

Extracción y determinación del contenido de fructanos del tipo inulina del yacón (*Smallanthus sonchifolius*): esquema tecnológico para su producción industrial

Extraction and determination of inulin type fructan from yacón (*Smallanthus sonchifolius*): technological scheme for its industrial production

Dr.C. Reynerio Álvarez-Borroto^{1*}

MSc. Humberto R. González-Gaviláñez¹

Ing. Andrea C. Montenegro-Cepeda¹

¹Facultad de Ingeniería Química. Universidad Central del Ecuador

*Autor para la correspondencia. Correo electrónico: reynerioalvarez2011@gmail.com

RESUMEN

Se determinó el contenido de fructano del tipo inulina del Yacón (*Smallanthus Sonchifolius*), mediante un procedimiento estandarizado por Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento (HPLC). Se empleó un diseño multifactorial 2^3 usando el programa Statgraphics V. 16. Se seleccionaron tres variables independientes a dos niveles-temperatura: 333 K y 353 K; tiempo: 5 y 25 min; y una relación agua-yacón de 3 mL/200 g y 7 mL/200 g. El rendimiento máximo obtenido fue de 18%. Las condiciones óptimas de extracción fueron tiempo: 24 min, temperatura: 352 K, y la relación volumen de agua-masa de yacón fue de: 6,9 mL/200 g. Con el uso del programa SuperPro Designer se diseñó la tecnología de producción industrial mediante un proceso por lote. Se realizó el análisis económico a partir de una planta de 100 kg/día de procesamiento de materia prima y se obtuvo un Valor Actual Neto (VAN) de 200 005, una Tasa Interna

de Retorno (TIR) de 40% y un tiempo de recuperación de la inversión de 19 meses. Los productos de la fermentación en el colon de fructanos del tipo inulina actúan como sustratos y señalizadores de moléculas en la regulación de la respuesta inmune, la homeostasis de la glucosa y el metabolismo de los lípidos, reduciendo los riesgos de hiperglucemia, obesidad y el cáncer colorrectal.

Palabras clave: Yacón (*Smallanthus sonchifolius*); inulina; tecnología; HPLC; extracción.

ABSTRACT

Content of inulin type fructan by mean a standardized procedure and using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) was determined. A multifactorial design 2³ by using Statgraphics V. 16 software was employed. Three independent variables at two levels-temperature: 333 K y 353 K; time: 5 and 25 min, and water yacon ratio of 3 mL/200 g and 7 mL/200 g were selected. The maximum yield was of 18%. The optimal conditions for extracting were, time: 24 min; temperature: 352 K; and water volume-yacon mass ratio was 6,9 mL/200 g. By using SuperPro Designer software the industrial-production technology was designed for a batch process. For a 100 kg per day-processing plant of raw materials an economic analysis was performed, and net present value (NPV) of 200 005, an Internal Rate Return (ITR) of 40%, and a payback period of 19 months were obtained. The fermentation products of inulin type fructan at the colon act as subtracts and signaling of molecules in the regulation of immune response, the glucose homeostasis, and lipid metabolism, reducing the hyperglycemia, obesity, and colorectal cancer risks.

Keywords: Yacon (*Smallanthus sonchifolius*); inulin; technology; HPLC; extraction.

Recibido: 7/07/2018

Aceptado: 15/10/2018

Introducción

La Facultad de Ingeniería Química, de la Universidad Central del Ecuador, estudia diversas especies vegetales para evaluar su contenido de fructano del tipo inulina (ITFs) y de almidón resistente para aplicaciones médicas y para la industria alimentaria. Entre las especies estudiadas se incluyen: el plátano (*Musa paradisiaca*),

la tuna (*Opuntia ficus-indica*)⁽¹⁾ y el ajo (*Allium sativum*).^(2,3) En el presente trabajo se evalúa el contenido de ITFs del yacón (*Smallanthus sonchifolius*) y se propone un esquema tecnológico para su producción industrial.

