



Universidad Autónoma del Estado de México

Maestría y Doctorado en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

•Diseño de partículas a base de inulina de *Dalia* (*Dahlia variabilis* Cav.) para la liberación controlada de un extracto de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.)•

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

P R E S E N T A :

Sergio Santana Legorreta



Campus Universitario •El Cerrillo• Toluca, Estado de México.
Junio de 2017.



Universidad Autónoma del Estado de México

Maestría y Doctorado en Ciencias
Agropecuarias y Recursos Naturales

•Diseño de partículas a base de inulina de *Dalia*
(*Dahlia variabilis* Cav.) para la liberación
controlada de un extracto de Jamaica (*Hibiscus*
sabdariffa L.)•

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y
RECURSOS NATURALES

P R E S E N T A :

Sergio Santana Legorreta

COMITÉ TUTORIAL:

Tutor Académico: Dr. Aurelio Domínguez López
Tutor Adjunto: Dr. Edgar Jesús Morales Rosales
Tutor Adjunto: Dr. Antonio Laguna Cerda



Campus Universitario •El Cerrillo• Toluca, Estado de México.
Junio de 2017.

CONTENIDO

| | |
|---|------|
| ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS | iii |
| DEDICATORIAS | v |
| AGRADECIMIENTOS..... | vi |
| RESUMEN | vii |
| ABSTRACT..... | viii |
| I. INTRODUCCIÓN GENERAL | 1 |
| II. REVISIÓN DE LITERATURA | 5 |
| 2.1. Origen de las dalias..... | 5 |
| 2.2. Clasificación taxonómica y morfología del género <i>Dahlia</i> | 8 |
| 2.3. Cultivo de la dalia | 10 |
| 2.3.1. Plagas y enfermedades más comunes en dalia..... | 12 |
| 2.3.2. Usos actuales y potenciales de la dalia..... | 13 |
| 2.4. Aspectos generales sobre la inulina | 15 |
| 2.4.1. Biosíntesis de la inulina..... | 18 |
| 2.4.2. Contenido de inulina en plantas..... | 19 |
| 2.4.3. Alimentos funcionales y prebióticos..... | 21 |
| 2.5. Tecnología de producción de oligosacáridos e inulina | 25 |
| 2.5.1. Usos actuales y potenciales | 28 |
| 2.5.2. Usos en beneficio a la salud..... | 30 |
| 2.5.3. Discrepancias en el uso de nombres para los oligosacaridos | 33 |
| 2.5.4. La òflorò de jamaica y sus compuestos fenòlicos | 34 |

| | |
|---|----|
| 2.5.5. Uso de biopolímeros para portar e incrementar la bioaccesibilidad de los compuestos antioxidantes del extracto de la jamaica | 35 |
| III. JUSTIFICACIÓN..... | 42 |
| IV. OBJETIVOS E HIPÓTESIS..... | 44 |
| 4.1. Objetivos | 44 |
| 4.2. Hipótesis..... | 44 |
| V. MATERIALES Y METODOS..... | 45 |
| 5.1. Condiciones de extracción de inulina de la raíz de dalia | 45 |
| 5.2. Efecto del cultivo de dalias silvestres sobre el contenido de inulina..... | 48 |
| 5.3. Elaboración de micropartículas de inulina dalia y su impregnación con un extracto de jamaica rico en antocianinas. | 50 |
| 5.4. Cinética de liberación de antocianinas impregnadas en la matriz de inulina de dalia..... | 51 |
| VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 53 |
| 6.1. Advertencia | 53 |
| 6.2. Extracción de inulina nativa..... | 53 |
| 6.3. Contenido de inulina de dalias silvestres y cultivadas..... | 56 |
| 6.4. Cinética de liberación de antocianinas impregnadas en la matriz de inulina de dalia..... | 62 |
| VII. CONCLUSIONES | 64 |
| VIII. AGRADECIMIENTOS | 66 |
| XIX. BIBLIOGRAFÍA | 67 |
| ANEXO I | 74 |
| ANEXO II..... | 75 |

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

| | |
|---|----|
| Cuadro 1. Clasificación taxonómica del género Dahlia..... | 8 |
| Cuadro 2. Comparación entre diferentes fructanos..... | 17 |
| Cuadro 3. Contenido de inulina en diferentes vegetales..... | 20 |
| Cuadro 4. Contenido de fructanos en fresco y grado de polimerización de algunas plantas. | 21 |
| Cuadro 5. Nombre y estructura química de los principales oligosacáridos..... | 27 |
| Cuadro 6. Propiedades funcionales de la inulina y sus derivados | 30 |
| Cuadro 7. Análisis de varianza del efecto de la temperatura y el tiempo sobre la extracción de inulina nativa de las raíces de dalia..... | 54 |
| Cuadro 8. Contenido de fructanos (F_m), inulina nativa, glucosa y fructosa en raíces de dalia silvestre y cultivada de diferentes localidades..... | 56 |
| | |
| Figura 1. Nova Plantarum, Animalium et Mineralium Mexicanorum Historia de Francisco Hernández, con la descripción de la dalia..... | 6 |
| Figura 2. Inflorescencias y raíces de dalia..... | 9 |
| Figura 3. Molécula de inulina y monómeros que la conforman..... | 16 |
| Figura 4. Procesos de producción de inulina y algunos de sus derivados (Ref: Niness, 1991).... | 26 |
| Figura 5. Procesos de producción de los principales oligosacáridos (Ref: Yamaguchi et al., 1994). | 28 |
| Figura 6. Diagrama general del proceso de extracción de inulina de las raíces de dalia..... | 46 |
| Figura 7. Efecto de la temperatura y el tiempo sobre la cantidad de inulina nativa extraída de las raíces de dalia..... | 54 |
| Figura 8. Efecto del pH de la solución acuosa sobre la extracción de inulina nativa de raíces de dalia..... | 55 |
| Figura 9. Contenido de inulina nativa y su relación Fructosa/Glucosa en raíces de dalias silvestres (valores promedio $\pm 1 \sigma$, representada por las barras horizontal y vertical)..... | 58 |
| Figura 10. A) Efecto del cultivo sobre el contenido de inulina nativa y su relación Fructosa/Glucosa en raíces de dalias silvestres. B) Contenido relativo de inulina nativa (IN_{Cult} / IN_{Silv}) vs Relación glucosa/fructosa relativa en raíces de dalia (RFG_{Cult} / RFG_{Silv})..... | 61 |

Figura 11. Cinética de liberación de absorbancia de la solución isotónica de la mezcla inulina-extracto de jamaica.....63

DEDICATORIAS

*Dedico esta tesis a mi familia,
especialmente a mi esposa,
que día a día tiene que soportarme,
Te quiero y te doy las gracias
desde el fondo de mi corazón.*

*A ti Ximena Bethzabé
que cada mañana me inyectas
ánimos para seguir adelante.*

¡SI SE PUEDE! ¡í

*Y al Dr. Aurelio,
Que ha sido el impulsor de este
Proyecto desde el principio,
no puedo agradecer
lo suficiente su apoyo,
creatividad y ayuda.*

AGRADECIMIENTOS

*Agradezco primeramente a
Dios que me ha permitido
llegar hasta este punto
de mi vida.*

*A ti que te das la oportunidad
de leer estas líneas.*

*A la Facultad de Ciencias Agrícolas
mi alma mater, por permitirme
obtener un grado más.*

*Al CONACyT quien me apoyo
arduamente la realización de
este proyecto.*

*Por último y no
menos importante
mi total agradecimiento a
Adriana, Aurelio, Edgar y Antonio,
tutores y grandes impulsores
de este proyecto.*

RESUMEN

La dalia (*Dahlia coccinea* Cav.) es una planta que ha sido cultivada y mejorada genéticamente con fines ornamentales; no obstante, su sistema radicular almacena carbohidratos de reserva bajo la forma de inulina y otros fructanos. La inulina forma parte de la fibra dietética de diversos vegetales y es considerada como un compuesto prebiótico. Este polisacárido se extrae principalmente de la achicoria y la alcachofa mediante métodos de separación muy variados, siendo la raíz de la dalia una opción interesante de explotación industrial. El propósito de este estudio fue proponer un método simple de extracción de inulina de la raíz de dalia y evaluar el efecto del cultivo de dalias silvestres sobre su contenido de inulina, fructanos, fructosa y glucosa. Se realizaron colectas de dalia silvestre y se propuso un método de extracción de inulina. Las semillas de los ejemplares recolectados fueron cultivadas y a las raíces obtenidas se les determinó la concentración de fructanos, inulina, fructosa y glucosa y se estimó el grado de polimerización. La relación tiempo-temperatura afecta significativamente la concentración de inulina y fructanos extraídos, siendo la combinación óptima 80° C durante 60 minutos. La influencia del pH resultó no significativa para este mismo propósito. Por otro lado, el cultivo de las dalias silvestres aumenta significativamente el contenido de inulina y fructanos de sus raíces, aunque el grado de polimerización, estimado a partir de la relación fructosa/glucosa, disminuye. La liberación de polifenoles encapsulados en inulina en una solución isotónica sigue una cinética de primer orden con una constante de velocidad (basada en la absorbancia del medio isotónico) de 0.0148 unidades por minuto y una liberación máxima de 0.4166 unidades de absorbancia que se observaron a las 8 horas de permanencia de las partículas en la solución isotónica.

Palabras clave

Dahlia coccinea Cav.; Inulina; Fructanos; Prebióticos; Grado de polimerización.

ABSTRACT

The Dahlia (*Dahlia coccinea* Cav.) is a plant that has been cultivated and genetically improved due to its ornamental importance, but its radicular system accumulates carbohydrates in the form of inulin and other fructans. Inulin is considered as a part of the dietetic fiber from vegetable food sources and it is also considered as a prebiotic compound. Inulin is extracted mainly from chicory and artichoke through different separation methods being Dahlias tubers an interesting option to be exploited. The aim of this study was to propose a simple extraction method of inulin from Dahlias tubers and to evaluate the effect of wild Dahlias growing on their inulin, fructans, fructose and glucose content. Wild Dahlias samples were collected and an inulin extraction method was proposed. The seeds of the collected specimens were planted and fructans, inulin, fructose and glucose from the harvested roots were quantified and the degree of polymerization was estimated. The time-temperature relationship significantly affects the concentration of extracted inulin and fructans, with the optimal combination 80° C for 60 minutes. The influence of pH was not significant for this purpose. Furthermore, growing wild Dahlias increases significantly the content of roots inulin and fructans, although the polymerization degree estimated from the fructose / glucose ratio decreases. The release of inulin encapsulated polyphenols in an isotonic solution follows a first order kinetics with a rate constant (based on the isotonic media absorbance) of 0.0148 units per minute and a maximum release of 0.4166 absorbance units, observed at 8 hours of permanence of the particles in the isotonic solution.

Keywords

Dahlia coccinea Cav.; Inulin; Fructans; Prebiotics; Polymerization degree.

I. INTRODUCCIÓN GENERAL

Bajo el nombre de dalia se designa a un conjunto de especies de plantas herbáceas perennes que pertenecen a la Familia Asteraceae y que son originarias de México y Guatemala (Sorensen, 1970). Todas ellas se agrupan en el Género *Dahlia* Cav. y las especies más comunes son *Dahlia coccinea* Cav., *Dahlia pinnata* Cav. y *Dahlia variabilis* (Wild.) Desf. (Castro-Castro *et al.*, 2012). Hasta el año 2012, en México se habían reconocido 37 especies, por lo que la biodiversidad del género está concentrada en este país, donde las dalias silvestres se desarrollan entre 500 y 3500 m.s.n.m. y la mayoría de ellas (27 especies) se localizan en el centro del territorio mexicano (Castro-Castro *et al.*, 2012).

La dalia es una planta que ha sido, durante mucho tiempo, cultivada y mejorada genéticamente con fines ornamentales ya que produce inflorescencias muy atractivas. De hecho, a partir de 1963 fue considerada la flor nacional de México (Mera-Ovando y Boettler, 2006). Sin embargo, recientemente se le ha puesto atención a su sistema radicular, compuesto de raíces tuberosas, dado que en este órgano se almacenan carbohidratos de reserva bajo la forma de inulina y otros fructanos, tal como ocurre con otras especies de la familia Asteraceae, como el Yacón (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. Endl), la Achicoria (*Cichorium intybus* L.) y la Alcachofa de Jerusalén (*Helianthus tuberosus*) (Bosscher, 2009). De acuerdo con Arenas, *et al.* (2011) una de las especies más comunes, *Dahlia variabilis* Wild (Desf.), puede producir, en condiciones controladas, alrededor de 17 t/Ha de raíz tuberosa, lo que representa aproximadamente 3500 kg de materia seca. Este rendimiento es comparable con el de la achicoria, que oscila entre 20 y 24 t/Ha (Cerný *et al.*, 2008), o con el de la raíz de alcachofa (10-19 t/Ha, según Matías *et al.*, 2013) con la ventaja de que

se puede producir en valles altos y en condiciones de temporal. De acuerdo con Widowati *et al.* (2005), la materia seca de la raíz de dalia contiene 85% de carbohidratos, de los cuales de 52 a 83% son inulina, dependiendo del estado de madurez de la raíz, la especie y otros factores (Stevens *et al.*, 2001)

La inulina es un grupo heterogéneo de polisacáridos que está compuesto principalmente de monómeros de fructosil-fructosa, comúnmente conocidos como fructanos, ligados mediante enlaces $(2 \rightarrow 1)$ (cuya abreviatura común es Fm), con una unidad de glucopiranososa reductora en el extremo de cada molécula (cuya abreviatura es GFn). En algunos casos, como en la dalia o la achicoria, se presentan ramificaciones a través de enlaces $(2 \rightarrow 6)$ (1-2% y 4-5% en una y otra, respectivamente) (Stevens *et al.*, 2001). Así, la inulina puede ser representada como GFn y Fm a la vez, lo que significa que es una mezcla de oligómeros y polímeros. En la inulina de achicoria, n, el número de unidades de fructosa ligadas a una terminal de glucosa, varía de 10 a 14 y en la de dalia es de alrededor de 20 (Bosscher, 2009).

