimenticio (no aditivo). Otros



países que le han dado el estatus de ingrediente alimenticio son Noruega, Finlandia, Dinamarca, Irlanda, Reino Unido, Suiza, Israel, África del sur, Australia, Nueva Zelanda y Japón. Además del estatus de ingrediente alimenticio, la inulina esta considerada como un producto agrícola en Europa como parte del tratado de EC (Artículo 38, Anexo II). En otros países, la evaluación específica debe hacerse por su uso internacional y con forme a la política del país.

Agaves

Los agaves, o magueyes como se les conoce comúnmente, representan un grupo de plantas suculentas típicas de México, con gran importancia biológica, ecológica y económica para el país. Durante el florecimiento de las culturas mesoamericanas, las agaváceas desempeñaron un papel importante proporcionándole al hombre alimento, calor, techo, vestido, medicina, bebida, uso religioso, ornato, muebles, implementos agrícolas, forrajes, y otros usos diversos (García, 1998).

Variedades de agave

México es el centro de origen de la familia Agaváceae, a la cual pertenecen ocho géneros, entre ellos el género *Agave*. De las 273 especies descritas de esta familia que se distribuye en el continente americano (desde el norte de Dakota hasta Bolivia y Paraguay), en México se encuentra la mayor diversidad con 205 especies, de las cuales 151 son endémicas. Los estados más ricos en número de especies son Oaxaca, Chihuahua, Sonora, Coahuila, Durango y Jalisco. En los valles Centrales de Oaxaca, en los distritos de Tlacolula, ETLA, Zaachila, Zimatlán, Ejutla y Miahuatlán



crecen varias especies de agave, entre ellas *Agave angustifolia* y *Agave korwinskii* (Ramírez J., 1995).



Figura 2. Agave mezcalero (*A. angustifolia*. Haw).

Clima y suelo para el desarrollo del agave

El agave se desarrolla en sitios que no se encuentren expuestos a cambios bruscos de temperatura, con una media cercana a los 20°C. Las lluvias deben ser de aproximadamente un metro anual; la falta de agua provoca que la planta tarde más tiempo en madurar y, por el contrario, el exceso reduce el contenido de azúcares. La altitud media debe ser cercana a 1 500 msnm, y debe haber un cielo nublado entre 65 y 100 días al año. Los mejores suelos son los arcillosos, permeables, abundantes en elementos derivados del basalto, ricos en hierro. También es importante que los suelos tengan poco calcio, pues su presencia retarda la producción de azúcar. El agave tiene la capacidad de tolerar ambientes extremos debido a que puede tomar dióxido de carbono durante la noche, por ser una planta de Metabolismo Ácido Crasuláceo (CAM). Las heladas fuertes pueden ser muy perjudiciales para el desarrollo de las plantas jóvenes, incluso puede llegar a matar plantas adultas de 5 o 6 años (Infoacerca, 2000).



Preparación del terreno para el cultivo de agave

Consiste en labores de desmonte o limpia, subsueleo, barbecho, rastreo encalado y acuartelado o marcado. Estas actividades sólo se realizan el primer año para el establecimiento de la plantación, estas se deben realizar en la temporada de frío para que se puedan eliminar los huevecillos o insectos en estado larvario disminuyendo la incidencia de plagas y enfermedades. La preparación del terreno incluye el trazo de surcos o melgas, lo que influye directamente en la cantidad de plantas por hectárea (Infoacerca, 2000).

Plantación del agave

Si bien es cierto que en Oaxaca en un principio todos los agaves crecían de manera silvestre, a través del tiempo y en función de sus características han ido seleccionándose algunos. Para la elaboración del mezcal se consideró el tamaño de la piña, aunado al contenido de azúcares, destacando el *Agave angustifolia* (Sánchez L., 1989).

El agave, a diferencia de la mayoría de los cultivos, por tradición no se siembra, se propaga asexualmente por la técnica llamada apomixis, que consiste en la selección de rizomas. Actualmente se implementa el desarrollo de hijuelos por medio de laboratorios de cultivo de tejidos, permitiendo así que las plantas tengan una menor variación en cuanto a su calidad. El agave puede producir rizomas desde el tercer año de vida, sin embargo, es hasta el cuarto año cuando tienen la calidad suficiente para ser transplantados, lo que se mide por el peso, que debe ser de 2 a 2.5 kilogramos en promedio. No se aconseja utilizar rizomas de plantas de 6 años en



adelante, dado que estos tienen poca calidad para su reproducción, están más expuestos a ser afectados por plagas y enfermedades o por fenómenos climatológicos, entre otros. Los hijuelos son sacados con el uso de una barreta metálica y se mantienen al sol durante 10 días aproximadamente para que cicatricen las heridas generadas durante la extracción y algunas personas los desinfectan para evitar la reacción de patógenos. Los hijuelos son trasladados a los sitios de propagación en donde son plantados a distancias cortas entre ellos, aquí permanecerán hasta el año y medio o dos años de vida, al alcanzar este tiempo los agaves son nuevamente transplantados al terreno en donde permanecerán hasta su maduración o bien hasta su cosecha (Infoacerca, 2000).

Según el autor Sánchez L. (1989), en el estado de Oaxaca se presentan 4 diferentes formas de cultivo de agave, considerando la manera de disponerlo en el terreno:

A) Siembra intensiva y extensiva

Bajo este tipo se define a los cultivos que se realizan principalmente en terrenos con pendientes pronunciadas y que presentan densidades de 2000 a 2500 plantas de agave por hectárea, sembrándose a una distancia de 2 metros entre agave y agave. Cuando se siembra en terrenos de primera siembra, esto es, que no han sido cultivados nunca, se obtienen excelentes rendimientos, que van disminuyendo al sembrarse por segunda o tercera ocasión. Este tipo de siembra es característica en Yautepec, el primer distrito productor de *agave angustifolia*, aunque también en el distrito de Tlacolula puede observarse esta forma de cultivo.



B) Siembra semi-intensivo y extensivo

En esta categoría se incluye a los cultivos que se realizan en terrenos de segunda y tercera clase, en laderas, lomas y terrenos pedregosos no aptos para otros cultivos, los cuales presentan una densidad no mayor a 1500 plantas por hectárea. La siembra se realiza aproximadamente a 2 metros entre agaves, dejando un claro entre hilera e hilera de agave de 3.5 a 4.8 metros. Esta forma de cultivo se presenta principalmente en Tlacolula, Ejutla, Ocotlán y Miahuatlan, siendo por su extensión la segunda forma de cultivo en el Estado.

C) Siembra no intensiva y especializada

En esta se presenta un caso único en el estado y se da en el municipio de Amatengo, distrito de Ejutla. Esta siembra se hace en terrenos que presentan pendientes pronunciadas, donde por permitirlo, la estructura del suelo (lomeríos de tierra) los campesinos siembran sus agaves en los límites de las terrazas; además de separarlos según su especie. Lo anterior a con llevado que en este lugar todos los agaves para la elaboración de mezcal sean cultivados, a excepción del *Agave potatorum*, mostrando mayores rendimientos de azúcar.

D) Siembra dispersa y especializada

Esta forma de cultivo se realiza en comunidades donde se aprovechan los agaves para la obtención de ixtle y en menor medida, para la elaboración de aguardiente de agave para auto consumo. Se caracterizan por sembrarse en terrenos con pendientes, sembrándose en colonias de agaves ya que



no muestran un arreglo lineal. Este tipo de cultivo se lleva a acabo en la región cajonera de la Sierra Norte y las alboradas (conjunto de pequeñas localidades).

Cosecha del agave

Después de que el agave ha llegado a su plena madurez, se lleva a cabo la cosecha y durante esta se realiza la jima, ya que en la elaboración del mezcal se utiliza únicamente la parte central (corazón, piña o cabeza) de la planta, donde se concentra la mayor cantidad de azúcares. En la jima se utiliza la herramienta llamada coa, que consiste en una barreta con la punta semicircular sumamente filosa, para cortar y eliminar las hojas del agave quedando sólo la médula, misma que es separada de la tierra eliminando la raíz hasta dejar la piña. Dependiendo de la edad, del tipo de agave y de la forma del corte, la piña llega a pesar cien o más kilos. La persona que realiza este proceso es llamada jimador. La jima se realiza con menor frecuencia en la temporada de lluvias, pues el agua absorbida por la planta provoca una reducción en el contenido de azúcares en las piñas (García, 1998).

Composición química del agave

A pesar de la importancia que tiene en nuestro país la industrialización del agave, en la actualidad se cuenta con muy pocos estudios relacionados al análisis de las plantas de agave. En su gran mayoría estos estudios están enfocados a los diferentes productos obtenidos de su industrialización, como son el tequila y los jarabes o mieles.



Uno de esos estudios es el realizado por W. Praznik y colaboradores (2002), quienes trabajaron con plantas de *Agave tequilana* Weber de seis años de edad, ellos analizaron la piña o centro de la planta y las hojas o pencas, para determinar el contenido de materia seca, proteína, cenizas y fibra dietética por los métodos del AOAC, además determinaron el contenido y composición de los carbohidratos por medio de métodos enzimáticos y cromatográficos, encontraron que la composición de la base de la hoja y la piña es semejante mientras que en la parte media de la hoja existe una variación significativa. Debido a las similitudes que se presentan entre el agave tequilero y el agave mezcalero y dado que para el agave mezcalero en la actualidad no se tiene algún dato, se puede tomar como referencia el primero de éstos para tener un aproximado de la composición de la planta.