El objetivo del presente trabajo es la obtención y evaluación del contenido de ITFs del yacón (*Smallanthus Sonchifolius*), cosechada por un productor privado de la Parroquia de Guayllabamba, perteneciente al Cantón Quito, Ecuador y proponer un esquema tecnológico para su producción industrial. Las corridas experimentales a escala de laboratorio se realizaron en correspondencia con un diseño multifactorial 2³, efectuado mediante el uso del programa Statgraphics. A partir de los datos experimentales, se propuso una tecnología de producción de ITFs a partir del yacón, con el uso del simulador SuperPro Designer.

A partir de los años 50 del pasado siglo las enfermedades no trasmisibles (NCDs, por sus siglas en inglés) han superado a las enfermedades infectocontagiosas como causa de morbilidad y muerte. El 68% de los 56 millones de defunciones registradas en 2012, de las cuales el 40% fueron muertes prematuras, se atribuyen a las NCDs. Esta circunstancia ha motivado que la Organización Mundial de la Salud (OMS) desarrolle un Plan de Acción para combatir a las NCDs. De acuerdo con este plan, la meta es alcanzar hasta 2025 la reducción de la NCDs en un 25% y la mortalidad prematura por las cuatro principales enfermedades no transmisibles.⁽⁴⁾

La microbiota del colon constituye la última frontera clínica y unos de los más importantes descubrimientos de la pasada década⁽⁵⁾ que puede ser modulada mediante la suplementación con ITFs. Mucho de los beneficios a la salud que resultan de la intervención con ITFs han sido atribuidos al fortalecimiento de la fermentación sacarolítica y al incremento de la producción de ácidos grasos de cadena corta (SCFAs, por sus siglas en inglés).^(6,7)

La alteración de la microbiota intestinal (disbiosis) se asocia a enfermedades del tracto gastrointestinal,⁽⁶⁾ a desórdenes metabólicos,⁽⁸⁻¹⁰⁾ neurodegenerativas,^(11,12) cardiovasculares⁽¹³⁾ y mentales⁽¹⁴⁾ y el cáncer.^(15,16) La modulación de la microbiota intestinal con ITFs constituye una estrategia barata y asequible de prevención de estas enfermedades de gran incidencia y prevalencia.

Fundamentación Teórica

Los prebióticos: concepto y estructura química

La noción de que algunos nutrientes pueden modificar la microbiota intestinal existe desde hace tiempo, mucho antes de que se definiera el concepto de prebiótico o fibra dietética. En los años 50 la comunidad científica identificó lo que denominó “el factor bífidus” en la leche materna, un componente que enriquece las bifidobacterias del infante.⁽¹⁷⁾ Posteriormente, se demostró que este factor consistía en oligosacáridos y glicanos complejos, algunos de los cuales se detectaron también en la leche materna y en ciertos productos lácteos.

El concepto de prebiótico se introdujo en 1995 por Gibson y Roberfroid,⁽¹⁸⁾ que lo definieron como: “Un ingrediente alimenticio no digerible que beneficiosamente afecta al hospedero mediante la estimulación selectiva del crecimiento y/o actividad de uno o de un número limitado de bacterias en el colon, y de esta manera mejorar la salud del hospedero”.

El concepto de prebiótico fue revisado Gibson Roberfroid⁽¹⁹⁻²¹⁾ y muy recientemente por otros autores.^(22,23) De acuerdo con éstos últimos, un prebiótico es: “un compuesto no digerible que, a través de su metabolización por los microorganismos en el intestino, modula la composición y/o actividad de la microbiota intestinal, confiriendo así un efecto fisiológico beneficioso al hospedero”. Según esta última actualización son prebióticos: la inulina, los fructooligosacáridos (FOS), la leche materna y los galactooligosacáridos (GOS).