La inulina nativa, tal como se extrae de raíces frescas, presenta en promedio un grado de polimerización (GP) de 10, aunque dependiendo de la especie vegetal, de las condiciones climáticas en las que ésta se desarrolla y de su edad fisiológica, varía de 2 a 70. Además, la longitud de la cadena puede ser reducida por medio de enzimas endoinulinasas para dar GP entre 2 y 8, con un promedio de 4. El producto resultante es comúnmente llamado ñoligofructosaö y se trata de una mezcla de fragmentos de GFn, como la sacarosa y Fm, es decir cadenas de fructosa (Stevens *et al.*, 2001).

La inulina es importante porque forma parte de la fibra dietética de diversos alimentos de origen vegetal y es considerada como un compuesto prebiótico, es decir como un ingrediente o grupo de compuestos no digeribles que afecta benéficamente la salud del consumidor estimulando selectivamente el desarrollo y la actividad de un número determinado de especies bacterianas del colon, particularmente lactobacilos y bifidobacterias. Esta cualidad fue demostrada por Gibson y Roberfroid (1995) y Gibson *et al.* (1995), entre otros y, más recientemente en estudios In vitro, por López-Molina *et al.* (2005) y Huebner *et al.* (2007), entre otros. Como consecuencia de estas propiedades, a la inulina se le ha asociado con el mejoramiento de la actividad del tracto gastrointestinal y del sistema inmunitario, con el incremento de la absorción de calcio y magnesio y con la disminución de los niveles de colesterol y lípidos séricos. Una descripción detallada de estos beneficios ha sido reportada por Bosscher en 2009. De acuerdo con Ananón *et al.* (2009), la raíz de dalia deshidratada y pulverizada se ha empleado tradicionalmente con estos fines; además, forma parte de la gastronomía y la medicina herbolaria de México y, según Zubaidah y Akhadiana (2013), la inulina obtenida específicamente de este grupo de especies vegetales ha sido clasificada por la Food and Drug Administration de los Estados Unidos como un ingrediente natural generalmente reconocido como seguro (GRAS, por sus siglas en inglés). Es por esta razón que resulta atractivo promover la producción de inulina y optimizar su extracción y purificación mediante metodologías seguras para su uso en alimentos.

Los métodos utilizados para la separación de la inulina a partir del material vegetal son variados y se han ensayado principalmente en la achicoria y en la alcachofa. Incluyen, entre otras, una etapa de trituración del material, difusión en un medio acuoso, insolubilización y precipitación con etanol o mediante bajas temperaturas, centrifugación y deshidratación por atomización u otros medios.

La temperatura, el pH, los tiempos de extracción y los tipos de solventes son factores que se han hecho variar a fin de maximizar la cantidad extraída por unidad de material (Leite Toneli *et al.*, 2007). Por ejemplo, Lingyun *et al.* (2007) emplearon diversas combinaciones de pH, tiempo, temperatura y relación sólidos-solvente y agitación mediante ultrasonido para optimizar la extracción de inulina a partir de raíces tuberosas de alcachofa, encontrando que al pH natural, a una temperatura de 76.7 °C, durante 20 min, con una relación de solvente-sólidos 10.56:1 (v/w) y agitación mediante ultrasonido, se extrae más del 83% de inulina de raíces de esta especie.

Tanto el método empleado como la cantidad máxima extraíble, así como la concentración total y las propiedades de la inulina obtenida dependen de la especie o variedad vegetal y de su estado fisiológico, de la edad de las raíces y del modo en que fueron cultivadas (Stevens *et al.*, 2001). En el caso de la dalia, los estudios relacionados con estos aspectos son sumamente escasos y su divulgación ha sido muy limitada. Arenas *et al.* (2011) evaluaron cuatro niveles de fósforo y cuatro densidades de plantación con el fin de alcanzar la mayor cantidad de materia seca en la raíz (345 g/m²), lo cual está directamente relacionado con la cantidad de inulina. Dado lo anterior, el propósito del presente trabajo fue proponer un método simple de extracción de inulinas de la raíz de dalia y evaluar el efecto del cultivo controlado de dalias silvestres sobre su contenido de inulina, fructanos, fructosa y glucosa.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Origen de las dalias

La dalia es nativa de Mesoamérica y endémica de los valles altos de naturaleza arcillo-silíceas de México, el cual da cobijo a 31 especies del género *Dahlia* (Saar *et al.*, 2003), por lo que la biodiversidad del género está concentrada en nuestro territorio. Todas las variedades y cultivares de dalias provienen de una especie conocida como *Dahlia pinnata* Cav. [*Dahlia rosea* Cav. (*Dahlia variabilis* (Willd.) Desf.)] (Everett, 1981; Rincón, 1989).

La belleza de las flores de la dalia ha maravillado al mundo entero por su diversidad en formas y colores. El cultivo de esta flor se remonta a la época de esplendor del imperio Azteca cuando su belleza cautivó tanto a los gobernantes mexicas, que iniciaron los procesos de domesticación de la planta, modificando la inflorescencia (Treviño *et al.*, 2007). En la Mesoamérica prehispánica, las dalias silvestres eran conocidas comúnmente con el nombre de "acocoxóchitl", "acocotli", o "cohuanepili" (tallos huecos con agua), entre otros nombres autóctonos otorgados por los indígenas de México, fue una planta muy arraigada a nuestra cultura y tradiciones (Treviño *et al.*, 2007).

En el trabajo de Francisco Hernández conocido como *õNova Plantarum, Animalium et Mineralium Mexicanorum Historiaö*, la planta ilustrada recibe el nombre azteca de Acocoxóchitlö (Figura 1). Su dibujo muestra claramente una ñflor doble, con forma de pelotaö considerada una dalia de jardín. Lo anterior permite suponer que las dalias mexicanas fueron plantas muy importantes entre los aztecas, por lo que su domesticación se produjo mucho antes de la llegada de los españoles.



Portada

Descripción de la dalia

Figura 1. *Nova Plantarum, Animalium et Mineralium Mexicanorum Historia* de Francisco Hernández, con la descripción de la dalia.

(Ref: Biblioteca digital mundial. www.wdl.org).

Esta planta fue introducida en Europa por los españoles a finales del siglo XVIII con la esperanza de utilizar sus raíces carnosas con fines alimentarios, como lo hacían los aztecas. En 1789, Antonio José Cavanilles y Palop, quien fungía como profesor y director del Jardín Botánico Real de Madrid recibió y cultivó las semillas; con las plantas que crecieron elaboró las primeras descripciones botánicas de algunas de ellas, incluyendo el género *Dahlia*, en honor a Andreas Dahl, botánico sueco discípulo de Linneo. Así fue como se publicó *Dahlia pinnata* como la primera especie del género en un volumen de sus *Icones et Descriptions Plantarum* (Cavanilles, 1796).

Lawrence, (1970) demostró que *D. pinnata* es la primera especie descrita por la ciencia, la cual fue producida mediante la hibridación y domesticación de dos especies mexicanas: *D. sorensenii* que

se encuentra restringida al centro de México y *D. coccinea* Cav. que crece a lo largo de las montañas y valles de toda la república mexicana (Hansen y Hjerting, 2000)

El interés por cultivar dalias en Europa fue en aumento, y para 1817 ya se habían desarrollado más de 75 variedades de dalias cultivadas en los jardines de Leipzig, Alemania. En 1841 un comerciante inglés obtuvo más de 1,200 formas hortícolas y actualmente se considera que hay más de 15,000 formas con diferentes nombres que se publican en los catálogos de plantas de ornato.

Las dalias han sido más apreciadas en otros países que en México. Su importancia se confirma por los más de 450 cultivares disponibles en el comercio hortícola internacional y por la existencia de sociedades dedicadas al cultivo y producción de *Dahlia* por todo el mundo. La primera fue la Sociedad Nacional de la Dalia constituida en Gran Bretaña en el año de 1881 (Treviño *et al.*, 2007).

El 13 de mayo de 1963, en el Diario Oficial de la Nación, el presidente Adolfo López Mateos expidió un decreto por el cual declaró a la dalia como símbolo de la Floricultura Nacional, con las siguientes consideraciones:

- Que la República Mexicana posee una gran diversidad de flores nativas de especial valor estético, ornamental y económico, entre las que se encuentra la flor de dalia.
- Que las flores mexicanas, por sus características peculiares, han merecido distinción tanto en el país como en el extranjero, y entre ellas particularmente la flor de la dalia.
- Que la admiración a dicha flor, motivó a que una de las especies fuera distinguida con el nombre de *Dahlia juarezii*, en honor del Benemérito de las Américas, Don Benito Juárez (Treviño *et al.*, 2007).

2.2. Clasificación taxonómica y morfología del género *Dahlia*

La dalia pertenece a la familia botánica Asteraceae (Compositae) y forma parte de la tribu Heliantheae, las dos principales especies son *D. pinnata* Cav. y *D. coccinea* Cav. (Cuadro 1). *Dahlia pinnata* Cav. es una planta perenne de más de un metro de altura, con tallos rojizos o púrpura; las hojas son opuestas, simples o pinnadas, con folíolos ovados o elípticos, acuminados, aserrados o dentados, pubescentes o estriados en los nervios (Treviño *et al.*, 2007).

Cuadro 1. Clasificación taxonómica del género *Dahlia*.

| | |
|-------------|-------------------------|
| Reino: | Plantae |
| Subreino: | Tracheobionta |
| División: | Magnoliophyta |
| Clase: | Magnoliopsida |
| Subclase: | Asteridae |
| Orden: | Asterales |
| Familia: | Asteraceae |
| Subfamilia: | Asteroideae |
| Tribu: | Heliantheae |
| Género: | <i>Dahlia</i> Cav. 1791 |

(Ref: Treviño *et al.* 2007).

La mayoría de las dalias son plantas herbáceas o arbustivas, a veces epífitas o trepadoras. Con raíces carnosas llamados impropriamente tubérculos (Figura 2). Los tallos son huecos o compactos, poseen unas hojas de forma triangular, de margen denticulado y una nerviación unifoliada. El color del follaje es verde pálido, careciendo de un brillo especial (Treviño *et al.*, 2007). Esta es una planta que podemos encontrar con diferentes tamaños, desde plantas con una altura de 30 cm hasta plantas de más de 1,2 m. Es una planta que desarrolla una ramificación desordenada, solamente dirigida por los rayos solares, pero forma una mata densa, con un gran número de hojas (Treviño *et al.*, 2007). Las cabezuelas son radiadas teniendo un diámetro de hasta 15 cm, son erectas o inclinadas,

con flores liguladas muy variables. Las flores son de disco y en ocasiones son sustituidas por flores liguladas fértiles o estériles, el fruto que presenta esta planta es seco, de una sola semilla e indehiscente llamado ñaquenio generalmente de forma oblanceolada (Treviño *et al.*, 2007).



Figura 2. Inflorescencias y raíces de dalia.

(Ref: elaboración propia).

Las especies de dalias silvestres se distribuyen en cuatro secciones taxonómicas de acuerdo a su hábito de crecimiento:

- Sección *Pseudodendro*: plantas arbustivas, con la base del tallo leñoso, pínulas opuestas esta sección contiene cinco especies.
- Sección *Epiphytum*: es una planta trepadora, esta sección contiene una sola especie.
- Sección *Entemophyllon*: plantas herbáceas o sub-arbustivas donde se incluyen siete especies.
- Sección *Dahlia*: plantas herbáceas con pínulas opuestas; contiene 23 especies, incluyendo a *D. Pinnata*.

2.3. Cultivo de la dalia

Del género *Dahlia*, endémico en México, actualmente se ha registrado 35 especies (Saar *et al.*, 2003; Mejía, 2003); la dalia cultivada más conocida es *Dahlia pinnata* Cav. mientras que cuatro especies han dominado la horticultura ornamental: *D. coccinea* Cav., *D. pinnata* Cav., *D. merckii* Lehm. y *D. imperialis* Roetzl ex Ortgies (SINAREFI, 2014).