Composición química del *Agave tequilana* Weber Var. Azul

| Determinación | Corazón y base de la hoja (%) | Región media de la hoja (%) |
|-----------------------|-------------------------------|-----------------------------|
| Humedad | 69 - 68.5 | 83.6 |
| Carbohidratos Totales | 22.3 - 22.7 | 9.0 |
| Proteínas | 1.3 - 1.4 | 0.35 |
| Minerales | 1.7 - 1.9 | 0.7 |
| Fibra Soluble | 5.9 - 7.1 | 6.35 |

Tabla 4. Composición química del *A. tequilaza* Weber de 6 años de edad. Praznikl, *et al.*, 2002.

Composición química de los carbohidratos del *Agave tequilana* Weber Var. Azul

| Determinación | Corazón y base de la hoja (%) | Región media de la hoja (%) |
|--------------------------|-------------------------------|-----------------------------|
| Monosacáridos (Glu/Fru) | - | 3.9 |
| Sacarosa | 0.5 - 1.3 | 8.1 |
| Polifructanos DP (3-10) | 35 - 43 | 59 |
| Polifructanos DP (11-60) | 56 - 64 | 29 |

Tabla 5. Composición química de los carbohidratos del *A. tequilaza* Weber de 6 años de edad. Praznikl, *et al.*, 2002.



Usos del agave

Cuando los españoles llegaron a México en el siglo XVI, llamó su atención el uso integral que los indígenas daban a los agaves; no había una sola parte que no rindiera beneficios, y es por ello que los bautizaron como “árbol de las maravillas”. A pesar de que en la actualidad aún se señalan más de 70 formas de empleo, la utilización de los agaves cultivados es cada vez menor y el uso de sus partes tiende a desaparecer debido al uso de los productos sintéticos (García, 1998).

El agave en la elaboración de bebidas

Las bebidas que se extraen de las plantas del género agave, gozan de fama no solo nacional, si no también internacional, la de más tradición en México y consumida desde tiempos prehispánicos es el pulque obtenido de la fermentación del aguamiel. En la actualidad, sin embargo tienen mayor consumo las bebidas que una vez fermentadas se destilan, como el tequila, mezcal, el bacanora y el sotol. El aguamiel se extrae principalmente del *Agave salmiana*, *Agave mapisaga* y el *Agave atrobirens*, el tequila del *Agave tequilana*; el mezcal se extrae de diferentes especies, según la región, el de Oaxaca, del *Agave angustifolia*, *Agave karwinskii*, *Agave potatorum* o *Agave americana*; el de Guerrero de *Agave cupreata* y el de San Luis Potosí de *Agave salmiana*; el bacanora se extrae del *Agave pacifica* mientras que el sotol se extrae de varias especies de *Dasyilirion* (García, 1998).



El agave en la obtención de fibras duras

Se conocen con el nombre de fibras duras aquellas fibras extraídas de las hojas de las agaváceas, conocidas como ixtle. Varias especies de agave, se utilizan en la extracción de ixtle para elaborar cuerdas, costales, cepillos, morrales, ayates, etc. Las especies más explotadas son el henequén Osaakki (*Agave fourcroydes*), plantado en Yucatán, el espadín de Oaxaca (*Agave angustifolia*), el sisal de Chiapas (*Agave sisalana*) y el zapupe (*Agave angustifolia* Var. Deweyana) del sur de Tamaulipas y norte de Veracruz. Las fibras pueden ser largas o cortas dependiendo de su extensión. Para la extracción de fibras largas se aprovechan las hojas externas y maduras de las rosetas, como es el caso del henequén, sisal y espadín. Las fibras cortas se obtienen del cono central de las hojas llamado “cogollo” como es el caso de la lechuguilla (*Agave lechuguilla*) (García, 1998).

El agave como alimento

Las flores de agave se venden en algunos mercados regionales para su consumo como alimento. Las flores se recolectan de plantas silvestres o cultivadas y con ellas se preparan diversos guisos, para comerse deben estar en botón, ya que al madurar se amargan. Las hojas se emplean como saborizante al cocer la barbacoa y la cutícula de ellas llamada “mixtote” se extrae para envolver distintos guisos, sin embargo, la práctica indiscriminada de la extracción del mixtote puede representar un peligro para la planta pues le puede causar la muerte. El pulque se emplea para preparar diversos platillos y salsas, siendo la más común la salsa borracha, preparada con chile pasilla y ajo. También se emplea para elaborar pan de pulque (García, 1998).



El agave en la construcción

En zonas rurales los quiotes de los agaves (tallos florales que alcanzan más de tres metros) se utilizan como postes y travesaños para construir casas, al igual que las hojas empleadas en el techo de chozas. Las hojas se amarran usando ixtle proveniente de las mismas plantas, una casa rural puede ser construida en su totalidad usando agaváceas. Los quiotes también se emplean como cercas de corrales y para delimitar terrenos (García, 1998).

Producción nacional de agave

Según datos del Centro de Investigaciones Económicas, Sociales y Tecnológicas de la Agroindustria y la Agricultura Mundial (PIAI-CIESTAAM), de la Universidad Autónoma Chapingo, actualmente existen en el país 155,558.93 Ha. de cultivo de agave tanto mezcalero como tequilero, de las cuales 149,615.63 Ha. son de cultivo convencional y 5,943.30 Ha. de cultivo orgánico (Gómez *et al.*, 2005).

Actualmente, hay alrededor de 14 mil 756 hectáreas cultivadas con agave mezcalero de las cuales el 65 por ciento de la producción se realiza en Oaxaca, frente al 35 por ciento que se cultiva en Guerrero, San Luis Potosí, Zacatecas, Durango y Guanajuato (Gómez *et al.*, 2005).



Producción de mezcal

Como ya se mencionó anteriormente el *Agave angustifolia* es aprovechado para la elaboración de mezcal, cuyo procedimiento comienza con el corte de las piñas cosechadas, este es efectuado ya sea con una coa o una hacha, una vez segmentada la piña por la mitad, esta se introduce en un horno de piedra que se encuentra en muchos de los casos a raz de tierra (durante este procedimiento se lleva a cabo la hidrólisis parcial de la inulina), finalizado el tiempo de cocción las piñas se sacan del horno y son fragmentadas en trozos más pequeños, estos junto con los jugos resultantes son introducidos en un contenedor de madera en el cual se efectúa la fermentación de los azúcares, la duración de este paso solo está determinado por medio de la degustación de los jugos fermentados, aunque generalmente dura 36 horas, finalizado este tiempo los jugos se recolectan y son llevados a una doble destilación para obtener el producto final (investigación de campo).

Hasta el 2002 existían alrededor de 7 mil productores de esta bebida y es en Oaxaca donde se encuentra el mayor número de empresas. En esa entidad funcionan alrededor de 480 palenques (Pequeñas fabricas caseras donde se elabora mezcal) de los 500 registrados, los cuales operan al 60 por ciento de su capacidad y producen 10 millones de litros de mezcal (Gómez *et al.*, 2005).



OBJETIVOS

✓ General

- Desarrollar un método de extracción de inulina a partir del tallo de agave mezcalero.

✓ Particulares

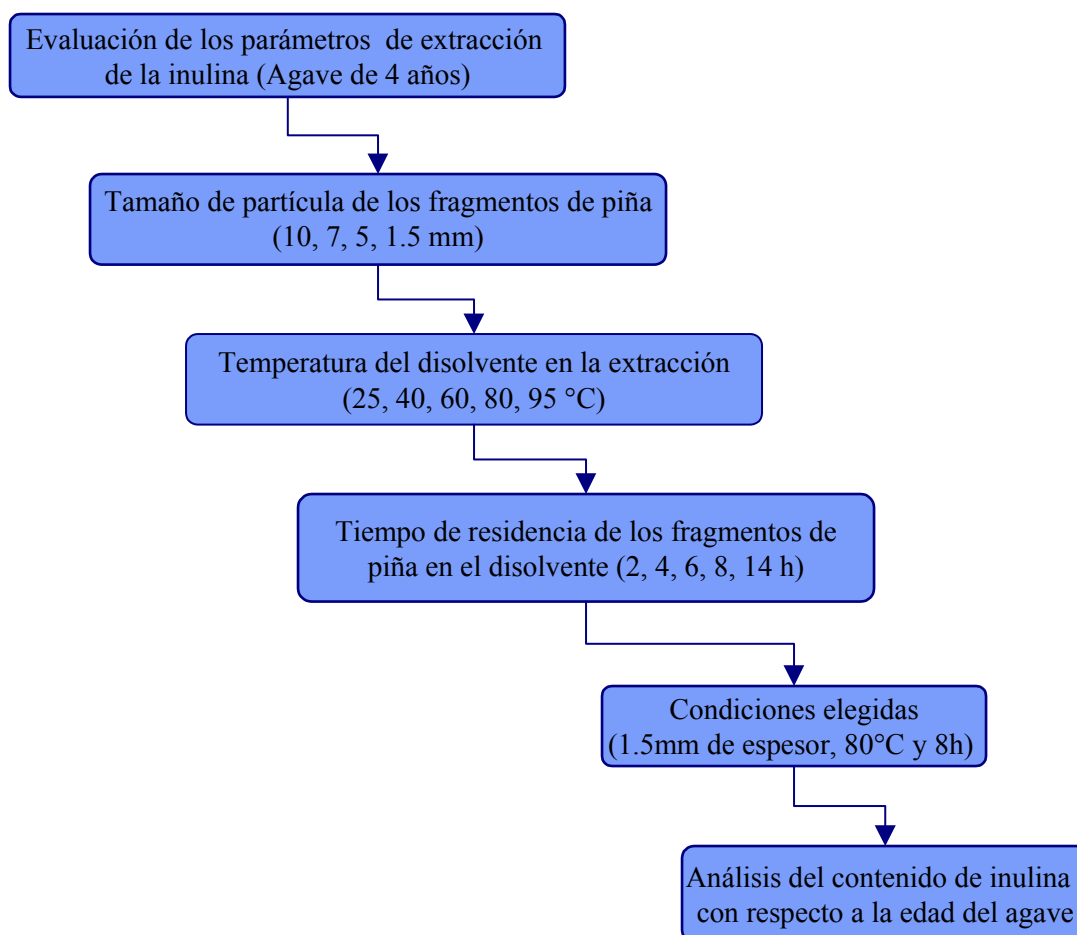
- Evaluar los parámetros que influyen en la eficiencia de extracción de inulina, como son el tamaño de partícula, la temperatura y el tiempo de extracción.
- Evaluar la relación entre la edad de la planta y el contenido de inulina.