El proceso de fermentación de los prebióticos en el colon es fundamental para el mantenimiento y desarrollo de la microbiota y de las células epiteliales. En el colon ocurren fundamentalmente dos tipos de fermentación: la fermentación sacarolítica y la proteolítica. La primera es la más beneficiosa para el organismo, debido a que produce los ácidos grasos de cadena corta (SCFAs): acético, propiónico y butírico, en una proporción molar casi constante 60:25:15. Estos ácidos grasos se generan en el metabolismo del piruvato, producidos por la oxidación de la glucosa a través de la vía glucolítica de Embden-Meyerhof, que es la vía inicial del catabolismo de los carbohidratos.⁽²⁴⁾ La fermentación proteolítica produce, en cambio, derivados nitrogenados como aminas, amonio y compuestos fenólicos, algunos de los cuales son carcinógenos.

Los fructanos: clasificación y estructura química

Los fructanos son carbohidratos naturales de reservas que se encuentran en numerosas plantas, particularmente en la familia de las Compositae. Los fructanos están formados por polímeros de fructosa derivados de la molécula de sacarosa. Los

fructanos poseen diferentes estructuras y longitudes de cadena y una gran variedad de enlaces glucosídicos y de residuos fructosil; son solubles en agua y no son azúcares reductores.

No existe una forma única de clasificar a los fructanos, lo que ha creado cierta confusión.⁽²⁵⁾ Aproximadamente el 15% de las plantas que florecen almacenan fructanos como carbohidrato de reserva. Pero el más estudiado y vendido a nivel mundial es el fructano del tipo inulina (ITF). Inulina (CAS: 9005-80-5)⁽²⁶⁾ es un término genérico que significa un fructano extraído de una planta con agua caliente y que no se ha sometido a ningún tratamiento químico posterior. La inulina es el más simple de los fructanos lineales que contiene residuos de fructosa unidos por el enlace $\beta(2 \rightarrow 1)$. La inulina se encuentra en numerosas plantas como *Cichorium intybus* (15–20%), Jerusalem artichoke (15–20%), *Helianthus tuberosus* (15–20%), *Dahlia variabilis* (15–20%), espárrago, ajo, etc.

La estructura general de los fructanos consiste en una molécula de glucosa unida a múltiples unidades de fructosa, que en las plantas pueden alcanzar hasta 200 unidades de fructosa unidas en una molécula de fructano. Ver figura 1.

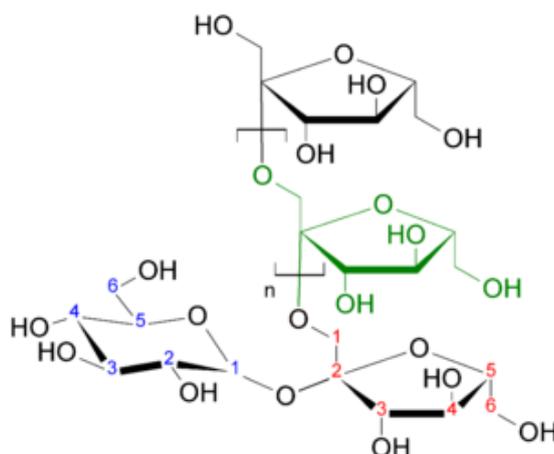


Fig. 1- Estructura química de los ITFs.

Materiales y Métodos

Se realizó un amplio estudio bibliográfico que sirvió para establecer el estado del arte y la línea base de la investigación. Los métodos aplicados en el estudio fueron: análisis y síntesis de proceso, estadística, modelación matemática computarizada, y evaluación económica. Los experimentos se realizaron a escala de laboratorio, lo que permitió la

identificación de los valores óptimos de las variables para la máxima extracción y el diseño de la tecnología, incluyendo el dimensionamiento de los equipos y la evaluación económica.

Los ITFs se obtuvieron por el proceso de extracción sólido-líquido con agua caliente y el auxilio de un equipo de ultrasonido para intensificar la extracción.