La dalia es una planta rústica en cuanto a suelos, aunque prefiere los suelos francos, con un perfecto drenaje y con un pH comprendido entre 6 y 8; y que posea además un elevado contenido de materia orgánica y nutrientes. Prefiere temperaturas que oscilen entre 18 y 23°C y una humedad relativa del 75 al 78%.

Las dalias se cultivan en zonas soleadas, aunque también las podemos encontrar en semisombra, estas plantas responden al fotoperiodo, ya que desarrollan flores liguladas (impropiamente llamadas pétalos) en presencia de fotoperiodos largos, mientras que en presencia de fotoperiodos cortos desarrollan raíces tuberosas (Martíñon, 1998).

Una de las prácticas de manejo agronómico que determina la capacidad del cultivo de interceptar recursos es la densidad de plantación. Esta práctica puede llegar a afectar de manera importante la captura y utilización de radiación, agua y nutrientes minerales (Satorre, 1999). El tamaño de la raíz se ve sensiblemente afectado por la densidad de población en *Dahlia variabilis*. La densidad óptima en este cultivo puede variar de acuerdo a la radiación incidente, la cual depende de la latitud y la época del año (Grasso, 2004).

La propagación (sexual o asexual) de plantas es una forma de perpetuar individuos de una especie y ha sido la base del desarrollo de los pueblos mediante las prácticas agrícolas en la producción de alimentos (Mejia *et al.*, 2007). En cuanto a dalia se refiere principalmente se utilizan cinco tipos de propagación:

- Semilla: la mayoría de las especies producen semillas, principalmente aquellas que forman capítulos sencillos, se emplea para la obtención de nuevos cultivares después de la hibridación. Resulta difícil y es un sistema usado solamente por los floricultores que se dedican a la obtención de nuevas variedades.
- Esquejes: implica la propagación por brotes tiernos provenientes de raíces tuberosas, de las cuales se debe garantizar una brotación vigorosa y uniforme. Se sacan los esquejes de 5 a 10 cm del tubérculo madre con una navaja desinfectada. El enraizamiento tiene lugar en dos o tres semanas y se puede llegar a obtener de 20-60 esquejes por tubérculo en 2 ó 3 meses.
- Raíces tuberosas: la multiplicación por división de los tubérculos, es la más simple y fácil de practicar, consiste en la separación de raíces tuberosas que portan pequeñas partes de tallo con yemas o brotes visibles. Lo que nos da de una sola planta varias plantas idénticas, la separación o división de las raíces tuberosas se hace con una navaja o con tijeras de podar, tratando de lastimar lo menos posible a la raíz.
- Estacas: este método de propagación solo se puede aplicar en aquellas especies que presentan un crecimiento arbustivo y corresponden a las especies de la sección Pseudodendron las cuales son *D. imperialis*, *D. exelsa*, *D. tenuicaulis*, *D. appiculata* y *D. campanulata*. La propagación se realiza en enero después que la planta dejo de florecer, la estaca deberá de tener de 30 a 50 cm de longitud con al menos dos nudos.
- Cultivo *in vitro*: se efectúa principalmente a partir de meristemos apicales los cuales se cultivan en un medio previamente preparado para su posterior incubación y obtención de plantas. (Mejia *et al.*, 2007).

2.3.1. Plagas y enfermedades más comunes en dalia

Las plantas de dalia son susceptibles a diversos organismos patógenos, y entre ellos, los hongos son los que ocasionan mayores daños, desde la etapa de propagación y crecimiento hasta la floración (Farr *et al.*, 1989; Logan *et al.*, 1988).

Pulgones (*Myzus persicae*) ninfas y los adultos chupan la savia, causando un daño que puede ir desde el amarillamiento de las hojas y debilitamiento, hasta la muerte de las plantas. Más importante que el daño directo por succionamiento de la savia se presenta el daño indirecto, invisible en el momento de la infección, por transmisión de virus.

Carbón blanco (*Entyloma dahliae*) Esta enfermedad provoca manchas circulares sobre las hojas (hasta 1 cm de diámetro), redondas, elípticas o angulares en los híbridos de dalia.

Marchitez (*Fusarium spp.*) La planta afectada por esta enfermedad no se desarrolla, pierde calidad y muere, los síntomas comienzan por un cambio de coloración de las hojas más viejas. Los tejidos internos se tornan de color café rojizo, daño que se extiende hacia la parte superior de la planta. Esta enfermedad se disemina rápidamente en el invernadero por los movimientos de suelo, plantas, esquejes, tubérculos, agua de riego y rastrojos de plantas enfermas.

Bacteriosis (*Erwinia chrysanthemi*) es la bacteria más peligrosa y produce podredumbre de los tubérculos. Puede conducir en los cultivares sensibles hasta un 80% de pérdidas durante el período de multiplicación en invernadero.

Virus del mosaico del pepino ó Cucumber Mosaic Cucumovirus (CMV) Numerosos cultivos florales muestran espectaculares síntomas cuando son infectados por CMV, pues este virus está distribuido a nivel mundial y cuenta con numerosos áfidos vectores que le hacen ser el más polífago de los fitovirus. En el caso de la dalia provoca un mosaico internervial.

Virus del mosaico de la dalia o Dahlia Mosaic caulimovirus (DMV) Los síntomas que produce este virus varía en función de los cultivares y el periodo considerado. Se pueden observar modificaciones en la pigmentación a nivel de las nerviaciones, aclaramientos de color amarillo brillante y marcas de color verde oscuro en las nerviaciones. Las hojas se desarrollan de forma irregular y asimétrica y se retuercen. También puede reducirse el crecimiento de los entrenudos, dando a la planta un aspecto enano. Este virus es transmitido por pulgones.

2.3.2. Usos actuales y potenciales de la dalia

Desde tiempos precolombinos, ya que poseía una gran cantidad de usos: ornamental, alimenticia, medicinal, ceremonial y ahora se sabe que también tiene propiedades forrajeras. (Treviño *et al.*, 2007).

Los nativos mexicanos utilizaban esta planta como un remedio contra la tos crónica, como tónico diurético, diaforético (para sudar las fiebres) y contra los cólicos (Hernández, 1946). En la actualidad los indígenas mixtecos de Oaxaca siguen consumiendo los tubérculos frescos de dalias para obtener carbohidratos (Reyes *et al.*, 2004).

En el código Badiano aparece una planta denominada òCohuanenepilliö (De la Cruz y Badiano, 1964), aun cuando la ilustración es muy estilizada, se logra visualizar una òflor sencillaö que el mismo Sorensen (1969) considera *D. coccinea*.

La dalia constituye una flor de resistencia media, utilizada fundamentalmente en arreglos florales de mediana calidad donde la más demandada es la dalia cactus, seguida de la liliputiense; pues tienen una buena conservación en florero sin embargo, la demanda de dalias (tipos: decorativo informal, redondo y semi-cactus) se ha incrementado. En la actualidad las dalias enanas son las más demandadas para la decoración de jardines (Saturno, 1990).

En particular resulta relevante la presencia de la dalia en el mundo desde mediados del siglo XVIII, en un inicio por el interés alimenticio de sus raíces tuberosas, que fueron consumidas de la misma manera que la papa, y luego por su vistosidad, abundancia de sus flores y diversidad de formas y colores. Actualmente es considerada una planta para flor de corte, de maceta y para jardín (Garzón *et al.*, 2008).

En México, la *D. variabilis* se produce con fines ornamentales para abastecer el mercado nacional e internacional. Esta especie, nos ofrece una alternativa diferente para su explotación, ya que su sistema radical almacena una cantidad significativa de inulina (polisacárido de fructosa). Este compuesto se encuentra en la categoría de alimentos no digestibles, por lo que no son asimilados, no proporcionan calorías, y por lo tanto, no incrementan el peso corporal, ni elevan los niveles de glucosa sanguínea en el ser humano (Laguna y Archundia, 2004).

Las raíces tuberosas de *D. variabilis* contienen entre 38 y 53% de inulina del total de su peso seco, constituyendo una alternativa para la producción de este polisacárido. Sin embargo, no se cuenta con información orientada hacia aspectos agronómicos y fisiológicos en la producción de raíces tuberosas de esta especie (Laguna y Archundia, 2004). Es capaz de rendir hasta 2.5 toneladas de masa total por hectárea en comparación con la alcachofa que produce 0.9 toneladas por hectárea. Esta planta puede ser capaz de acumular hasta un 80% de su masa seca en forma de fructanos.

2.4. Aspectos generales sobre la inulina

La inulina es un carbohidrato de reserva energética presente en más de 36.000 especies de plantas (Flickinger, 2003), aislada por primera vez en 1804, a partir de la especie *Inula helenium*, por el científico alemán Valentine Rose. En 1818, Thomson, un científico británico, le dio el nombre actual de inulina (Franck, 2006).

El fisiólogo de plantas Julius Sachs, fue el pionero en la investigación de los fructanos, logró en 1864 detectar con un microscopio, los cristales de inulina en los tubérculos de *D. pinnata* y *H. tuberosus* después de una precipitación con etanol (Franck y De Leenheer, 2005).

La inulina es un polisacárido de almacenamiento perteneciente a la familia de los fructanos que se encuentra presente en muchas plantas, vegetales, frutas, cereales y hongos, por tanto forma parte de nuestra dieta diaria y cuenta con una gran variedad de aplicaciones alimentarias y farmacéuticas.

La inulina extraída de plantas por lo general contiene hasta un 10% de mono y disacáridos (principalmente sacarosa y fructosa), y una serie de oligosacáridos, donde se incluyen los fructooligosacáridos (FOS), con un grado de polimerización (GP) de 10 o menos unidades de

fructosa, y que constituyen un 30% del total (Niness 1999). Esta, se encuentra constituida por una cadena de moléculas de fructosa unidas por enlaces $(2 \rightarrow 1)$, terminados por una molécula de glucosa tal como se muestra en la fig. 1 (Flamm *et al.*, 2001), GF(n) es la fórmula de la estructura química general para identificar a un fructano, donde G = glucosa, F = fructosa y n = grado de polimerización de la cadena la cual puede ser tan corta como 2 o tan larga como 60 (Frank, 2002).

Los enlaces del tipo $(2 \rightarrow 1)$ son los responsables de que la inulina no sean digerible como lo sería cualquier carbohidrato típico, lo que a su vez tiene como consecuencia que tengan un bajo valor calórico y una función nutricional como fibra dietética (Niness, 1999). Dependiendo de su origen (vegetal o microbiano), los fructanos o inulina pueden ser lineales, ramificados o cíclicos.

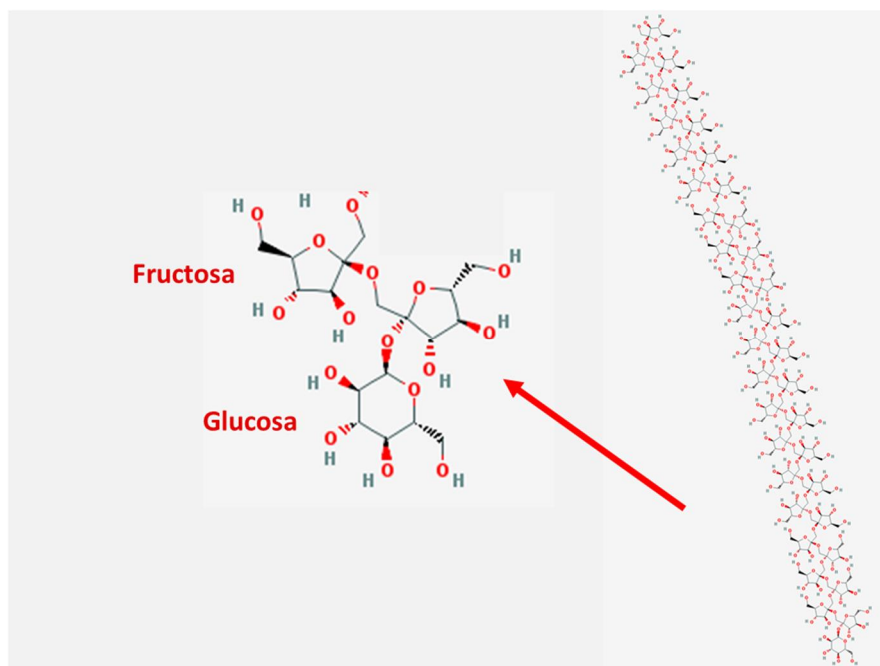


Figura 3. Molécula de inulina y monómeros que la conforman.

(Ref: Sigma-Aldrich. www.sial.com).

Los fructanos más ampliamente estudiados y de mayor uso a nivel industrial son la inulina, la oligofruktosa y FOS, los cuales se describen en el Cuadro 2 (Biedrzycka, 2004). En términos comerciales y científicos, aquel producto natural con un GP entre 2 a 70 unidades de fructosa se denomina inulina (Loo *et al.*, 1999), la cual posee una solubilidad en agua igual a 60 g/L a una temperatura de 10°C y de 330 g/L a 90°C (Deis, 2001).