DESARROLLO EXPERIMENTAL

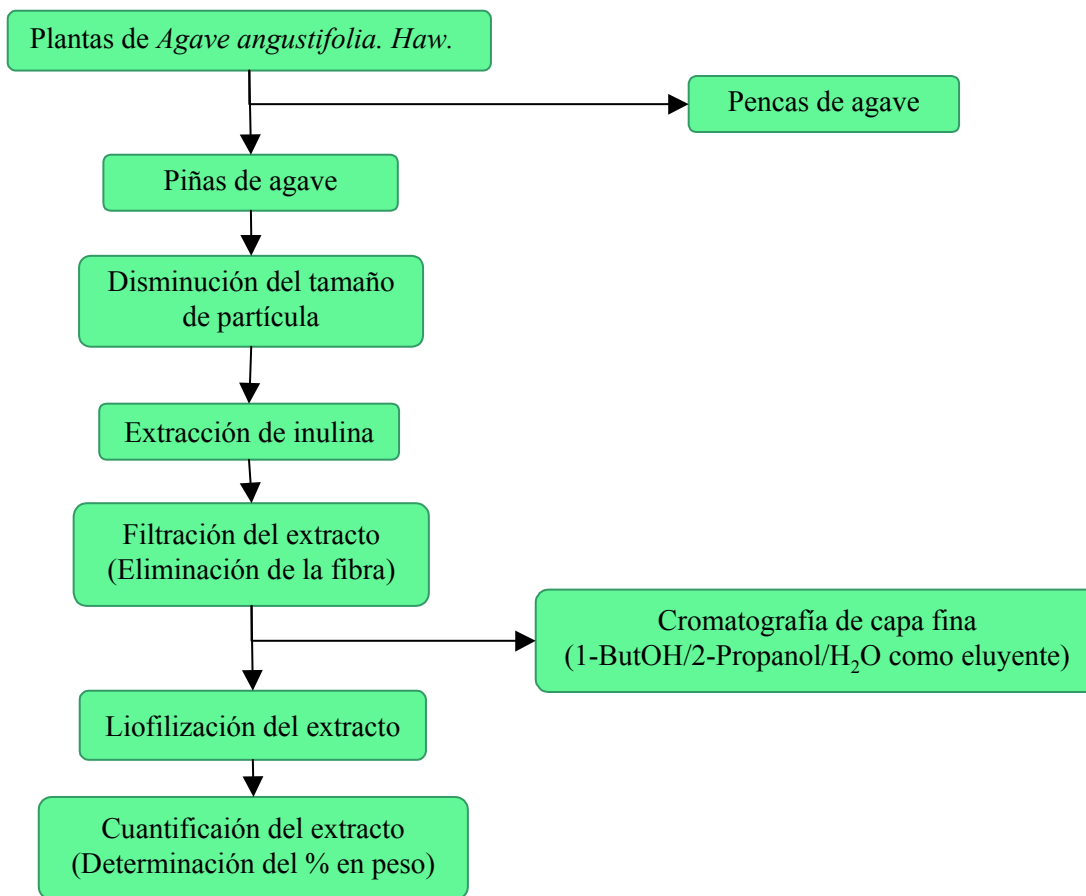
Diagrama general de la investigación

A continuación se presenta el esquema del procedimiento llevado a cabo en la investigación.





El procedimiento realizado para la extracción del polímero es el siguiente:



Descripción de la metodología

Obtención de las muestras

Se recolectaron plantas de *Agave angustifolia*, sanas, de diferentes edades (6 meses, 1, 2, 3 y 4 años) en la región de Villa Sola de Vega, perteneciente al municipio del mismo nombre en el Estado de Oaxaca, Lugar que se localiza a los 97°58'40" longitud oeste y a los 16°30'53" de latitud norte. Las plantas de 6 meses y 1 año fueron recolectadas en el área o terreno de propagación,



mientras que el resto de las plantas (2, 3 y 4 años) se recolectaron en el área o terreno de crecimiento o madurez de los agaves. A los agaves se les cortaron las hojas con una cuña o barreta y se desecharon en el lugar, quedando solamente la piña.

Para las muestras de agave de 6 meses y 1 año se tomaron las piñas completas y para las muestras de 2, 3 y 4 años sólo se tomó una cuarta parte de la piña. Las muestras fueron empacadas en una hielera y transportada vía terrestre al laboratorio en la ciudad de México para realizarles el estudio correspondiente.

Evaluación de los parámetros de extracción de la inulina

Para este procedimiento se empleó la muestra de piña de agave de 4 años de edad por considerarse que de entre las muestras a analizar, en ésta se encontraba un más alto contenido de inulina, esto debido a que la literatura reporta que el contenido de azúcares es mayor en plantas que tienen más edad (Granados, 2001).

Evaluación del efecto del tamaño de los fragmentos de la piña sobre la extracción del polifructano a temperatura y tiempo constante (60 °C y 6 h, respectivamente)

Preparación de la muestra

Se cortó una fracción de piña de agave de aproximadamente 400g, en la que se procuró que representara cada una de las partes de la piña (parte fibrosa y corazón). La muestra se dividió en



cuatro partes iguales, tres de ellas fueron manualmente seccionadas con un cuchillo en fragmentos o cubos de 10, 7, 5 mm y la última se desfibró de forma manual para obtener fibras de un promedio de 1.5 mm de grosor.

Extracción del polifrufructano

Se pesaron por triplicado 20g de cada una de las 4 fracciones de piña, se introdujeron en frascos reactores de 70 mL de capacidad (Duran) adaptados con una chaqueta. A cada uno de los frascos se agregaron 50 mL de agua destilada. Con el fin de mantener la temperatura constante (60°C) los frascos se conectaron a un sistema de recirculación de agua. Por último los frascos se colocaron en una agitadora (Lab-Line) mecánica a 250 rpm de agitación orbital constante durante un periodo de 6 h.

Filtración del extracto

Transcurridas las 6 horas, los frascos se retiraron del sistema de extracción. El extracto se filtró al vacío a través de un filtro de papel Whatman No 1 con ayuda de un embudo de porcelana y un matraz Kitasato de 250 mL, la fibra o bagazo se comprimió para recuperar la mayor cantidad de líquido. Se midió el volumen filtrado con una probeta y se reportó, mientras que la fibra fue desechada.



Verificación de la presencia de la inulina en el extracto

Para verificar la presencia de inulina en los extractos se realizó una cromatografía de placa fina según la técnica de Shinoyama y Yasui (1988). Con ayuda de un tubo capilar que se le ha hecho punta, se aplica una de las soluciones patrón (glucosa[Merck] al 1%) sobre una placa de sílica gel (Kodak Eastman hoja cromatográfica para TLC de 6 cm de altura, por 15 cm de ancho) a una distancia de 0.7 cm del borde inferior de la placa y a 0.5cm del los bordes laterales, las soluciones patrón restantes (fructosa (β -D-(-)-fructosa [Merck] al 1% en agua destilada, inulina de raíz de chicoria [Sigma Chemical Co.] al 1% en agua destilada.) así como una muestra del extracto obtenido se aplicaron a una distancia de 0.6 cm entre sí (como se observa en la figura 5). Se dejó secar y repitió la aplicación hasta completar 3 por cada muestra.

Se colocó la placa en la cámara de cromatografía previamente saturada con la fase móvil (1-butanol (J. T. Baker) /2-propanol (J. T. Baker)/agua [3:12:4]) y con una altura de 0.5 cm de esta. Se dejó eluir hasta que el frente del disolvente alcanza aproximadamente 0.5 cm por debajo del borde superior de la placa. El frente del eluyente se marcó sobre la placa con lápiz tan pronto se sacó de la cámara. Se dejó evaporar el eluyente antes de revelar la placa.

La solución reveladora de urea (Sigma Chemical Co.) en ácido fosfórico 2M (J. T. Baker) [15:45], se aplicó por aspersión sobre toda la superficie de la placa, procedimiento que se llevó a cabo en una campana de extracción. La placa se dejó secar para posteriormente colocarla en una parrilla eléctrica (Thermolyne) hasta la aparición de bandas azules y grises bien definidas.