Las condiciones óptimas de extracción resultaron ser: temperatura: 352,9 K; tiempo de extracción: 25 min; relación solvente/materia prima: 6,9. En un trabajo anterior⁽²⁾ se trabajó a intervalos de tiempo de 45-60 min y con el uso de la extracción ultrasónica el tiempo se redujo a más de la mitad, lo que demuestra la efectividad de este método en los procesos de extracción.

El agua como solvente reúne las condiciones de selectividad y baja viscosidad para penetrar fácilmente a través de los poros del sólido. En el proceso de extracción, cuanto menor son las partículas mayores es la área interfacial y menores son los poros y, por lo tanto, mayor es la transferencia de masa. Pero si las partículas son muy pequeñas, pueden compactarse y dificultar la extracción.⁽²⁷⁾ En el presente estudio, se usaron partículas con un tamaño promedio de 4 mm, de acuerdo con las recomendaciones de Lingyun.⁽²⁸⁾

La temperatura es una variable fundamental en los procesos de extracción y su incremento aumenta la solubilidad, el coeficiente de transferencia de masa en el material y la extracción. La temperatura máxima en el trabajo se fijó en 80°C en consideración a la evaporación del solvente a temperaturas más elevadas, aunque es posible efectuar experimentos a temperaturas más altas evitando que el agua pueda evaporarse.

El planeamiento experimental del estudio se realizó con el programa Statgraphics Centurion XVI, según el cual la cantidad de ITFs extraída se definió como la variable independiente, en tanto la temperatura, el tiempo de extracción y la relación solvente/materia prima se seleccionó como variables independientes. Se consideraron 2 niveles para las variables independientes.

Como materia prima para la extracción de ITFs se utilizó el yacón (*Smallanthus sonchifolius*), que es una planta herbácea perenne, de la familia de la Asterácea, nativa de las Regiones Andinas de América del Sur.^(30,31) El yacón es nombrado de diversas maneras y se cultiva en Argentina, Brasil, el Ecuador, Italia, Japón, Corea, Estados Unidos y en otros países.⁽³²⁾ El yacón tiene capacidad antioxidante, que varía entre 23-

136 μ mol/g trolox equivalente, base seca y se le atribuyen múltiples efectos beneficiosos a la salud.⁽³³⁾

Procedimiento experimental

Los experimentos se realizaron de acuerdo con el procedimiento experimental descrito en,⁽²⁾ pero adicionando la extracción con ultrasonido para incrementar el rendimiento y disminuir el tiempo de la operación.⁽³⁴⁾

Las corridas experimentales se realizaron de acuerdo el diseño experimental obtenido, cuyos niveles de las variables independientes se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 1- Variables independientes de la operación de extracción de ITFs del yacón (Smallanthus Sonchifolius)

Variables independientes	Niveles	
Temperatura, K	333	353
Relación solvente/materia prima, mL agua/g materia prima	3	7
Tiempo, min	5	25

Para la extracción de los ITFs del yacón a escala de laboratorio se realizaron las siguientes operaciones:

- Extracción sólido-líquido. Consiste en el proceso de extracción con agua caliente del ITF crudo del yacón;
- Filtración. Para la separación de las partículas mecánicas (no solubles) de la solución acuosa;
- Intercambio iónico. La solución filtrada del extracto de ITF se hizo pasar por una columna de resinas aniónicas y catiónicas para despojarla de la presencia de iones.
- Determinación del contenido de ITF. Se utilizó un cromatógrafo marca Alliance e2695, provisto de un detector de índice de refracción IR2414 y una columna de determinación de carbohidrato Shodex Sugar KS-806. El detector operó a la temperatura de 313 K y la columna a 358 K. El flujo de la fase móvil se fijó en 1,0 mL/min.