Hoy en día la inulina se pueden comprar en diversas formas, las más comunes son: inulina natural con un GP de 10-12 unidades, inulina que contiene fracciones de cadena corta (GP de 2 a 10) e inulina de alto rendimiento (HP) con un promedio de GP no menor a 23.

Cuadro 2. Comparación entre diferentes fructanos.

| Dato | Inulina | Oligofruktosa | Fructo-oligosacáridos |
|------------------------|----------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| Origen | Extracción a partir de vegetales | Hidrolisis enzimática de la inulina | Transfructosilación de la sacarosa |
| Rango GP | 2-60 | 2-9 | 2-4 |
| GP _{promedio} | 10-12 | 4-5 | 3-7 |
| Estructura química | Lineal (1-2% ramificada) | Lineal | Lineal |

(Ref: Biedrzycka y Bielecka, 2004).

La propiedad de la inulina más extensivamente estudiada es su comportamiento como prebiótico (Roberfroid, 2005), definido por su capacidad selectiva de estimular el crecimiento de un grupo de bacterias en el colon (bifidobacterias y lactobacilos), con la consecuente disminución de otras especies que pueden ser perjudiciales (ejemplo: *E. coli* y bacterias de la especie *Clostridium spp.*) (Gibson, 1999).

2.4.1. Biosíntesis de la inulina

Para poder entender el papel de la inulina como prebiótico, fibra digerible o alimento funcional, es indispensable conocer la forma en la cual la misma se forma dentro de la planta, la cual como la mayoría de los procesos inicia con la fotosíntesis de la planta mediante la cual se produce energía de almacenamiento en forma de carbohidratos principalmente sacarosa (formada a partir de la unión de una molécula de glucosa con una de fructosa).

La sacarosa, es el precursor de los fructanos sintetizados en las plantas durante la fotosíntesis, se almacena en la planta hasta que las concentraciones son altas, siendo entonces que se inicia la biosíntesis de los fructanos que suelen acumularse en las hojas y vacuolas (Longland 2003). La síntesis y acumulación de los oligofructanos se cree que es extracloroplástica y ocurre en las vacuolas.

La biosíntesis de fructanos se rige por mecanismos muy particulares y complejos según sea la fuente vegetal, microbiana o fúngica. Aunque por lo general consiste en una transfructosilación, es decir una transferencia de residuos terminales fructosilos hacia una sacarosa (Yun, 2003). Las enzimas causantes de la elongación de las cadenas en los oligofructosacáridos, ya sean de origen vegetal o microbiano, son denominadas por algunos autores como β -D-fructofuranosidasas mientras que otros prefieren denominarlas fructosiltransferasas (Yun, 2003; Vergauwen *et al.*, 2003).

Muchas plantas como la achicoria (*Cichorium intybus*) y la alcachofa (*Cynara scolymus*) tienen enzimas complejas que no se rigen por una simple cinética de Michaelis-Menten y cuya actividad

depende de las concentraciones de sustrato y enzimas: 1-fructosiltransferasa (1-SST) y β -fructan-1-fructosiltransferasa (1-FFT) (Vijn y Smeekens 1999).

Al principio la 1-SST convierte la sacarosa en glucosa y un oligofructósido, polimerizando luego hasta el tercer monómero de fructosa, dejando que la 1-FFT forme a partir de ahí los polímeros de mayor peso molecular. El tamaño de los polímeros generados depende entonces principalmente de la actividad enzimática de la 1-FFT (Yun 2003).el modelo postula que la 1-SST cataliza la síntesis del trisacárido 1-cetosa a partir de dos moléculas de sacarosa al transferir un residuo fructosilo de una molécula de sacarosa a otra, liberando glucosa (Vijn y Smeekens 1999). A continuación la 1-FFT transfiere de modo reversible un fructosilo de un fructano con un grado de polimerización mayor o igual a tres a otro fructano generando así inulina. Esto produce una mezcla heterogénea de fructanos característica de los vegetales y que no es vista en los levanos microbianos (Hellwege *et al.*, 2000).

2.4.2. Contenido de inulina en plantas

Las plantas son la fuente de inulina más utilizada para la producción de material para ser incorporado en los productos alimenticios debido a su abundancia en las plantas y también desde una perspectiva de seguridad. Las especies con mayor contenido de inulina la almacenan en la parte subterránea de la planta. Otras especies (por ejemplo en la familia *Poaceae*) presentan altos contenidos de fructanos en sus partes aéreas, pero con bajo rendimiento de extracción a nivel industrial (Van der Poel *et al.*, 1998).

Son pocas las especies apropiadas para obtener fructanos a nivel industrial, a comienzos de la presente década, la inulina se obtenía a partir de dos especies: la pataca (*Helianthus tuberosus*) y la achicoria (*Cichorium intybus*), siendo ésta última la fuente industrial más común (Flamm *et al.*, 2001). Aunque también se puede encontrar en los tubérculos y raíces de plantas de la familia *Asteraceae* que incluye aster, diente de león, comos, bardana, vara de oro y lechuga (Schutz *et al.*, 2006; Incoll y Bonnett, 1993).

En algunas de estas plantas el contenido de fructanos puede llegar a constituir hasta el 24% de la masa cruda tal como se muestra en el Cuadro 3 (Marquina y Santos 2003). No obstante si de cantidades se trata, las principales fuentes de oligofructanos son la alcachofa (*Cynara scolymus*), yacón (*Smallanthus sonchifolius*) y dalia (*Dahlia pinnata* Cav.) (Fletcher 1999; Hellwege *et al.*, 2000; Flickinger y Fahey 2002, Lopez *et al.* 2005).

Cuadro 3. Contenido de inulina en diferentes vegetales.

| Especie vegetal | Inulina (g/100 g base seca) |
|---|--------------------------------|
| Patata (<i>Helianthus tuberosus</i>) | 89 |
| Achicoria (<i>Cichorium intybus</i>) | 79 |
| Dalia (<i>Dahlia spp.</i>) | 59 |
| Cebolla (<i>Allium cepa</i> L.) | 48 |
| Ajoporro (<i>Allium porrum</i> L.) | 37 |
| Ajo (<i>Allium sativum</i>) | 29 |
| Yacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i>) | 27 |
| Espárrago (<i>Asparragus officinalis</i> L.) | 4 |
| Cambur (<i>Musa cavendishii</i>) | 2 |
| Centeno (<i>Secale cereale</i>) | 1 |

(Ref: Flickinger y Fahey, 2002).

La inulina obtenida de plantas tiene cadenas que incorporan de 2 a 100 unidades de fructosa, cuya longitud y composición dependerá de la especie de planta, la fase de su ciclo de vida, la fecha de

cosecha, el tipo de extracción y los procedimientos posteriores a esta (Barclay *et al*, 2010 ; Ronkart *et al*, 2007). Van Loo *et al*. (1995) identificó la cantidad de la inulina en diversas plantas, así como su grado de polimerización las cuales se muestran en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Contenido de fructanos en fresco y grado de polimerización de algunas plantas.

| Especie | Fructanos en fresco (%) | Grado de polimerización (GP) |
|--|-------------------------------|--------------------------------------|
| Cebolla (<i>Allium cepa</i>) | 1.1 - 7.5 | 1 - 12 |
| Achicoria de Jerusalén (<i>Helianthus tuberosus</i>) | 17 - 20.2 | 2 - 19=74% 19 - 40=20% >4=6% |
| Alcachofa (<i>Cynara scolymus</i>) | 1.8 | >5=95% |
| Achicoria (<i>Cichorium intybus</i>) | 15.2 - 20.5 | 2 - 19=55% 19 - 40=28% >40=17% |
| <i>Allium ampeloprasum</i> | 2.9 | 12 |
| Ajo (<i>Allium sativum</i>) | 12.98 | >5=75% |
| Platano (<i>Musa cavendishii</i>) | 0.7 | <5=100% |
| Trigo (<i>Triticum aestivum</i>) | 1.17 (harina) | 768 |
| Centeno (<i>Secale cereale</i>) | 0.6 | |
| Cebada (<i>Hordeum vulgare</i>) | 22.1 (tierna) 1.1 (madura) | |
| Diente de león (<i>Taraxacum officinale</i>) | 12.4 | |
| Esparrago (<i>Asparagus officinalis</i>) | 0.1 | |

(Ref: Van Loo *et al*.,1995).

2.4.3. Alimentos funcionales y prebióticos

En la actualidad, la presencia de ciertas cantidades de inulina o sus derivados en la formulación de un producto alimenticio es condición suficiente para que dicho producto pueda ser considerado como "alimento funcional" (Roberfroid 2005),

Un alimento funcional por definición es aquel que además de hacer un aporte nutricional básico, demuestra efectos benéficos para la salud (Silveira *et al.*, 2003), adicionalmente un alimento puede ser considerado funcional si se ha demostrado suficientemente que afecta de forma benéfica a una o varias funciones relevantes del organismo, de manera que proporciona un mejor estado de salud y bienestar y/o reduce el riesgo de padecer enfermedad (Roberfroid 1995).

Un alimento funcional puede ser un alimento natural o modificado (alterando, añadiendo o eliminando uno o varios de sus componentes) o una combinación de ambos. Además, puede ser funcional para la población en general o para grupos particulares de la población, definidos por sus características genéticas, sexo, edad o por otros factores, los principales alimentos funcionales son:

- Fibras (polidextrosa y goma guar)
- Ácidos grasos poliinsaturados (á 3 y 6)
- Sustancias bioactivas de plantas (polifenoles, vitamina E, caféina y carotenoides)
- Fibras prebióticas (inulina y fructooligosacaridos)
- Microorganismos prebióticos
- Probióticos (bacterias de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*)
- Simbióticos (adición conjunta de probióticos y prebióticos en un mismo alimento) (Sako *et al.* 1999).

Por otra parte, Gibson y Roberfroid en 1995 definieron prebióticos como "sustancias no digeribles que cuando se consume, proporcionar un efecto fisiológico benéfico en el huésped, estimulando selectivamente el crecimiento favorable o la actividad de un número limitado de bacterias benéficas. Tiempo después en 2007, Roberfroid actualiza esta definición diciendo que un prebiótico es "un ingrediente fermentado selectivamente que permite cambios específicos, en la

composición y/o actividad de la microflora gastrointestinal que confiere los beneficios del bienestar y la salud.

Los prebióticos son una categoría de compuestos nutricionales agrupados, no necesariamente por similitudes estructurales, sino por la capacidad para promover el crecimiento algunas bacterias intestinales benéficas. Para que un ingrediente de un alimento pueda ser clasificado como un prebiótico este debe de cumplir los siguientes criterios:

- No ser hidrolizado o absorbido en la parte superior del tracto gastrointestinal.
- Debe de ser fermentado en el colon por un número limitado de bacterias potencialmente benéficas como por ejemplo las bifidobacterias y los lactobacilos.
- Ser capaz de alterar la microflora del colon para una generar una composición más saludable, por ejemplo, aumentando el número de especies sacarolíticas y reduciendo los microorganismos putrefactivos (Kolida *et al.*, 2002).

Los carbohidratos no digeribles (oligosacáridos y polisacáridos), algunos péptidos y proteínas, y ciertos lípidos (ésteres y éteres) son considerados como prebióticos, ya que gracias a su estructura química, estos compuestos no son absorbidos en la parte anterior del tracto gastrointestinal o no son hidrolizados por las enzimas digestivas humanas.

La inulina y los fructooligosacáridos (FOS) han sido los prebióticos más estudiados, por su gran resistencia a ser digeridos por los ácidos gástricos y enzimas pancreáticas, llegando al colon para ser fermentados por las bacterias intestinales. Estos prebióticos afectan significativamente la composición de la microbiota intestinal, reducen la incidencia de infecciones gastrointestinales, respiratorias y de la dermatitis atópica, tienen además un reconocido efecto bifidogénico (Aumento

de la población de bifidobacterias en el colon) (Kolida y Gibson, 2007; Veereman, 2007; Guarner, 2007; Arslanoglu *et al.*, 2007). Sin embargo, existe otra gran variedad de candidatos tales como algunos almidones no digeribles, polisacáridos no almidones y azúcares alcoholes o polioles, capaces de modificar beneficiosamente la microbiota del colon (Cummings *et al.*, 2001; Wong y Jenkins, 2007).

Los prebióticos tipo inulina pueden ser extraídos de una fuente de alimento (típicamente de la raíz de achicoria) o sintetizado a partir de una molécula más fundamental (normalmente sacarosa). En cualquier caso, la inulina resultante consiste en mezclas de moléculas de fructanos tipo inulina con diferentes grados de polimerización, algunas inulinas prebióticas tienen una baja proporción de unidades de glucosa, mientras que otras tienen proporciones mucho más altas. Dentro de la mezcla puede haber fructanos tipo inulina que consisten de tan pocos como dos unidades de fructosa o más de 60 unidades de fructosa, pesar de estas variaciones, siempre y cuando el fructano en el producto sea del tipo inulina, el producto se clasifica correctamente como un prebiótico tipo inulina. (Greg Kelly, 2008).