Los Rf 's se calcularon según la siguiente formula:

$$R_f = \frac{D_r}{F}$$

Donde:

D_r = distancia recorrida por la mancha desde su punto de aplicación, expresada en cm.

F = distancia recorrida por la fase móvil, medida desde el punto de aplicación de las muestras, expresadas en cm.

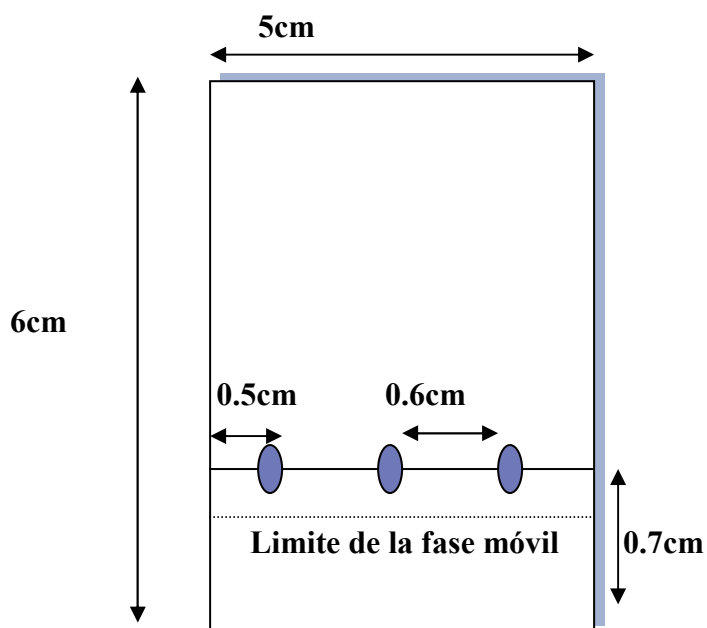


Figura 5. Aplicación de las muestras en la placa cromatografía. Shinoyama y Yasui, 1988.



Liofilización del extracto de agave (Secado)

Cada uno de los filtrados se introdujo en vasos de 250 mL para liofilizadora, se tapó y sometió a congelación (-70°C) en un ultra congelador (HARRIS). Se mantuvieron a baja temperatura hasta que la muestra se congeló totalmente. Las muestras se secaron en una liofilizadora (LABCONCO Free Dryer System, modelo freezone 6), generalmente este procedimiento tarda 24 horas. Transcurrido este tiempo, se retiraron los vasos de la liofilizadora y por medio de una balanza analítica se cuantificó el sólido resultante y se reportó en % en peso con respecto a la muestra de piña de agave. El sólido que se obtuvo fue un polvo fino de color blanco altamente higroscópico.

Evaluación del efecto de la temperatura del disolvente sobre la extracción de inulina proveniente de fibras de agave, durante 6 h de extracción

Para evaluar el efecto de la temperatura, se tomó una fracción de 300 g de piña de agave, se procuró que consistiera de fibra y corazón. La piña se desgarró manualmente obteniéndose fibras de 1.5 mm de espesor, debido a que el corazón de la piña presentó dificultad al desfibrado, este fue fragmentado con ayuda de un cuchillo. La muestra se dividió en 15 fracciones de 20g cada una, se introdujeron en frascos reactores de 70 mL de capacidad previamente descritos, se adicionaron 50 mL de agua destilada, a continuación se agruparon 5 lotes de tres, seguido de esto cada uno de los lotes se conectó a un baño de recirculación, a diferentes temperaturas (25, 40, 60, 80 y 95°C), así mismo los frascos se sometieron a agitación orbital de 250 rpm de forma mecánica durante un periodo de 6 h, se verificó la presencia de inulina en el extracto, así mismo se cuantificó el volumen obtenido, se liofilizó y se reportó en % en peso en base húmeda.



Evaluación del efecto del tiempo de extracción en la recuperación de la inulina a partir de piñas de agave desgarradas y a 80°C de temperatura del disolvente

Para evaluar el efecto del tiempo de residencia de los fragmentos de piña en relación al rendimiento de extracción de inulina, se prepararon las muestras según el procedimiento descrito para la evaluación de la temperatura, sólo que en este caso la extracción se llevó a cabo a 80 °C y se probaron tiempos de 2, 4, 6, 8 y 14 horas de residencia de los fragmentos en el sistema de extracción. Los extractos se filtraron, liofilizaron y cuantificaron siguiendo el procedimiento anteriormente descrito.

Evaluación de la relación entre la edad de las plantas de agave y el rendimiento de inulina obtenido bajo condiciones de desfibrado de la piña, durante 8 horas y 80 °C de extracción

Con el fin de determinar la relación existente entre la edad de la planta de agave y el su contenido de inulina, se sometieron a extracción muestras de agave de 6 meses, 1, 2, 3 y 4 años de edad. El procedimiento para tal propósito se efectuó como sigue: Se tomaron fracciones de aproximadamente 60g de las muestras de piña de agave para cada una de las diferentes edades, se desgarraron y dividieron en tres partes iguales de 20g cada uno, se introdujeron en frascos reactores de 70 mL de capacidad y adicionaron 50 mL de agua destilada y se procedió a efectuar la extracción bajo condiciones de agitación orbital (250 rpm), a temperatura de 80 °C durante un periodo de 8 horas. Concluido el tiempo, los extractos se filtraron, secaron y cuantificaron siguiendo el procedimiento antes descrito.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación del efecto del tamaño de los fragmentos de la piña sobre la extracción del polifrufructano a temperatura y tiempo constante (60 °C).

La cromatografía de capa fina realizada a los extractos de los diferentes tamaños de partícula realizados para verificar la presencia de inulina se muestra en la figura 6.

Como se puede apreciar en la placa, la muestra estándar de inulina y las muestras problema (extractos de piña de agave) presentan un barrido desde el punto de aplicación hasta la altura donde eluyeron determinándose que los barridos son semejantes, únicamente con diferencias su intensidad, aumentando en las muestras de menor tamaño de partícula. La inulina es un polímero que se puede encontrar en fragmentos desde 2 hasta 60 monómeros de fructosa, por lo que las bandas que corresponden a cada uno de estos fragmentos tienen un Rf muy cercano al polifrufructano de grado de polimerización siguiente.



Figura 6. Cromatografía de capa fina de extractos de piña de agave de diferentes tamaños de partícula, obtenidos a 60°C y 250 rpm de agitación orbital durante 6h. 1: inulina, 2: extracto de fragmentos agave de 10mm de arista, 3: extracto de fragmentos de agave de 7mm de arista, 4: extractos de fragmentos de agave de 5mm de arista, 5: extracto de agave desfibrado.



En cuanto al volumen del extracto se encontró que a un tamaño de partícula de 10 mm se obtiene un rendimiento de extracto de 9.4% en base húmeda con respecto a la piña. Con la disminución del tamaño de los fragmentos a 7 mm sólo se logró un rendimiento de 10.19 %, el cual representa un incremento de un 8.43 %, sin embargo para tamaños de partícula de 5 mm se obtuvieron rendimientos de 11.62 % lo que representa un aumento del 23.69 % con respecto a los rendimientos generados por tamaños de partícula de 10 mm. Más aun, cuando la piña se sometió a desfibrado se obtuvo un rendimiento de extracción de extracto de 17.55 %, lo que implicó un aumento del 86.73 % con respecto a la muestra de 10mm.

| Tamaño de partícula (mm) | Extracto en Muestra % Promedio | Desviación estándar |
|--------------------------|--------------------------------|---------------------|
| 10 | 9.400 | 0.053 |
| 7 | 10.192 | 0.060 |
| 5 | 11.627 | 0.066 |
| 1-2 (FIBRAS) | 17.553 | 0.031 |

Tabla 6. Rendimientos de obtención de extractos de piña de agave de diferentes tamaños de partícula (g extracto/100g de piña de agave) bajo condiciones de extracción de 6 h, 60°C y 250rpm de agitación orbital.

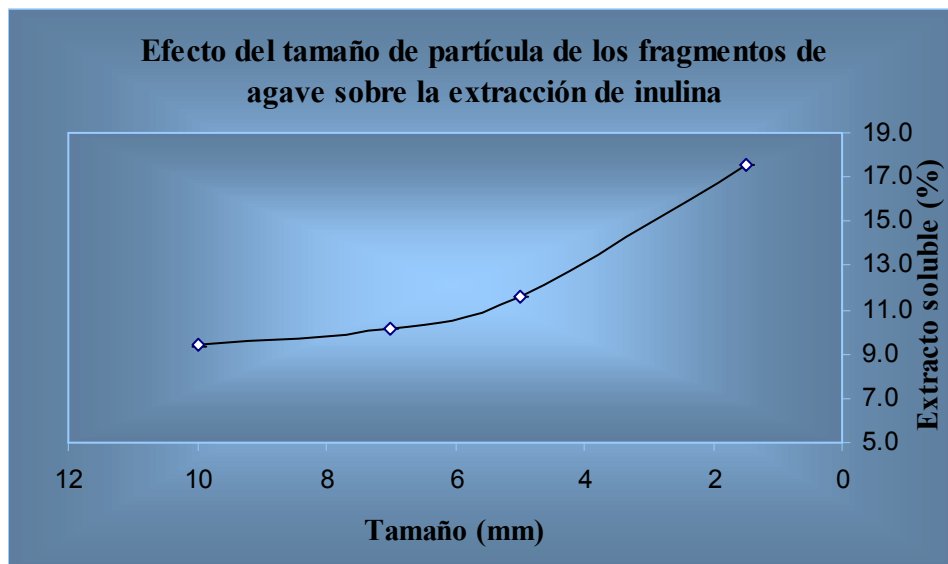


Figura 7. Efecto del tamaño de partícula en la extracción de inulina. Extractos de agave de 4 años de edad obtenidos a temperatura de 60°C durante 6 horas de extracción, los resultados están expresados en base húmeda.