Se realizaron 3 réplicas para cada experimento y los resultados se promediaron y se muestran en la siguiente tabla. En todos los casos, se fijó la masa de materia prima igual a 50 g.

Tabla 2- Valores promedios a 313 K

t, min	RS/MP	V, mL	E, mL	R, g	MTS, g
--------	-------	-------	-------	------	--------

5	3	150	153	20,110	9,857
5	7	350	351	20,100	5,572
25	7	350	356	20,970	11,456
25	3	150	148	21,220	4,541

Tabla 3- Valores promedios a 353 K

t, min	RS/MP	V, mL	E, mL	R, g	MTS, g
5	3	150	152	20,110	9,857
5	7	350	352	20,100	5,572
25	7	350	152	20,970	11,456
25	3	150	353	21,220	4,541

Abreviaturas:

t, tiempo de extracción; RS/MP, relación solvente/materia prima; V, volumen de agua añadido; E, volumen de extracto; R refinado obtenido; MTS masa de torta seca.

Tabla 4- Valores promedios del contenido de ITF determinado por HPLC

T, K	t, min	RS/MP	Contenido promedio HPLC
313	5	3	11,365
	5	7	11,693
	25	7	12,178
	25	3	18,443
353	25	3	27,691
	5	7	25,357
	5	3	11,873
	25	7	27,455

Análisis estadístico

Para determinar las condiciones para el máximo rendimiento de ITF, se aplicó un análisis de varianza (ANOVA), utilizando el programa Statgraphics V. 16, cuyos resultados se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 5- Resultados de la aplicación del análisis ANOVA

Variable independiente	Valor óptimo
Tiempo de extracción, min	24
Temperatura, K	352
RS/MP	6,9

El diseño tecnológico se realizó con el uso del simulador SuperPro Designer, que se muestra en la siguiente figura.

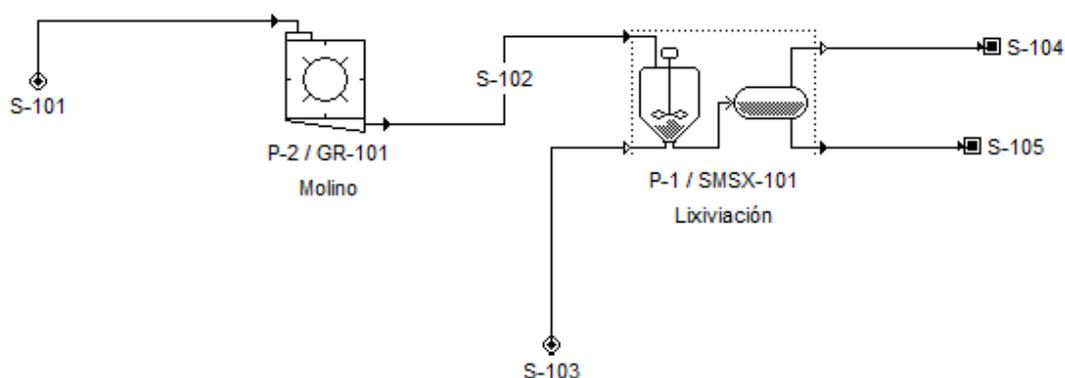


Fig. 2- Esquema tecnológico para la producción industrial de ITF a partir del yacón.

Conclusiones

Los suplementos de ITFs constituyen una estrategia asequible, barata y eficaz para combatir diversas enfermedades metabólicas, cancerígenas y cardiovasculares usados como suplementos o mediante alimentos funcionales. Diversas plantas son fuentes asequibles para la obtención de ITFs.

El yacón (*Smallanthus sonchifolius*) constituye una fuente sostenible para la obtención de ITFs, por su alto contenido y facilidad de su cultivo;

El uso de ultrasonido resulta un medio efectivo para facilitar la extracción de ITFs por su simplicidad, eficacia y bajo costo;

El rendimiento de ITFs del yacón fue del 18% y las condiciones óptimas de extracción son: tiempo de extracción: 24 min; temperatura: 352 K; relación solvente/materia prima: 6,9.