2.5. Tecnología de producción de oligosacáridos e inulina

Existen principalmente tres métodos para la extracción y/o elaboración de carbohidratos no digeribles:

- Mediante la extracción directa en agua caliente de diferentes raíces, como la achicoria o alcachofa de Jerusalén para extraer la inulina, o de semillas de soya para la obtención de los Sojaoligosacaridos.
- Hidrólisis enzimática parcial de Oligosacaridos no digeribles, como en la obtención de oligofructosa a partir del hidrolizado de la inulina (De Bruyn *et al.* 1992), o de polisacáridos para obtener los xilooligosacaridos por la acción de xilanasas sobre los xilanopolisacáridos (Yamaguchi *et al.* 1994).
- Síntesis enzimática de un disacárido o de una mezcla de disacáridos usando osiltransferasas, como la obtención de Fructooligosacaridos de cadena corta (FOS cc) a partir de la sacarosa (Spiegel *et al.* 1994), los galactooligosacaridos a partir de la lactosa y la lactosacarosa a partir de una mezcla de sacarosa y lactosa (Yamaguchi *et al.* 1994).

Actualmente a nivel industrial, la inulina y sus derivados se obtiene de la raíz de la achicoria, y se usa como ingrediente en los alimentos, ofreciendo ventajas tecnológicas e importantes beneficios a la salud (Franck, 2006). En la figura 2 se muestra un esquema de la producción de la inulina y de algunos de sus derivados. Alternativamente, la oligofructosa se puede sintetizar a partir de la sacarosa, la cual es sometida a transfructosilación por acción de la enzima - fructofuranosidasa (Niness, 1991).

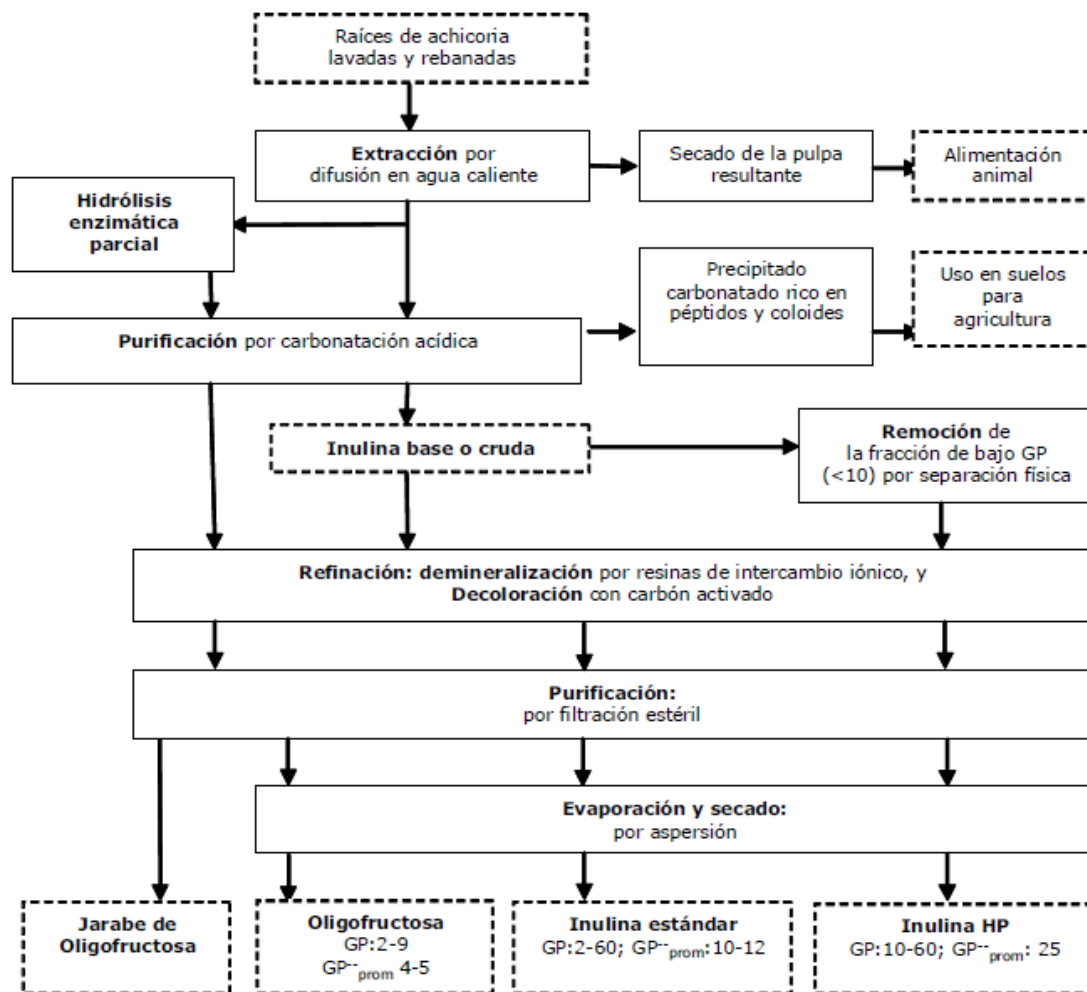


Figura 4. Procesos de producción de inulina y algunos de sus derivados (Ref: Niness, 1991).

Por otro lado, el Cuadro 5 y la Figura 5 muestran los nombres, estructuras químicas y el proceso de producción de los principales oligosacáridos de uso común e industrial.

Cuadro 5. Nombre y estructura química de los principales oligosacáridos.

| Nombre | Estructura química y tipo de enlace |
|--------------------------------------|---|
| Inulina | -D-Glu(1 2)-[-D-Fru] _n -(1 2) -D-Fru (n=10 a 60) |
| Oligofructosa | -D-Fruc(1 2)-[-D-Fru] _n -(1 2) -D-Fru (n=2 a 10) |
| Fructooligosacáridos de cadena corta | -D-Glu(1 2)-[-D-Fru] _n -(1 2) -D-Fru (n=1 a 3) |
| Galactooligosacáridos | -D-Gal(1 6)-[-D-Gal] _n -(1 4) -D-Fru (n=1 a 5) |
| Galactriosa/TOS | -D-Gal (1 6)-[-D-Gal] _n (n=2 a 5) |
| Isomaltooligosacáridos | [-D-Glu(1 6)] _n (n=2 a 9) |
| Sojaoligosacáridos | [-D-Gal(1 6)] _n - -D-Glu-(1 2) B-D-Fruc (n=1 a 3) |
| Xilooligosacáridos | [-D-Xyl-(1 4)] _n (n=2 a 9) |
| Gentiologosacáridos | [-D-Glu-(1 6)] _n (n=2 a 5) |
| Lactulosa | -D-Gal-(1 4)-b-D-Fru |
| Lactosacarosa | -D-Gal-(1 4)- -D-Glu(1 2)- -D-Fru |
| Celobiosa | -D-Glu(1 4)-D-Glu |
| Celodextrinas | [-D-Glu(1 4)] _n -D-Glu (n=3 a 6) |
| Ciclodextrinas | [-D-Glu (1 4)] _n cíclico (n=3 a 6) |
| Leucrosa | -D-Glu (1 5)-D-Fru |
| Maltitol | -D-Glu (1 6)-D-Sor |
| Palatinosaoligosacáridos | [(1 6)-D-Fru] _n (n=2 a 4) |
| Lactitol | -D-Gal (1 4)-D-Sor |
| Maltooligosacáridos | [-D-Glu (1 4)] _n (n=2 a 7) |
| Manooligosacáridos | [-D-Man(1 6)] _n (n=2 a 8) |
| Glucosilacarosa | -D-Glu (1 4)- -D-Glu(1 2)-b-D-Fru |
| Glucooligosacáridos | [-D-Glu] _n (n=2 a 6) |

Fru=Fructosa, Gal=Galactosa, Glu=Glucosa, Man=Manosa, Sor=Sorbitol, Xyl=Xilosa
(Ref: Yamaguchi *et al.*, 1994).

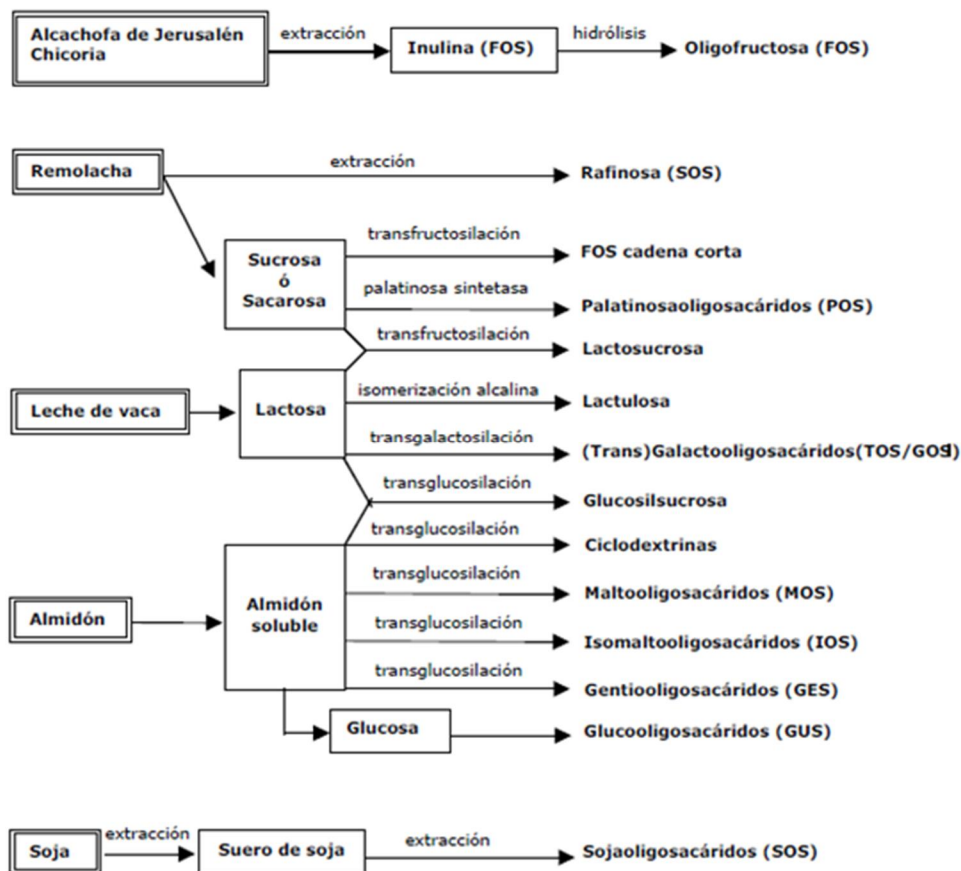


Figura 5. Procesos de producción de los principales oligosacáridos (Ref: Yamaguchi et al., 1994).

2.5.1. Usos actuales y potenciales

La inulina y los FOS, están considerados desde 1992, por la FDA (Food and Drugs Administration) como ingredientes alimenticios GRAS (Generally Recognized As Safe) o seguros para el consumo, lo cual indica que pueden usarse sin restricciones en formulaciones alimenticias incluso en las destinadas para infantes (Coussement, 1999).

La inulina y sus derivados ofrecen múltiples usos como ingredientes en la formulación de productos, como se observa en el Cuadro 6. La inulina tiene propiedades similares a las del almidón, mientras que la oligofructosa presenta propiedades más parecidas a la sacarosa, (Roberfroid, 2002; Rodríguez, 2006). La inulina mejora la aceptabilidad de yogures elaborados con leche descremada, impartándole una mayor cremosidad, también actúa como agente espesante, retiene el agua y estabiliza geles (Kip *et al.*, 2005).

Es un sustituto de azúcar o grasa que tiene un valor muy bajo de calorías, en la agroindustria, los principales usos son como sustitutos no carcinogénicos e hipocalóricos de azúcares edulcorantes como la sacarosa (Delaquis y Mazza 1998). Generalmente esto genera productos de confitería, chocolatería y bebidas de aceptación sensorial en general admisible en comparación con los productos edulcorados de forma convencional (Golob *et al.*, 2004).

En la investigación, la inulina se ha adicionado como sustituto de la grasa vegetal en la elaboración de panes de trigo, donde, no se modificaron las características reológicas de la masa antes de hornear y la calidad sensorial del producto terminado (O'Brien *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2002). El uso de inulina en la formulación de pastas dio como resultado productos con propiedades sensoriales sin diferencias significativas de aquellas elaboradas con solo trigo (Brennam, 2004). Se han logrado formulaciones a base de chocolate (tortas, muses) (Moscatto *et al.*, 2006), barras energéticas (Aragon *et al.*, 2007) y cereales extruidos (Franck 2002) con un desempeño similar o incluso mejorado en sabor, color y textura.