Evaluación del efecto de la temperatura del disolvente sobre la extracción de inulina proveniente de fibras de agave, durante 6 h de extracción

La figura 8 muestra la cromatografía de capa fina realizada a las muestras obtenidas a diferentes temperaturas, en ésta se observa que, la intensidad de los barridos incrementa conforme aumenta la temperatura de extracción, así mismo se observa que para las muestras obtenidas a 80 y 95°C se presenta una mayor intensidad en el punto de aplicación lo que puede indicar que estas contienen una mayor concentración de polímeros de mayor tamaño.



Figura 8. Cromatografía de capa fina de extractos de piña de agave desfibrado, obtenidos a 250 rpm de agitación orbital durante 6h a diferentes temperaturas. 1: inulina, 2: extracción a 25°C, 3: extracción a 40°C, 4: extracción a 60°C, 5: extracción a 80°C, 6: extracción a 95 °C.

Con relación al efecto que tiene la temperatura sobre el volumen de extracción de inulina se encontró que entre temperaturas de 25 y 40°C sólo se presenta un ligero incremento del rendimiento equivalente a un 4.20 %, pero a partir de 40°C el rendimiento es proporcional a la temperatura, hasta llegar a 80°C, en cuyo valor se alcanza un rendimiento del 18.86% de extracto lo que representa un aumento del 26% con respecto al rendimiento generado a 25°C, a temperatura de 95°C se da un incremento de sólo del 0.2% con respecto al rendimiento obtenido a 80°C, lo puede indicar que para se logre tener una buena solubilidad de inulina no es necesario aplicar temperaturas mayores a los 80°C, esto es correcto de acuerdo a estudios que realizaron Kim y colaboradores (2001), quienes reportan que a temperaturas de entre 25°C a 50°C se tiene una solubilidad de hasta 15 % w/v en agua, mientras que a temperaturas superiores a 50 °C la solubilidad de la inulina es directamente proporcional a la temperatura lográndose solubilidades de hasta un 34 % w/v.



| Temperatura de extracción (°c) | Extracto en muestra % promedio | Desviación estándar |
|--------------------------------|--------------------------------|---------------------|
| 25 | 6.963 | 0.055 |
| 40 | 8.255 | 0.058 |
| 60 | 17.577 | 0.049 |
| 80 | 18.868 | 0.051 |
| 95 | 18.920 | 0.033 |

Tabla 7. Rendimientos de obtención de extractos de piña de agave a diferentes temperaturas (g extracto/100g de piña de agave) bajo condiciones de desfibrado, 250rpm de agitación orbital durante 6 h.

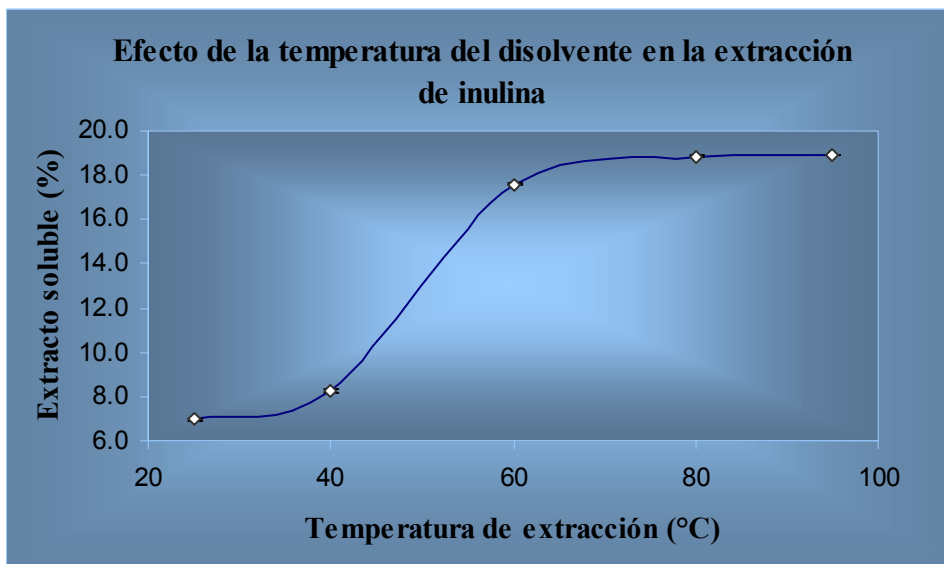


Figura 9. Efecto de la temperatura del disolvente en la extracción de inulina. Extractos de agave de 4 años de edad desfibrado, obtenidos a diferentes temperaturas durante 6 horas de extracción, los resultados están expresados en base húmeda.



Evaluación del efecto del tiempo de extracción en la recuperación de la inulina a partir de piñas de agave desgarradas y a 80°C de temperatura del disolvente

Para el caso de los extractos obtenidos a diferentes tiempos, la cromatografía muestra un incremento proporcional en la intensidad de los barridos siendo superior para el caso del extracto correspondiente a un tiempo de extracción de 14 horas, como se observa en la figura 10.

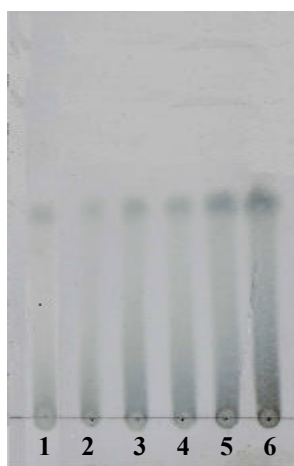


Figura 10. Cromatografía de capa fina de extractos de piña de agave desfibrado, obtenidos a 250 rpm de agitación orbital, 80°C en diferentes tiempos extracción. 1: inulina, 2: extracción durante 2h, 3: extracción durante 4h, 4: extracción durante 6h, 5: extracción durante 8h, 6: extracción durante 14h.

El aumento del tiempo de residencia de los fragmentos de piña en el disolvente tiene un efecto positivo con relación al rendimiento de extracción de inulina, el cual tiene un comportamiento logarítmico, siendo mayor este efecto a partir de 4 horas de extracción dado que a tiempos mayores este punto el rendimiento es directamente proporcional al tiempo de residencia, hasta las 8 horas generándose un incremento en la eficiencia de un 43.6% con respecto al obtenido a 2 horas de extracción, a tiempos por encima de 8 horas el comportamiento cambia dado que a tiempos de 14



horas de extracción el rendimiento de extracción del extracto de inulina fue de 21.6%, representando sólo un aumento en el rendimiento de un 0.7 % con relación al obtenido a las 8 horas, el cual fue de 21.4% de extracto.

| Tiempo de extracción | Extracto en muestra % promedio | Desviación estándar |
|----------------------|--------------------------------|---------------------|
| 2 | 14.963 | 0.031 |
| 4 | 15.593 | 0.070 |
| 6 | 18.863 | 0.058 |
| 8 | 21.437 | 0.082 |
| 14 | 21.600 | 0.036 |

Tabla 8. Rendimientos de obtención de extractos de piña de agave a diferentes tiempos de extracción (g extracto/100g de piña de agave) bajo condiciones de desfibrado, 80°C y 250rpm de agitación orbital.

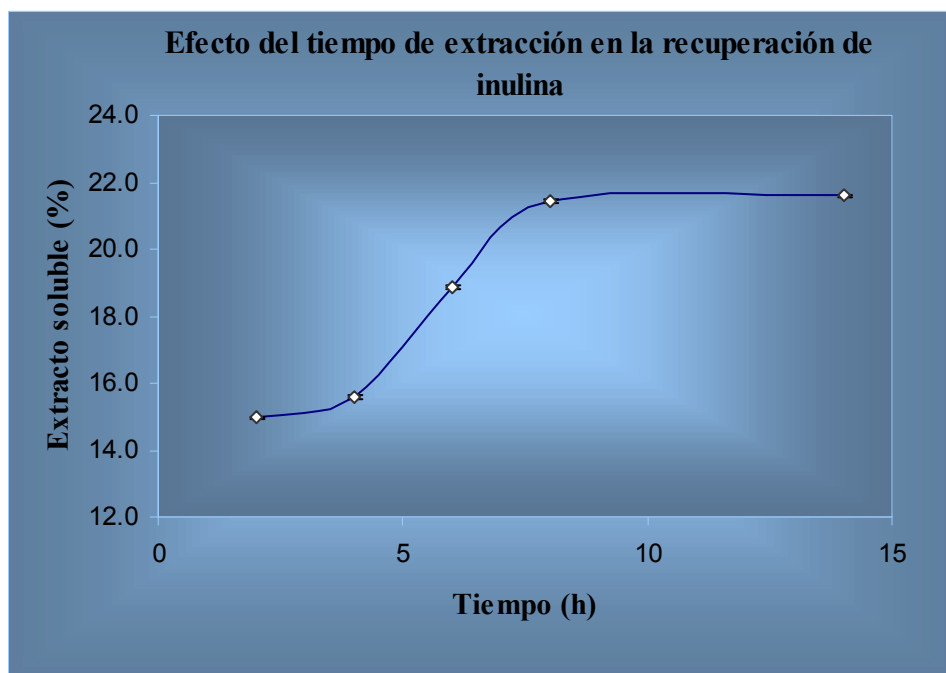


Figura 11. Efecto del tiempo de extracción sobre la recuperación de inulina. Extractos de agave de 4 años de edad desfibrado obtenidos a diferentes tiempos, a temperatura de 80°C, los resultados están expresados en base húmeda.