El análisis económico realizado, para una planta de 100 kg de materia prima a procesar por día, muestra un VAN favorable de 200 005, una TIR de 40 %, y un tiempo de recuperación del capital de 19 meses.

Referencias Bibliográficas

1. BENÍTEZ-CORTÉS, Isnel., et al. Perspectivas de la producción de inulina a partir de la tuna (*Opuntia ficus-indica*). *Revista Tecnología Química*. vol. 35 no. 2 mayo-agosto 2015. P. 181-192.
1. ÁLVAREZ-BORROTO, Reynerio., et al. Extracción y determinación de inulina del ajo común autóctono (*Allium sativum*). *Revista Cubana de Química*, vol. 27, núm. 2, mayo-agosto, 2015, p. 131-146.
2. LARA-FIALLOS, Marco., et al. Technological proposal for a garlic-derived inulin extraction process. *Mol2Net*, 2017, 3, doi:10.3390/mol2net-03-04608.
3. Nota Descriptiva. Organización Mundial de la Salud. 2017. Actualización de enero de 2017. doi: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/es/>.
4. MARCHESI JR, et al. The gut microbiota and host health: a new clinical frontier. *Gut* 2015;0. P 1–10. doi:10.1136/gutjnl-2015-309990.
5. DELZENNE N. and Singer P. Editorial. Gut microbiota and nutrition: Where are we now? *Clinical Nutrition Experimental* 6 (2016). P. 1-2. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ycline.2016.04.001>
6. CANI P. D. Gut microbiota-at the intersection of everything? *Gastroenterology & Hepatology* volume 14 june 2017. P. 321/322. DOI: 10.1038/nrgastro.2017.54.
7. BRAHE LK, et al. Can We Prevent Obesity-Related Metabolic Diseases by Dietary Modulation of the Gut Microbiota? *American Society for Nutrition. Adv Nutr* 2016; 7. P 90–101; doi:10.3945/an.115.010587.
8. DELZENNE N. and Singer P. Editorial. Gut microbiota and nutrition: Where are we now? *Clinical Nutrition Experimental* 6 .2016. 1e2.
9. KELLOW, N. J., et al. Effect of dietary prebiotic supplementation on advanced glycation, insulin resistance and inflammatory biomarkers in adults with pre-diabetes: a study protocol for a double-blind placebo-controlled randomised crossover clinical trial. *BMC Endocr Disord*. 2014; vol 14, no 55. Jul 10. doi: 10.1186/1472-6823-14-55.
10. HUME M. P., et al. Prebiotic supplementation improves appetite control in children with overweight and obesity: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* January 26, 2017. P. 790=799. doi: 10.3945/ajcn.116.140947.
11. RUNE I, et al. Modulating the Gut Microbiota Improves Glucose Tolerance, Lipoprotein Profile and Atherosclerotic Plaque Development in ApoE-Deficient Mice. *PLoS ONE*. vol 11 no 1: 0146439. doi:10.1371/journal.pone.0146439.