Cuadro 6. Propiedades funcionales de la inulina y sus derivados

| Aplicación | Funcionalidad |
|------------------------------------|---|
| Productos lácteos | Cuerpo y palatabilidad, capacidad de formar gel, emulsificantes, sustituto de azúcares y grasas, sinergismo con edulcorantes |
| Postres congelados | Textura, depresión en el punto de congelación, sustituto de azúcares y grasas, sinergismo con edulcorantes |
| Productos untables | Estabilidad de la emulsión, textura y capacidad de ser untado, sustituto de grasas |
| Productos horneados | Disminución de la actividad de agua, sustituto de azúcares |
| Cereales de desayuno | Crujencia, capacidad de expansión |
| Preparación con frutas (no ácidas) | Cuerpo y palatabilidad, capacidad de formar gel, estabilidad de emulsión, sustituto de azúcares y grasas, sinergismo con edulcorantes |
| Aderezos de ensaladas | Cuerpo y palatabilidad, sustituto de grasas |
| Productos cárnicos | Textura, estabilidad de emulsión, sustituto de grasas |
| Chocolate | Sustituto de azúcares, humectante |

(Ref: Franck, 2002).

2.5.2. Usos en beneficio a la salud

El uso de la inulina o sus derivados para cumplir funciones tecnológicas, simultáneamente aporta beneficios a la salud, el primero de ellos es su función de fibra dietética, con los efectos fisiológicos atribuibles a este tipo de compuestos, como son la disminución de los niveles lipídicos y glucosa en sangre y la acción laxante (Camire *et al.*, 2001). Otros beneficios comprobados, ligados al anterior, es la capacidad de la inulina de modular la flora intestinal (Roberfroid *et al.*, 1998; Schneeman, 1999), esto se debe a su efecto prebiótico, el refuerzo de las funciones inmunológicas (ante cáncer o tumores), el aumento de la biodisponibilidad de minerales, la mejora del metabolismo de las grasas y de la respuesta glicémica (Franck, 2006).

Los beneficios atribuidos a los fructanos radica en que estos compuestos escapan al proceso de digestión y absorción del estómago y el intestino delgado pasando directamente al colon donde son fermentados selectivamente por bifidobacterias y lactobacilos inhibiendo el desarrollo de bacterias

perjudiciales como *Escherichia coli* y *Clostridium perfringens*. Producto de estas fermentaciones se producen ácidos grasos de cadena corta como el acetato propionato y butirato (Campbell *et al.* 1997), por tal motivo, se le atribuye a los oligofructanos la capacidad de evitar el estreñimiento al permitir una mejor formación del bolo fecal y favorecer la movilidad intestinal (Kaplan y Hutkins 2000; Roberfroid 2001, Dahl *et al.*, 2005).

Debido a su proceso fermentativo, los oligofructanos pueden afectar el epitelio intestinal favoreciendo el desarrollo de la mucosa y aumentando la resistencia a las enfermedades intestinales por un mecanismo de barrera (Cherbut, 2002).

Se ha observado, disminución de la diarrea, especialmente cuando esta se encuentra relacionada con infecciones gastrointestinales, lo cual se puede deber al efecto inhibitorio de las bifidobacterias sobre los agentes infecciosos (Catala *et al.*, 1999, Kaplan y Hutkins 2000; Roberfroid 2001).

No existe evidencia experimental alguna que indique que los oligofructanos presentan algún grado de toxicidad sin importar la cantidad ingerida como parte de la dieta; aunque en algunas personas se ha detectado que ingestas por encima de 10 g diarios pueden llegar a producir un ligero malestar (Coussement 1999).

Investigaciones con ratas y humanos indican un incremento de la absorción de calcio y otros minerales cuando se usa inulina y sus derivados en la dieta, con consecuencias positivas en el contenido y densidad de los huesos (Greger, 1999; Roberfroid *et al.*, 2002).

La inulina junto con otro carbohidrato no digerible, el galactooligosacárido, logra cumplir una función muy importante en el mejoramiento de las formulaciones alimenticias infantiles (Oliveros

y Moreno, 2006). La leche materna contiene una mezcla compleja de carbohidratos no digeribles que cumplen con la función de prebiótico, lo cual justifica la adición de oligosacáridos a fórmulas lácteas que se administran a los niños.

La inulina y sus derivados también se están usando en la alimentación animal, para disminuir malos olores en las heces fecales de animales domésticos como perros y gatos) (Hussein *et al.*, 1999). También se ha ensayado utilizar los oligosacáridos inulina y oligofruktosa en la sustitución del uso de antibióticos profilácticos en pollos, conejos y cochinos (Flickinger, 2003).

La inulina y derivados se están usando en la industria farmacéutica como material excipiente en tabletas, coadyuvante en vacunas y también como ingrediente estructurante en detergentes (Kim *et al.*, 2001). Adicionalmente, en la industria química y de procesamiento se usa la inulina y la carboximetil inulina (CMI), como agente quelante y anti-incrustante de tuberías, contenedores, cámaras de reacción y separación y demás equipos (Johansen, 2003).

Debido a estas propiedades, las industrias alimentarias y farmacéuticas han ido encontrando aplicaciones de inulina y sus derivados como los fructooligosacáridos (FOS) en la producción de los alimentos funcionales, compuestos nutricionales y fármacos (Barclay *et al.*, 2012; Cummings *et al.*, 2001; Judprasong *et al.*, 2011; Laparra *et al.*, 2008; Matusek *et al.*, 2009; Morris y Morris, 2012).

2.5.3. Discrepancias en el uso de nombres para los oligosacaridos

No hay un estándar uniforme para nombrar a la inulina, los tres términos genéricos encontrados con mayor frecuencia son: inulina, oligofruktosa, y fructooligosacarido (FOS), y estos términos no se usan de la misma manera en los artículos de investigación.

Con el fin de entender los términos genéricos utilizado para los prebióticos tipo inulina, es útil tener en cuenta que los fructanos tipo inulina pueden ser divididos en un amplio subgrupo basados en su grado de polimerización (DP). Los fructanos tipo inulina consistentes de $DP \geq 10$ se consideran de cadena larga (de alto peso molecular), mientras que los fructanos tipo inulina de un $DP < 10$ se consideran de cadena corta (de bajo peso molecular). En algunos casos, las revisiones en este tema se subdividen aún más, el grupo con un DP de menos de 10 se divide en, cadena corta (DP de 2-4) y grupos de cadena media (DP de 5-9) (Greg Kelly, 2008).

Algunos expertos en el campo de la investigación, incluido Roberfroid, consideran la oligofruktosa y FOS como términos sinónimos para las mezclas de fructanos tipo inulina, siempre y cuando el fructano tipo inulina tenga una $DP_{max} < 10$.

Estas normas de nomenclatura difieren de la terminología empleada por Roberfroid en 1995 en el tema coescrito por Gibson. En ese documento FOS fue utilizado para abarcar tanto la oligofruktosa e inulina; se utiliza como sinónimo para toda la categoría de inulina, lo que resulta en una cierta confusión. (Greg Kelly, 2008) Además, otros autores no utilizan el mismo estándar de nomenclatura de Roberfroid. Carabin y Flamm, en su revisión de la seguridad de la inulina y la oligofruktosa, utilizan FOS para describir mezclas de inulina de cadena corta sintetizadas a partir

de sacarosa. Algunos investigadores parecen tener su propia norma de nomenclatura. Por ejemplo, Lindsay *et al.*, 2006 describen su prebiótico como FOS, el cual fue una mezcla de 70% oligofruktosa y 30% inulina, lo cual no concuerda con lo descrito como FOS por Carabin y Flamm ni se parece al sinónimo de oligofruktosa de Roberfroid. En realidad, es una mezcla patentada para producir una relación específica de oligofruktosa e inulina. Un nombre posible para tal mezclas es oligofruktosa enriquecida con inulina. Por desgracia, tampoco existe alguna nomenclatura para describir estas mezclas producidas mediante la concentración de una o más categorías de los fructanos tipo inulina basado en su DP específico, por lo tanto hace falta aún una nomenclatura universal para este tipo de compuestos que abarque la gran gama que ellos presentan.

2.5.4. La ðflorö de jamaica y sus compuestos fenólicos

La ðflorö de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), que en realidad su parte útil y comestible es el cáliz de la flor, pertenece a la familia Malváceae y es originaria de África tropical, su cultivo se extiende por Sudán, Thailandia, China, Egipto, Senegal, Tanzania, México, América Central y del Sur y sudeste asiático (Morton, J. F. 1987, Domínguez-López, et al., 2008).

Los cálices son lo más destacable de la planta, tienen tono rojo a púrpura y su uso en alimentos es variado: se usan como colorantes alimentarios, para fabricar jarabes, mermeladas, para la preparación de una bebida ligeramente ácida y refrescante de color rojo intenso conocida como ðsoboö en Nigeria, ðkarkadeö en Egipto, o ðagua de jamaicaö en México.(Farombi, O. E. 2003, Morton, J. F. 1987, Herrera-Arellano, A., Flores-Romero, S., Chávez-Soto, M. A., Tortoriello, J. (2004), Sáyago-Ayerdi, S. G., Arranz, S., Serrano, J., Goñi, I. (2007), and Hirunpanish, et al., 2006).

El componente mayoritario de los cálices de jamaica. es la fibra dietética con un 33.9 % (Sáyago-Ayerdi, et al., 2007), además de acuerdo a Wong, et al., (2002) and Nnam y Onyeke (2003), los cálices contienen pocos azúcares (aproximadamente 3.3 g/100 g), diversos ácidos orgánicos (succínico, oxálico, tartárico y málico), una acidez total de 2.42 g/100 g (expresado como ácido málico), ricos en β -caroteno (1.88 mg/100 g), hierro (833 mg/100 g) y ácido ascórbico (141.1 mg/100 g). Sáyago-Ayerdi, et al., (2007) reportaron que los cálices de Jamaica contienen (2.17g GAE/100 g materia seca).

El contenido fenólico en la jamaica, de acuerdo a Tsai, P. J., Huang, H. P. (2004), Rodríguez-Medina, et al., (2009), Ramirez-Rodrigues, Plaza., Azeredo, Balaban y Marshall. (2011) está compuesto por polifenoles extraíbles principalmente antocianinas como la delfinidin-3-xilosilglucósido y cianidin-3-xilosilglucósido y sus respectivos glucósidos delfinidin-3-glucósido y cianidin-3-glucósido.

Los compuestos fenólicos se pueden clasificar de acuerdo a su capacidad para poder ser extraídos con solventes acuoso-orgánicos, de acuerdo con Saura-Calixto et al. (2007), los polifenoles extraíbles son compuestos fenólicos monoméricos, oligoméricos y algunas fracciones poliméricas y los polifenoles no extraíbles son compuestos de alto peso molecular (taninos hidrolizables y pro-antocianidinas) o polifenoles que no son extraídos por los solventes usualmente empleados.

2.5.5. Uso de biopolímeros para portar e incrementar la bioaccesibilidad de los compuestos antioxidantes del extracto de la jamaica

2.5.5.1. Biopolímeros utilizados como portadores

A pesar de la significativa actividad antioxidante expresada por los compuestos bioactivos de la jamaica, las formas activas de los polifenoles tienen limitaciones de biodisponibilidad en el cuerpo humano alcanzando bajos niveles de concentración en el plasma sanguíneo (Van Duynhoven et al., 2011). Frank et al., (2005) entre otros reportaron que después de la ingesta del extracto acuoso de la Jamaica, y su paso a través del tracto gastrointestinal solo el (0.018% de la dosis administrada) alcanza el sistema circulatorio y el resto es excretado en la orina.

Este efecto debe en parte su explicación a la incapacidad del intestino para absorber antocianinas glicosiladas siendo la desglicosilación una etapa limitante en la absorción y la biodisponibilidad de las antocianinas. Por otra parte, una vez ingeridos los polifenoles se bio-transforman y son catalizados a través del tracto gastrointestinal (desglicosilación, deshidroxilación, desmetilación, etc.) y cada compuesto derivado de este proceso puede expresar una actividad específica antioxidante que en conjunto podría no mantener el mismo nivel que el compuesto inicial (Van Duynhoven et al., 2011).

Por ello existe un creciente interés por hacer llegar moléculas antioxidantes al tejido objetivo a través del consumo de fitoquímicos que preserven su bioactividad durante su paso por el tracto digestivo (Kosaraju et al., 2008).

Por lo tanto, Shimizu y Hachimura (2011) y Fang y Bhandari (2010), proponen preservar la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos y controlar su liberación en el sitio objetivo de absorción p.ej. colon utilizando micro cápsulas de polímeros comestibles, logrando así también una nueva forma de administración concentrada que pueda ir incluida en otros alimentos y a su vez

cubra el sabor indeseado (astringencia o amargo) de los compuestos. Las micro capsulas pueden variar de tamaño desde micrones hasta milímetros (Dziezak, 1998).

De acuerdo con Fang y Bhandari. (2010), se pueden producir encapsulados de diferentes formas pero las morfologías más comúnmente vistas son capsulas mononucleares las cuales presentan un núcleo rodeado por una cobertura de uno o más materiales. La forma específica de las micro capsulas está determinada por el tipo de proceso, el material de carga y el encapsulante. La intención de las tecnologías de encapsulación es la de proteger al material bioactivo o de interés del medio ambiente que pudiera ser adverso a la estabilidad del bioactivo, como lo es la luz, humedad, presencia de oxígeno entre otros, incrementando al mismo tiempo su vida útil y el controlando su cinética de liberación (Shahidi y Han, 1993).