Evaluación de la relación entre la edad de las plantas de agave y el rendimiento de inulina obtenido bajo condiciones de desfibrado de la piña, durante 8 horas y 80 °C de extracción

La cromatografía de capa fina de los extractos de agave de diferentes edades, presentada en la figura 12, muestra un comportamiento semejante a las anteriormente presentadas, sólo que en esta las muestras de mayor intensidad son las correspondientes a los extractos de los agaves de tres y cuatro años de edad, únicamente presentando una ligera diferencia entre ellas, además de que éstas son más intensas cerca del punto de aplicación, indicando posiblemente una mayor concentración de polifructanos de mayores grados de polimerización.

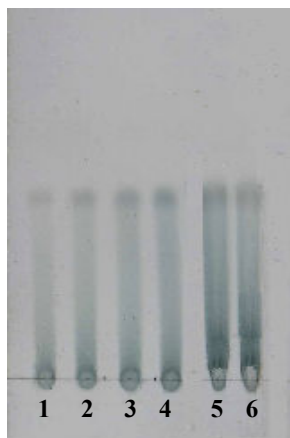


Figura 12. Cromatografía de capa fina de extractos de piña de agave de diferentes edades, sometidos a desfibrado y obtenidos a 250 rpm de agitación orbital, 80°C, durante 8h de extracción. 1: inulina, 2: extracto de agave de 6 meses, 3: extracto de agave de 1 año, 4: extracto de agave de 2 años, 5: extracto de agave de 3 años, 6: extracto de agave de 4 años.

En lo que respecta a la edad de la planta y su relación con el contenido de inulina se encontró que entre las edades de 6 meses y 1 año el contenido de inulina no varía significativamente, esto se puede deber a que los agaves se transplantan después de los seis meses de edad por lo este ligero



incremento sea producto de un periodo de adaptación de la planta, pero a partir del año el aumento en contenido de inulina se presenta de forma casi directamente proporcional obteniéndose valores de rendimientos de extracto de inulina de hasta 21.6% para plantas de 4 años de edad representando un 190.18% más que en el plantas de un año de edad. En la literatura hasta el momento no hay datos que reporten el contenido de inulina en plantas de agave mezcalero pero si se pudieran comparar con los datos reportados por Praznik y colaboradores para *Agave tequilana* Wever, que expresan que una piña proveniente de plantas de 7 a 10 años contiene 25% de inulina, esto significaría que las plantas de agave a los 4 años de edad ya contienen un poco más del 86.4% de inulina, lo que implica que el tiempo requerido para su industrialización se acorte.

| Edad del agave (años) | Extracto en muestra % promedio | Desviación estándar |
|-----------------------|--------------------------------|---------------------|
| 0.5 | 6.553 | 0.040 |
| 1 | 7.449 | 0.067 |
| 2 | 13.775 | 0.074 |
| 3 | 19.077 | 0.041 |
| 4 | 21.615 | 0.046 |

Tabla 9. Rendimientos de obtención de extractos de piña de agave de diferentes edades (g extracto/100g de piña de agave) bajo condiciones de desfibrado, 8h, 80°C y 250rpm de agitación orbital).

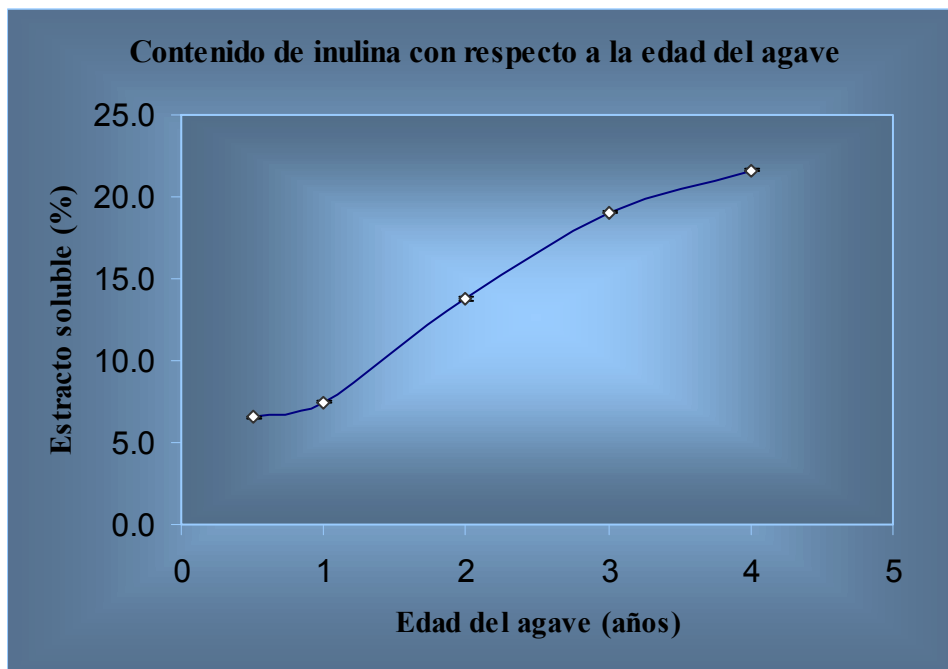


Figura 13. Relación que existe entre la edad de la planta y el contenido de inulina. Extractos de agave de diferentes edades desfibrados obtenidos a temperatura de 80°C durante 8 h de extracción. Los resultados se expresan en base húmeda.



CONCLUSIONES

- ✓ La extracción de inulina en medio acuoso es eficiente si la piña de agave es sometida a desfibrado.
- ✓ Temperaturas de entre 80 a 95°C generan mejores rendimientos de extracción de inulina, obteniéndose 18.9% de extracto de inulina.
- ✓ Un tiempo de extracción de 8h es suficiente para una recuperación de 21.6% del polifrufructano.
- ✓ Las plantas de agave de 4 años de edad alcanzan un contenido de 21.6% de extracto rico en inulina, aceptable para ser procesadas.

Se estableció el proceso para una extracción eficiente de inulina. Se considera que la planta de agave debe tener 4 años de edad y el procedimiento debe realizarse en medio acuoso a 80°C, durante 8h, bajo agitación orbital de 250rpm



BIBLIOGRAFÍA

Absolonne, J., Jossart, M., Coussement, P., and Roberfroid, M. 1995. Digestive acceptability of oligofructose. *Proc. Ist Orafiti Research Conference*, 135-144.

Barnett, J. A., Payne, R.W., and Yarrow, D. 1990. Chapter 6: Summary of specific characteristics. In “Yeasts: Characteristics and Identification”, pp. 49-77. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Bauer, R., and Wagner, H. 1991. Echinacea species as potential immunostimulatory drugs. *Econ. Med. Plant Res.* **5**, 253-321.

Bolyard, J. L. 1981. “Medicinal Plants and Home Remedies of Appalachia.” Charles C. Thomas, Springfield, IL.

Bornet, F., Achour, L., Bouhnik, Y., Riottot, M., Vahedi, K., Salfati, J., Pochart, P., Flourie, B., and Rambaud, J. C. 1997a. Four weeks ingestion of short-chain fructooligosaccharides increase fecal bifidobacteria and cholesterol's excretion in healthy elderly volunteers. *Proc. International Symposium Non-digestible Oligosaccharides: Healthy Food for the Colon?*, Wageningen, The Netherlands.

Bornet, F., Bouhnik, Y., Vahedi, K., Achour, L., Salfati, J., Marteau, P., Flourie, B., and Rambaud J. C. 1997b. Short-chain fructooligosaccharides administration increases faecal bifidobacteria in healthy humans with a dose-response relation. *Proc. International Symposium Non-digestible Oligosaccharides: Healthy Food for the Colon?*, Wageningen, The Netherlands.

Bouhnik, Y., Pochart, P., Marteau, P., Arlet, G., Goderel, I., and Rambaud, J. C. 1992. Fecal recovery in humans of viable *Bifidobacterium* sp ingested in fermented milk. *Gastroenterology* **102**, 875-878.

Buddington, R. K., Williams, C. H., Chen, S.-C., and Witherly, S. A. 1996. Dietary supplement of neosugar alters the fecal flora and decreases activities of some reductive enzymes in human subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* **63**, 709-716.

Caius, J. F. 1986. “The Medicinal and Poisonous Plants of India.” Scientific Publishers, Jodhpur, India.

Campbell, J. M., Fahey, G. C., and Wolf, B.W. 1997. Selected indigestible Oligosaccharides affect large bowel mass, cecal and fecal short-chain fatty acids, pH and microflora in rats. *J.Nutr.* **127**, 130-136.