12. CASTILLO-ÁLVAREZ F., Marzo-Sola M.E. Papel de la microbiota intestinal en el desarrollo de la esclerosis múltiple. *Neurología*. 2015. vol 32, Issue april 2017. P. 175-184. doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.nrl.2015.07.005>.
13. TANG WH, Kitai T, Hazen SL Gut Microbiota in Cardiovascular Health and Disease. *Circ Res*. 2017 Marzo 31; vol 120, no 7. p:1183-1196. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.309715.
14. MOOS W.H., et al. Microbiota and Neurological Disorders: A Gut Feeling. *BioResearch Open Access* Volume 5, no 1, 2016, p. 136-145. DOI: 10.1089/biores.2016.0010) y el cáncer.
15. BEATRICE L. Pool-Zobel. Inulin-type fructans and reduction in colon cancer risk: review of experimental and human data. *British Journal of Nutrition*, 2005, vol 93, Suppl. 1, S73–S90 DOI: 10.1079/BJN20041349.
16. XUAN C, Shamonki JM, Chung A, DiNome ML, Chung M, et al.. 2014. Microbial Dysbiosis Is Associated with Human Breast Cáncer. *PLoS ONE*, vol 9 no 1, e83744;
17. NORRIS RF, Rose SR. Bifidus factor. I. A variant of *Lactobacillus bifidus* requiring a special growth factor. *Arch Biochem Biophys*. 1954; vol 48, p 193–201.
18. GIBSON, G. R., et al., “Dietary modulation of the colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics”, *J. Nutr.*, 1995, vol 125, p 1401-1412.
19. ROBERFROID, M. B., “Prebiotics and synbiotics: concepts and nutritional properties”, *Br. J. Nutr.*, 1998, vol 80, p 197-202.
20. ROBERFROID, M. B., “Functional foods: concepts and application to inulin and oligofructose”, *Br. J. Nutr.*, 2002, 87(2), p 139-143.
21. HUTKINS RW, Krumbeck JA, Bindels LB, et al. 2016. Prebiotics: why definitions matter. *Curr Opin Biotechnol*; vol 37, p 1–7.
22. BINDELS LB, Delzenne NM, Cani PD, et al. Towards a more comprehensive concept for prebiotics. 2015. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*; vol 12, p 303–310.
23. SÁNCHEZ-PASCUALA A, De Lorenzo v, Nikel P. Refactoring the Embden-Meyerhof-Parnas Pathway as a Whole of Portable GlucoBricks for Implantation of Glycolytic Modules in Gram-Negative Bacteria. *ACS Synth Biol*. 2017 May 19;vol 6, no 5, p. 793-805. doi: 10.1021/acssynbio.6b00230.
24. GREG KELLY, ND. Inulin-Type Prebiotics-A Review: Part 1. *Alternative Medicine Review*, vol 13, no 4. 2008, p1-15. <http://www.altmedrev.com/publications/13/4/315.pdf>.
25. IUPAC. Gold Book. Consultada el 31 de octubre de 2017 en: <http://goldbook.iupac.org/html/G/G02645.html>.

26. GEANKOPLIS, CHRISTIE J. Procesos de transporte y Operaciones unitarias. Tercera Edición. Editorial Continental. México, p. 1008.
27. LINGYUN, W. 2007. Studies on the extracting technical conditions of inulin from Jerusalem artichoke tubers. *Journal of Food engineering*, vol 79, p: 6-17.
28. LACHMAN, J.; Fernández, E.C.; Orsák, M. Yacon (Smallanthus sonchifolia (Poepp. et Endl) H. Robinson chemical composition and use-a review. *Plant Soil Environ.* 2003, vol 49, p. 283–290.
29. ZARDINI, E. Ethnobotanical notes of yacon, *Polymnia sonchifolia* (Asteraceae). *Econ Bot.* 1991, vol 45, p. 72–85.
30. OJANSIVUA, I.; Ferreira, C.L.; Salminen, S. Yacon, a new source of prebiotic oligosaccharides with a history of safe use. *Trends Food Sci. Tech.* 2011, 22, p. 40–46.
31. BRUNNO F. R. Caetano, et al. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) as a Food Supplement: Health-Promoting Benefits of Fructooligosaccharides. *Nutrients* 2016, vol 8, no 436; doi: p. 1-13. Doi 10.3390/nu8070436.
32. RUZICA JOVANOVIĆ-MALINOVSKA, et al. Application of ultrasound for enhanced extraction of prebiotic oligosaccharides from selected fruits and vegetables. *Ultrasonics Sonochemistry*, vol 22, 2015, p. 446–453.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.