Saravanan y Panduranga. (2010) desarrollaron encapsulados con pectina y grenetina por la técnica de coacervación usando alginato. La grenetina tiene la capacidad de producir hidrogeles firmes en un rango amplio de pH y puede reaccionar con los polifenoles generando una matriz compleja, probablemente los polifenoles actúan como puentes de unión, la concentración de la solución de cloruro de calcio determina la rigidez del gel de alginato conociéndose este proceso como gelificación ionotrópica, el tiempo de inmersión también influye en la rigidez (Repka y Singh, 2009).

El secado por aspersión es otra técnica de gran uso en los procesos de encapsulación de bio-compuestos debido a que es una técnica más económica, los investigadores Kosaraju, et al., (2008) encapsularon antioxidantes, de compuestos fenólicos, de diferente origen en una emulsión

proteína-lípido, la cual fue secada por aspersión encontrando una retención significativa de actividad antioxidante después del proceso.

Son varios los portadores bio-poliméricos que se usan para encapsular, entre ellos están las proteínas y los polisacáridos considerados generalmente como componentes básicos en la alimentación debido a su valor nutrimental, (Bennion, 1980), los biopolímeros portadores cumplen con pertenecer a la clasificación GRAS (Generalmente Reconocidas como Seguras) de acuerdo a la FDA. Las proteínas se usan como emulsificantes, estabilizantes y gelificantes sirviendo así como portadores o vehículos de moléculas de interés biológico (Chen, et al., 2006). Los polímeros de carbohidratos o polisacáridos están unidos por enlaces glicosídicos y en la naturaleza pueden encontrarse formando largas cadenas que difieren en el tipo de azúcar que los forma y en el tipo de enlace que los une y pueden encontrarse tanto en plantas (pectina, celulosa, etc.), en animales (quitosano), en algas (alginato) y como metabolitos de algunos microorganismos (dextrano) (Kosaraju, et al., 2005). Son ampliamente utilizados para proteger moléculas de interés biológico durante su paso por las condiciones biológicas ácidas y enzimáticas del estómago, el intestino delgado y el colon donde se lleva a cabo su liberación y absorción (Luykx, et al., 2008). Se usan para aportar volumen (ciclodextrinas), son espesantes (almidones) y gelificantes (pectinas), por lo que su uso como portadores también ha sido utilizado. Por mencionar otros portadores de los más empleados está el suero de leche, proteína de soya, carragenina, carboximetilcelulosa, goma xantana (Maltais, et al., 2005, Sanguansri y Augustin, 2006). Una de las pruebas más importantes a las que son sometidos los encapsulados es la cinética de liberación que en muchas ocasiones se realiza en condiciones in vitro, estos resultados predicen con mayor precisión el tiempo de

liberación del ingrediente activo encapsulado es decir su bioaccesibilidad que por ende favorece una mayor biodisponibilidad (Parada y Aguilera, 2007).

2.5.5.2. Técnicas de encapsulación en la industria de los alimentos

Algunas de las tecnologías de encapsulación de compuestos con actividad biológica más empleadas en alimentos incluyen el secado por aspersión, extrusión, atrapamiento en liposomas, inclusión, complejación, co-cristalización, nano encapsulación, encapsulación en levaduras, coacervación y liofilización entre otras (Fang y Bhandari, 2010).

Algunas de las razones para aplicar la encapsulación son: proteger el material de la degradación, disminuir o controlar la tasa de evaporación con el medio ambiente, modificar las características físicas del material original para facilitar su transporte, controlar la liberación con respecto al tiempo o a un tiempo particular, para enmascarar sabores o aromas indeseados, para diluir o concentrar el material (Desai y Park, 2005).

Los procesos de encapsulación se pueden dividir en dos: procesos químicos y procesos mecánicos. Los procesos químicos se dividen en las técnicas de coacervación, co-cristalización, polimerización interfacial, gelificación iónica, incompatibilidad polimérica, atrapamiento por liposomas e inclusión molecular; dentro de los procesos mecánicos están las técnicas de secado por aspersión, secado por congelamiento/enfriamiento y extrusión (Madene et al., 2006; Yañez, et al. 2002). Las investigaciones más recientes se enfocan a los alimentos funcionales donde los polifenoles tienen interés relevante por ser metabolitos de origen vegetal de amplio espectro biológico, incluyendo la capacidad antioxidante, anti-inflamatoria, antibacterial, antiviral etc. (Bennick, 2002)

La micro encapsulación es definida como una tecnología de empaquetamiento de materiales sólidos, líquidos o gaseosos. Las microcápsulas selladas pueden liberar sus contenidos a velocidades controladas bajo condiciones específicas, y pueden proteger el producto encapsulado de la luz y el oxígeno (Young, Sarda y Rosenberg, 1992, Madene, Scher y Desobry, 2006, Araneda y Valenzuela, 2009). La micro encapsulación consiste en el desarrollo de micro partículas conformadas por una membrana polimérica porosa contenedora de una sustancia activa, donde el material o mezclas de materiales a encapsular puede ser cubierto o atrapado dentro de otro material o sistema. Una micro cápsula consiste de una membrana semipermeable, de forma irregular a veces esférica, delgada y fuerte alrededor de un centro solido/líquido (Yañez, et al., 2002, Montes, De Paula y Ortega, 2007). Los materiales que se utilizan para el encapsulamiento pueden ser gelatina, grasas, aceites, goma arábica, alginato de calcio, ceras, almidón de trigo, maíz, arroz y papa, ciclodextrinas, maltodextrina, caseinato de sodio, proteína de lactosuero o proteína de soya (Shepherd, et al., 2000). Las aplicaciones de la micro encapsulación se dirigen a la industria, textil, metalúrgica, química, alimenticia, cosmética y farmacéutica (Dutta, et al., 2009 y Rai, et al., 2009). Dentro de las técnicas utilizadas para micro encapsular se encuentran el secado por aspersión, secado por enfriamiento, secado por congelamiento, coacervación y extrusión. Las sustancias que se micro encapsulan pueden ser vitaminas, minerales, colorantes, prebióticos, probióticos, sabores nutraceuticos, antioxidantes, olores, aceites, enzimas, bacterias, perfumes, drogas e incluso fertilizantes, lípidos, sabores, aromas volátiles (Murúa, Beristain y Martínez, 2009, Ferreira, Rocha y Coelho, 2007, Sozer y Kokini, 2009, Bastos, Araujo y Leao, 2009, Ranadheera, Baines y Adams, 2010).

El secado por aspersión es una de las operaciones más importantes en la industria alimentaria, se considera también como una encapsulación, ya que puede producir partículas que atrapan un material al interior, donde el material de alimentación es líquido, se atomiza en gotas minúsculas dentro de una gran cámara con un gas caliente que por lo general es aire, el líquido rápidamente es evaporado dejando partículas sólidas en general menores a 100 μm aunque ello depende de las condiciones específicas del proceso, una de las grandes ventajas de este método es que es apropiado para materiales sensibles al calor ya que el tiempo de exposición a temperaturas elevadas es muy corto 5 a 30 segundos (Casper,2003).

III. JUSTIFICACIÓN

Tanto la flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), como la Dalia (*Dahlia variabilis* Cav.) poseen componentes activos de gran importancia para la salud y buena calidad de vida del ser humano. Los principales compuestos son, las antocianinas extraídas de la flor de la jamaica y la inulina obtenida de la raíz de la dalia.

En la actualidad, se ha demostrado que las antocianinas de los cálices de la jamaica presentan una elevada capacidad antioxidante, mientras que la inulina es un carbohidrato de reserva presente en un gran número de organismos vegetales que el hombre consume regularmente: en frutas como el plátano, en cereales como el trigo, en legumbres como la cebolla, el poro, la alcachofa y el ajo

Puesto que existe un interés creciente acerca de estos compuestos primordiales que permita un mayor conocimiento de la funcionalidad de los mismos, y que ayude a desarrollar nuevos productos a partir de ellos, el presente trabajo de investigación, desea evaluar los agentes antioxidantes en extractos de flor de Jamaica, así como el contenido y calidad de la inulina extraída a partir de la raíz de Dalia.

La dalia es una planta que ha sido, durante mucho tiempo, cultivada y mejorada genéticamente con fines ornamentales ya que produce inflorescencias muy atractivas. Sin embargo, recientemente se le ha puesto atención a su sistema radicular, compuesto de raíces tuberosas, dado que en este órgano se almacenan carbohidratos de reserva bajo la forma de inulina y otros fructanos, tal como ocurre con otras especies de la familia Asteraceae, como el Yacón (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. Endl), la Achicoria (*Cichorium intybus* L.) y la Alcachofa de Jerusalén (*Helianthus tuberosus*). Estudios

recientes en la Universidad Autónoma del Estado de México (México) han demostrado que la dalia de la especie *D. variabilis* Wild (Desf.), puede producir, en condiciones controladas, alrededor de 17 t/Ha de raíz tuberosa, lo que representa aproximadamente 3500 kg de materia seca. Este rendimiento es comparable con el de la achicoria o con el de la raíz de alcachofa, con la ventaja de que se puede producir en valles altos y en condiciones de temporal. También se ha reportado que la materia seca de la raíz de dalia contiene 85% de carbohidratos, de los cuales de 52 a 83% son inulina, dependiendo del estado de madurez de la raíz, la especie y otros factores. Estos datos sugieren que esta especie vegetal puede tener un potencial económicamente significativo para la producción de este compuesto prebiótico.

La inulina es importante porque forma parte de la fibra dietética de diversos alimentos de origen vegetal y es considerada como un compuesto prebiótico, porque afecta benéficamente la salud del consumidor estimulando selectivamente el desarrollo y la actividad de especies bacterianas benéficas del colon, particularmente lactobacilos y bifidobacterias. Como consecuencia de estas propiedades, a la inulina se le ha asociado con el mejoramiento de la actividad del tracto gastrointestinal y del sistema inmunitario, con el incremento de la absorción de calcio y magnesio y con la disminución de los niveles de colesterol y lípidos séricos. Además, la inulina obtenida específicamente de este grupo de especies vegetales ha sido clasificada por la Food and Drug Administration de los Estados Unidos como un ingrediente natural generalmente reconocido como seguro (GRAS, por sus siglas en inglés). Es por estas razones que resulta atractivo promover la producción de inulina y optimizar su extracción y purificación mediante metodologías seguras para su uso en alimentos.

IV. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

4.1. Objetivos

4.1.1. Proponer un método simple de extracción de inulinas de la raíz de dalia.

4.1.2. Evaluar el efecto del cultivo controlado de dalias silvestres sobre su contenido de inulina, fructanos, fructosa y glucosa.

4.1.3. Impregnar una matriz de inulina de dalia en forma de micropartículas con un extracto de jamaica rico en antocianinas.

4.1.1.4. Determinar la cinética de liberación de antocianinas impregnadas en la matriz de inulina de dalia.

4.2. Hipótesis

El cultivo de la dalia silvestre incrementa significativamente tanto la concentración como el grado de polimerización de la inulina que se sintetiza en la raíz de esta especie vegetal.

La inulina es una matriz acarreadora relativamente eficiente, es decir, una matriz con la que se puede liberar de manera controlada un extracto de Jamaica rico en antocianinas.

V. MATERIALES Y METODOS

5.1. Condiciones de extracción de inulina de la raíz de dalia

El material vegetal que se utilizó consistió en raíces de dalias cultivadas durante el ciclo agrícola primavera-verano 2013, en Zinacantepec, México, ubicado a 19°17' N y 99° 44' O. El sitio tiene una altitud de 2750 msnm. El clima es templado subhúmedo y la temperatura media anual es de aproximadamente 12° C. La precipitación media anual es de 1225 mm, y las lluvias se concentran en los meses de mayo a octubre. Las raíces obtenidas se lavaron con agua a presión para eliminar cualquier residuo de tierra que pudieran contener, descartando las piezas que presentaron algún deterioro. Se procedió al troceado y secado de las raíces en una estufa de secado a 60° C durante 72 h para su posterior molienda en un molino de cuchillas (Ika-Werke modelo M20) y tamizado a través de una malla No. 20 (0.850 mm de apertura).