- Carpita, N. C., Kanabus, J., and Housley, T. L.** 1989. Linkage structure of fructans and fructan oligomers from *Triticum aestivum* and *Festuca arundinacea* leaves. *J. Plant Physiol.* **134**, 162-168.
- Chaitow, L., and Trenev, N.** 1990. "Probiotics." Thorsons Publishing Group, Northants, UK.
- Coudray, C., Bellanger, C., Castiglia-Delavaud, C., Remesy, C., Vermorel, M., and Rayssiguier, Y.** 1997. Effect of soluble or partly soluble dietary fibers supplementation absorption and balance of calcium, magnesium, iron and zinc in healthy young men. *Eur. J. Clin. Nutr.* **51**, 375-380.
- Claridades agropecuarias.** 2000. Abriendo surcos. Noviembre 1-30. www.infoacerca.gob.mx/claridades
- Coussement, P. A. A.** 1999. Inulin and oligofructose: Safe intakes and legal status. *J. Nutr.* **129**, 1412S-1417S.
- Davidson, M. H., Maki, K. C., Synecki, C., Torri, S. A., and Drennan, K. B.** 1998. Effects of dietary inulin on serum lipids in men and women with hypercholesterolemia. *Nutr. Res.* **18**, 503-517.
- Deguchi, Y., Morishita, T., and Mutai, M.** 1985. Comparative studies on synthesis of water-soluble vitamins among human species of bifidobacteria. *Agric. Biol. Chem.* **49**, 13-19.
- Demigné, C., Morand, C., Levrat, A. M., Besson, C., Moundras, C., and Rémésy, C.** 1995. Effects of propionate on fatty acid and cholesterol synthesis and on acetate metabolism in isolated rat hepatocytes. *Br. J. Nutr.* **74**, 209-219.
- Fiordaliso, M. F., Kok, N., Desager, J.-P., Goethals, F., Deboyser, D., Roberfroid, M., and Delzenne, N.** 1995. Dietary oligofructose lowers triglycerides, phospholipids and cholesterol in serum and very low density lipoproteins of rats. *Lipids* **30**, 163-167.
- Fishbein, L., Kaplan, M., and Gough, M.** 1988. Fructooligosaccharides: a review. *Vet. Hum. Toxicol.* **30**(2), 104-107.
- Foster, S., and Duke, J.** 1990. "A Field Guide to Medicinal Plants." Houghton Mifflin, Co., Boston, MA.
- French, A. D.** 1989. Chemical and physical properties of fructans. *J. Plant Physiol.* **134**, 125-136.
- Fuller, R.** 1989. Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* **66**, 365-378.
- Fuller, R., and Gibson, G.** 1997. Modification of the intestinal microflora using probiotics and prebiotics. *Scand. J. Gastroenterol.* **32**, Suppl. 222, 28-31.



- García Mendoza Abisal.** 1998. "Con sabor a Maguey". Guía de colección nacional de agaváceas y nolináceas del jardín botánico, del instituto de biología, Universidad Nacional Autónoma de México. México, DF. pág. 4,9, 23,31-32, 35.
- Garleb, K., and Demichele, S. J.** 1995. "Method of treating ulcerative colitis." US patent no. 5,444,054. Assignee: Abbott Laboratories, Abbott Park, Ill., 19 claims, 30 pages.
- Garleb, K., Wolf, B.W., Meulbroek, J. A., and Wheeler, K. B.** 1997. "Inhibition of *C. difficile* infections by indigestible oligosaccharides." US patent no. 5,688,777. Assignee: Abbott Laboratories, Abbott Park, Ill., 5 claims, 12 pages.
- Gibson, G. R.** 1995. The concept of prebiotics as applied to fructooligosaccharides and inulin. Proc. Fifth Seminar on Inulin, Marseille, France.
- Gibson, G. R., and MacFarlane, G. T.** 1994. Intestinal bacteria and disease. In "Human Health: The Contribution of Microorganisms" (S. A.W. Gibson, ed.), pp. 53-62. Springer-Verlag, London, UK.
- Gibson, G. R., and Roberfroid, M. R.** 1995. Dietary modulation of the human colonic microflora: introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.* **125**(6), 1401-1412.
- Gómez Cruz Manuel Ángel, Schwentesius Rindermann Rita, Meraz Alvarado Ma. del Refugio, Lobato García Aurora J., y Gómez Tovar Laura.** 2005. Agricultura, Apicultura y Ganadería Orgánicas de México – 2005. Chapingo, México.
- Gott, B.** 1984. Murnong - a Victorian staple food: some nutritional implications. *Archaeology at ANZAAS.* 111-114.
- Granados S. D.** 1993. Los agaves en México. Tesis Licenciatura Universidad Autónoma de Chapingo, México.
- Greger, J. L.** 1999. Nondigestible carbohydrates and mineral biodisponibilidad. *J. Nutr.* **129**,1434S-1435S.
- Hague, A., Manning, A. M., Hanlon, K. A., Hutschtscha, L. I., Hart, D., and Paraskeva, C.** 1993. Sodium butyrate induces apoptosis in human colonic cell lines in p53-independent pathway: Implications for possible role of dietary fiber in the prevention of large bowel cancer. *Int. J. Cáncer* **55**, 498-505.
- Hartemink, R., and Rombouts, F. M.** 1997. Gas formation from oligosaccharides by the intestinal microflora. Proc. International Symposium Non-digestible Oligosaccharides: Healthy Food for the Colon?, Wageningen, The Netherlands, 57-66.



- Hashimoto, M.** 1985. Utilization of fructooligosaccharides in pig feed. *Yoton no Tomo* (Nukizuri), 41.
- Hill, J. V.** 1988. "The effect of intestinal microflora upon preneoplastic events in the colon." Unpublished master's thesis, University of Toronto, Toronto, Ontario, Canadá.
- Hsu, H.-Y., Chen, Y.-P., Shen, S.-J., Hsu, C.-S., Chen, C.-C., and Chang, H.-C.** 1986. "Oriental Materia Medica." Oriental Healing Arts Institute, Long Beach, CA.
- Illman, R. J., Topping, D., McIntosh, G. H., Trimble, R. R., Storer, G. B., Taylor, M. N., and Cheng, B. Q.** 1988. Hypocholesterolaemic effects of dietary propionate: studies in whole animals and perfused rat liver. *Ann. Nutr. Metab.* **32**, 97-107.
- Jenkins, D.J. A., Kendall, C.W. C., and Vuksan, V.** 1999. Inulin, oligofructose and intestinal function. *J. Nutr.* **129**, 1431S-1433S.
- Kashimura, J., Kimura, M., and Itokawa, Y.** 1996. The effects of osomaltulose, isomalt, and osomaltulose-based oligomers on mineral absorption and retention. *Biol. Trace Elem. Res.* **54**, 349-250
- Kennedy, A.** 1999. Personal communication. Megazyme International, Inc.
- Kim, M., and Shin, H. K.** 1996. The water-soluble extract of chicory reduces glucose uptake from the perfused jejunum in rats. *J. Nutr.* **126**, 2236-2242.
- Kleessen, B., Sykura, B., Zunft, H.-J., and Blaut, M.** 1997. Effects of inulin and lactose on fecal microflora, microbial activity, and bowel habit in elderly constipated persons. *Am. J. Clin. Nutr.* **t5**, 1397-1402.
- Kok, N., Roberfroid, M., and Delzenne, N.** 1996a. Dietary oligofructose modifies the impact of fructose on hepatic triacylglycerol metabolism. *Metab.* **45**, 1547-1550.
- Kok, N., Roberfroid, M., Robert, A., and Delzenne, N.** 1996b. Involvement of lipogenesis in the lower VLDL secretion induced by oligofructose in rats. *Br. J. Nutr.* **76**, 881-890.
- Koo, M., and Rao, A. V.** 1991. Long-term effect of Bifidobacteria and neosugar on precursor lesions of colonic cancer in CF1 mice. *Nutr. Cáncer* **16**, 249-257.
- López, H.W., Courdray, C., Ballanger, J., Younes, H., Demigné, C., and Rémésy C.** 1998. Intestinal fermentation lessens the inhibitory effects of phytic acid on mineral utilization in rats. *J. Nutr.* **128**, 1192-1198.
- Marchetti, G.** 1993a. Chicory (*Cichorium intybus*) and Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) as inulin sources. *L' Industria Saccarifera Italiana* **86**(2), 47-54.



- Marchetti, G.** 1993b. Inulin and fructans. *Industrie Alimentari.* **32**, 945-949.
- McKellar, R. C., Modler, M.W., and Mullin, J.** 1993. Characterization of growth and inulinase production by *Bifidobacteria* spp. on fructooligosaccharides. *Bifid. Micro.* **12**(2), 75-86.
- Meijer, W. J. M., Mathijssen, E.W. J. M., and Borm, J. E. L.** 1993. Crop characteristics and inulin production of Jerusalem artichoke and chicory. In "Inulin and Inulin-containing Crops" (A. Fuchs, ed.), pp. 29-38. Elsevier Science Publishers B. V.
- Modler, H.W., McKellar, R. C., and Yaguchi, M.** 1990. Bifidobacteria and bifidogenic factors-review. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* **23**, 29-41.
- Morton, J.** 1981. "Atlas of Medicinal Plants of Middle America." Charles C. Thomas, Springfield, IL.
- National Institutes of Health (NIH).** 1999. Urinary tract infection in adults. National Kidney and Urologic Diseases Information Clearinghouse, NIH publication, No. 99-2097, Jan.
- Nilsson, U., and Björck, I.** 1988. Availability of cereal fructans and inulin in the rat intestinal tract. *Carbohydrate and Fiber* 1482-1486.
- Nilsson, U., Oste, R., Jagerstan, M., and Birkhed, D.** 1988. Cereal Fructans: In vitro and in vivo studies on availability in rats and humans. *J. Nutr.* **118**, 1325-1330.
- Niness, K. R.** 1999. Inulin and oligofructose: What are they? *J. Nutr.* **129**, 1402S-1406S.
- Nishina, P., and Freeland, R.** 1990. Effects of propionate on lipid biosynthesis in isolated rat hepatocytes. *J. Nutr.* **120**, 668-673.
- Ohta, A., Baba, S., Takizawa, T., and Adachi, T.** 1994a. Effects of fructooligosaccharides on the absorption of magnesium in the magnesium-deficient rat model. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **40**, 171-180.
- Ohta, A., Ohtsuki, M., Baba, S., Takizawa, T., Adachi, T., and Kimura, S.** 1995. Effects of fructooligosaccharides on the absorption of iron, calcium and magnesium in iron-deficient anemic rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **41**, 281-291.
- Oku, T., Tokunaga, T., and Hosoya, N.** 1984. Non-digestibility of a new sweetener, "Neosugar," in the rat. *J. Nutr.* **114**, 1574-1581.
- Paul, S. A.** 1996. Immunoglobulin and fiber-containing composition for human gastrointestinal health. US patent no. 5,531,989. Assignee: Metagenics, Inc., San Clemente, Calif., 40 claims, 18 pages.



- Pollock, C., Winters, A., and Cairns, A.** 1993. Unresolved problems in the enzymology of fructan metabolism. In "Inulin and Inulin-containing Crops" (A. Fuchs, ed.), pp. 167-172. *Elsevier Science Publishers*, London.
- Praznik, W., Cieslik, E., and López, M.G.** 2002. Composition of nutritional components in *Agave tequila* Weber var. Azul. 9th Seminar on Inulin, April 2002, Budapest, Hungary.
- Prosky, L.** 1999. Inulin and oligofructose are part of dietary fiber complex. *JAOAC Int'l*, **82**(2), 223-226.
- Prosky, L., and Hoebregs, H.** 1999. Methods to determine food inulin and oligofructose. *J. Nutr.* **129**, 1418S-1423S.
- Ramírez Jacinta** 1995. "Los magueyes, plantas de infinitos usos". Biodiversitas, Boletín bimestral de la comisión para el conocimiento y uso de la biodiversidad, Año1, Número 3, Octubre, pág. 1-7. www.conabio.gob.mx/biodiversitas
- Ranhotra, G. S., Gelroth, J. A., and Glaser, B. K.** 1993. Usable energy value of selected bulking agents. *J. Food Sci.* **58**, 1176-1178.
- Rawls, R.** 1996. Europe's strong herbal brew. *Chem. Eng. News* (Sept.), 53-60.
- Reddy, B. S.** 1999. Possible mechanisms by which pro- and prebiotics influence colon carcinogenesis and tumor growth. *J. Nutr.* **129**, 1478S-1482S.
- Reddy B. S., Hamid, R., and Rao, C. V.** 1997. Effect of dietary oligofructose and inulin on colonic preneoplastic aberrant crypt foci inhibition. *Carcinogenesis* **18**, 1371-1374.
- Rémésy, C., Behr, S. R., Levrat, M. A., and Demigné, C.** 1992a. Fiber fermentation in the cecum and its physiological consequences. *Nutr. Res.* **12**, 1235-1244.
- Rémésy, C., Demigné, C., and Moran, C.** 1992b. Metabolism and utilization of short-chain fatty acids produced by colonic fermentation. In "Dietary Fiber - A Component of Food Nutritional Function in Health and Disease" (T. F. Schweizer and C. A. Edwards, eds.), pp. 137-150. Springer, London, UK.
- Roberfroid, M., Gibson, G. R., and Delzenne, N.** 1993. The biochemistry of oligofructose, a nondigestible fiber: An approach to calculate its caloric value. *Nutr. Rev.* **51**, 137-146.
- Roberfroid, M. B.** 1993. Dietary fiber, inulin, and oligofructose: a review comparing their physiological effects. *Crit. Rev. Food Sci Nutr.* **33** (2), 103-148.
- Roberfroid, M. B.** 1999. Caloric value of inulin and oligofructose. *J. Nutr.* **129**, 1436S-1437S.



- Roberfroid, M. B., and Delzenne, N.** 1993. Nutritional properties of inulin. Proc. Fourth Seminar on Inulin, Wageningen, The Netherlands, 67-78.
- Roberfroid, M. B., van Loo, J. A. E., and Gibson, G. R.** 1998. The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. *J. Nutr.* **128**, 11-19.
- Roland, N., Nugon-Baudon, L., Plinois, J., and Beaune, P.** 1994. Hepatic and intestinal cytochrome P-450, glutathione-S-transferase and UDP-glucuronosyl transferase are affected by six types of dietary fiber in rats inoculated with human whole fecal flora. *J. Nutr.* **124**, 1581-1587.
- Rowland, I. R.** 1995. Toxicology of the colon: Role of the intestinal microflora. In "Human Colonic Bacteria: Role in Nutrition, Physiology and Pathology" (G. R. Gibson and G. T. MacFarlane, eds), pp. 155-174. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Rumessen, J. J., Bodé, S., Hamberg, O., and Gudmand-Høyer, E.** 1990. Fructans of Jerusalem artichokes: Intestinal transport, absorption, fermentation and influence on blood glucose, insulin and C-peptide response in healthy subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* **52**, 675-681.
- Rumessen, J. J., and Gudmand-Høyer, E.** 1998. Fructans of chicory: intestinal transport and fermentation of different chain lengths and relation to fructose and sorbitol malabsorption. *Am. J. Clin. Nutr.* **68**, 357-364.
- Rumney, C., and Rowland, I. R.** 1995. Non-digestible oligosaccharides - potential anti-cancer agents? *BNF Nutr. Bulln.* Sept. (20), 194-203.
- Sánchez López Alberto.** 1989. Oaxaca, tierra de maguey y mezcal. Instituto Tecnológico de Oaxaca, 1ra edic, Oaxaca Mex. pág. 72-79.
- Saunders, D. R., and Wiggins, H. S.** 1981. Conservation of mannitol, lactulose, and raffinose by the human colon. *Am. J. Phys.* **241**, G397-G402.
- Schaller-Povolny, L., and Smith, D.** 1999. Sensory attributes and storage life of reduced fat ice cream as related to inulin content. *J. Food Sci.* **64**, 555-559.
- Scheppach, W.** 1998. Butyrate and the epithelium of the large intestine. Proc. Profibre Conf.- Functional Properties of Non-digestible Carbohydrates (Guillon et al., eds), Lisbon, Portugal.
- Spiegel, J., Rose, R., Karabell, P., Frankos, V., and Schmitt, D.** 1994. Safety and benefits of fructooligosaccharides as food ingredients. *Food Tech*, **48**(1), 85-89.
- Tamura, Z.** 1983, Nutriology of bifidobacteria. *Bifid. Micro.* **2**(1), 3-16.



- Terry, H., Rupnow, J., Boeckner, L., and Schnepf, M.** 1999. Influence of long-and short-chained inulin on the firmness and syneresis of nonfat yogurt. *IET annual Meeting Thechnical Program Abstracts*, 65B-23, 178.
- Tokunaga, T., Oku, T., and Hosoya, N.** 1986. Influence of chronic intake of new sweetener fructooligosaccharide (Neosugar) on growth and gastrointestinal function of the rat. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **32** (1), 111-121.
- Tomomatsu, H.** 1994, Health effects of oligosaccharides. *Food Thech.* **48**(10), 61-65.
- Tsuji, Y., Yamada, K., Hosoya, N., and Moriuchi, S.** 1986. Digestion and absorption of sugars and sugar substitutes in rat small intestine. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **32**, 93-100.
- Van Loo, J., Coussement, P., de Leenheer, L., Hoebregs, H., and Smits, G.** 1995. On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the western diet. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **35**(6), 525-552.
- Van Loo, J., Cummings, J., delzenne, N. M., Englyst, H., Franck, A., Hopkins, M., Kok, N. Macfarlane, G., Newton, D., Quigley, M., Roberfroid, M., van Vliet, T., and van den Heuvel, E.** 1999. Functional food propieties of non-digestible oligosaccharides: A consensus report from the ENDO project (DGXII AIRII-CT94-1095). *Br. J. Nutr.* **81**, 121-132.
- Wang, X., and Gibson, G. R.** 1993. Effects of the in vitro fermentation of oligofructose and in vivo by bacteria growing in the human large intestine. *J. appl. Bact.* **75**, 373- 380.
- Wolever, T., Spadafora, P., Cunnane, S., and Pencharz, P.** 1995. Propionate inhibits incorporate of colonic [1,2-¹³C]acetate into plasma lipids in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* **61**, 1241-1246.
- Y. Kim, M.N. Faqih, S.S. Wang.** 2001. Factors affecting gel formartion of inulin. *Carbohydrate Polymers.* **46**, 135-145.
- Yamashita, K., kawai, K., and Itakura, J.** 1984. Effects of fructo-oligosaccharides on blood glucose and serum lipids in diabetic subjets. *Nutr. Res.* **4**, 961-966.
- Yazawa, K., and Tamura, Z.** 1982. Search for the selective increase of bifidobacteria. *Bifid. Micro.* **1**, 39.