La inulina se extrajo de acuerdo a la metodología reportada por Leite Toneli, *et al.* (2007) con algunas modificaciones según la siguiente descripción, ilustrada en la Figura 6:

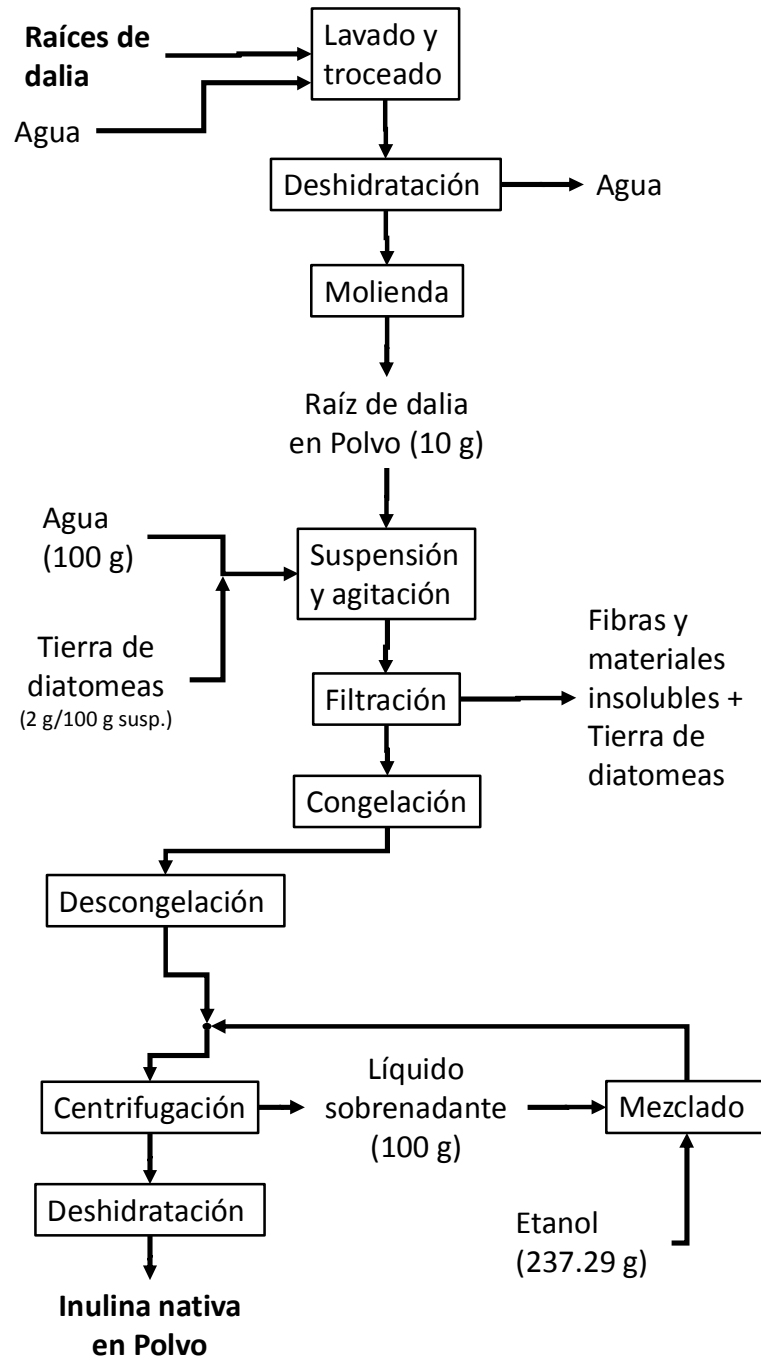


Figura 6. Diagrama general del proceso de extracción de inulina de las raíces de dalia.

Se realizó una suspensión del producto seco y molido en agua destilada a un pH de 7.0 con una proporción agua:raíz de 10:1, con agitación continua, a las temperaturas experimentales propuestas de 20, 60 y 80 ± 1°C durante 30, 45 y 60 min. Se agregó 0.2% de tierra de diatomeas para mejorar el proceso de filtración. Una vez transcurridos los períodos de extracción, la mezcla se filtró a través de papel Whatman número 2 con la ayuda de una bomba de vacío. El líquido filtrado se llevó a congelación a una temperatura de -20°C durante un periodo de 24 h, seguido de una descongelación a temperatura ambiente (18-20°C aproximadamente) procurando no agitar la suspensión durante este proceso. Finalmente, la suspensión obtenida se centrifugó en tubos de 50 ml a una velocidad de 3000 rpm durante 15 min y una temperatura de 4°C, mediante el uso de una centrifuga SOLBAT modelo C-600. El precipitado se deshidrató a 60°C durante 24 h. Al líquido sobrenadante se le agregó etanol absoluto (99.5% v/v) hasta lograr una concentración de etanol de 70% (esto implica 237.29 g de etanol absoluto por cada 100 g de sobrenadante) para precipitar algunas partículas de inulina dispersas y posteriormente se sometió a centrifugación y secado empleando los criterios antes descritos. El diseño experimental fue completamente al azar con arreglo bi-factorial, en el que el factor 1 era la temperatura, y el factor 2 el tiempo, ambos con los tres niveles descritos arriba y tres repeticiones.

Con la temperatura y tiempo que permitieron la mayor extracción de inulina nativa, se llevaron a cabo extracciones utilizando una metodología igual a la descrita en el párrafo anterior, ajustando el pH de la suspensión a valores de 8, 9 y 10 mediante una disolución de NaOH 1.0 N.

5.2. Efecto del cultivo de dalias silvestres sobre el contenido de inulina

Las muestras de raíces silvestres se colectaron el 22 y 23 de noviembre de 2013 en 6 localidades de 3 municipios del Estado de México, en México: Temascaltepec (Mesas de Arriba, Mina y Temascaltepec Centro) localizado a 1700 msnm, Atlacomulco (Cerro de la Campana y San Martín de los Manantiales) situado a 2550 msnm y Acambay (San Pedro de los Metates) localizado a 2600 msnm. Las colectas se realizaron a primeras horas de la mañana colectándose aproximadamente cinco kilogramos de raíz por ubicación. Una vez colectadas las raíces, se procedió inmediatamente al lavado de las mismas con agua corriente y jabón neutro para eliminar los restos de tierra y se secaron con tela de algodón. Una parte de las muestras colectadas fue deshidratada en una estufa de secado a 60°C durante 72 horas para su posterior molido y tamizado en una malla No. 20 (0.850 mm de apertura). La otra parte se refrigeró a 4 °C dentro de bolsas de papel hasta el momento de su análisis (no más de 4 días después). Durante la colecta de las raíces nativas, se colectaron también las semillas que fueron utilizadas para evaluar el efecto del cultivo.

Las raíces colectadas se transportaron a las instalaciones de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma del Estado de México, situada en el Campus Universitario ðEl Cerrilloö, ubicado en El Cerrillo Piedras Blancas municipio de Toluca, México. Las condiciones de esta ubicación son 99° 42'' W y 19° 14'' N con una altitud de 2640 msnm, presentando lluvias en verano y escasa precipitación pluvial en invierno (alrededor del 5%), poca oscilación térmica, temperatura media anual de 12.8 °C y precipitación promedio anual de 900 mm.

La siembra de las semillas colectadas se inició a finales del mes de abril de 2013 en charolas de germinación de 200 cavidades, utilizando como sustrato *Peat Moss* y *Agrolita* (1:1), el riego se

realizó a intervalos de 12 horas (inicio y final del día) mediante un nebulizador. Las charolas permanecieron durante un mes en invernadero donde las plántulas fueron seleccionadas para que tuvieran el mismo tiempo de germinación. Una vez transcurrido el tiempo señalado anteriormente, el número de semillas germinadas de la colecta de la localidad Mina fue escaso (3%), por lo que se decidió eliminarla del experimento. Una vez que las plántulas alcanzaron 10 cm de altura y contaron con cuatro hojas verdaderas, éstas fueron reubicadas y etiquetadas individualmente en bolsas de polietileno negro de 4 L, las cuales contenían una mezcla de tierra (30%), *Agrolita* (35%) y lombricomposta (35%) como sustrato.

El experimento se realizó a cielo abierto durante 90 días (19 Agosto - 19 Noviembre 2013) bajo condiciones de temporal y el diseño experimental consistió en un diseño completamente al azar con 10 repeticiones (cada repetición es igual a una bolsa), tomando como testigo al Clon 486, desarrollado en el Programa de Mejoramiento Genético en Dalia de la localidad de siembra ya mencionada.

Los fertilizantes utilizados fueron urea (46%), superfosfato de calcio triple (46%) y cloruro de potasio (60%). El tratamiento de fertilización utilizado fue de 30-30-20 el cual se aplicó en dos fases; la primera se realizó en el momento del trasplante a dosis de 15-30-20 y, una segunda a 15-00-00, una vez transcurrido la mitad del tiempo del trabajo experimental (45 días). La maleza se eliminó manualmente, tanto dentro de la bolsa como en los alrededores.

La cosecha se llevó a cabo de forma manual 90 días después del trasplante, cuando las plantas tenían en promedio 55 cm de altura e iniciaba la floración de las mismas. Inmediatamente después

de la cosecha, se separaron las raíces del resto de la planta y se lavaron con agua corriente para eliminar el excedente de tierra e impurezas y poder proceder a su análisis.

Tanto las muestras colectadas como las cultivadas se sometieron a las condiciones óptimas de extracción obtenidas en la sección 4.1 para posteriormente cuantificar el contenido de inulina extraída mediante el kit K-FRUC para la cuantificación de inulina nativa o fructanos (Megazyme International Ireland Limited) y el contenido de F_m mediante la metodología descrita por Ananón *et al.* (2009). Adicionalmente, se evaluó el contenido de fructosa y glucosa de acuerdo, también, a la metodología reportada por Ananón *et al.* (2009). Estos resultados se compararon con estándares comerciales de inulina de achicoria y de dalia (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA) cuya relación fructosa/glucosa especificada, para el caso de la achicoria, fue de 25 y con una muestra de inulina extraída del clon 486 perteneciente al Programa de Mejoramiento Genético en Dalia.

5.3. Elaboración de micropartículas de inulina dalia y su impregnación con un extracto de jamaica rico en antocianinas.

Para obtener los extractos se utilizaron cálices deshidratados de jamaica de la variedad criolla que fueron adquiridos en una cooperativa de productores de Jamaica ubicados en Chiautla de Tapia en el Estado de Puebla, México. Para la elaboración de las micropartículas se utilizó inulina de dalia comercial (Sigma-Aldrich) con viscosidad de 4500 a 8000cps.

Los cálices deshidratados de jamaica fueron molidos en un molino convencional y posteriormente tamizados en una malla 60 para obtener partículas entre 0.25 y 0.42mm. El extracto se realizó según la metodología propuesta por Chumsri (2007). Las partículas molidas del cáliz se suspendieron en

agua destilada en concentración 1:10, la dispersión se calentó a 50°C por 30 minutos y posteriormente por centrifugación (2000 rpm, 50g por 5 minutos) se separó la parte acuosa de los sólidos.

La inulina se pesó y se dispersó en el extracto de jamaica mencionado en los párrafos anteriores hasta obtener una concentración final de 3% (p/v). La dispersión obtenida se almacenó a 4°C por 15 h antes de ser utilizada con el objetivo de minimizar la proliferación de bacterias y al mismo tiempo tener una mejor hidratación e incorporación del material.

Para obtener las micropartículas impregnadas de extracto de jamaica se procedió de la siguiente manera: Se formaron películas delgadas vaciando 15g de la dispersión sobre una placa de 35.5cm² recubierta con Teflón® y posteriormente se secaron a 60°C por 6 horas en una estufa marca *Precision*. Las películas deshidratadas se cortaron en piezas de 1 mm² y un peso de 1.0 mg aproximadamente y se almacenaron en recipientes cerrados en ausencia de luz hasta su utilización.

5.4. Cinética de liberación de antocianinas impregnadas en la matriz de inulina de dalia.

Una cantidad de 0.1 g de partículas deshidratadas e impregnadas se colocó dentro de un matraz Erlenmeyer que contenía 50 mL de una solución al 0.93% de NaCl en agitación a 37°C. Se realizaron muestreos (tomando 2 ml de la solución salina y depositándolos en una cubeta espectrofotométrica), con reposición del medio salino, cada 1, 2, 30 y 60 minutos. Posteriormente cada 60 minutos, hasta completar 480 minutos. El color liberado en el medio salino (absorbancia) fue medido en un espectrofotómetro UV-Vis (10S Genesys UV-Vis Thermo Spectronic) Thermo

Spectronic a una longitud de onda de 520 nm. Paralelamente, para evaluar la actividad antioxidante y medir la liberación total de polifenoles, se realizó el mismo experimento: se recogieron 300 l de muestras del medio de liberación a intervalos regulares (1, 15, 30, 60, 240 y 480 min). Los polifenoles totales liberados se estimaron como equivalentes de ácido gálico (mg GAE ml⁻¹) mediante una metodología ajustada reportada por Dastmalchi et al. (2007). Para la calibración se utilizó una solución acuosa de ácido gálico en el intervalo de 0,01-0,1 mg mL⁻¹. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado y los datos obtenidos fueron procesados en el programa STATGRAPHICS Ver. 6.0

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Advertencia

La mayor parte de resultados que se presentan a continuación fue publicada en el siguiente artículo:

Santana Legorreta, S.; Villanueva-Carvajal, A.; Morales-Rosales, EJ; Laguna-Cerda, A.; Dominguez-Lopez, A. (2016). Extracción y evaluación de inulina a partir de dalias silvestres mexicanas (*Dahlia coccinea* Cav.). *Phyton-International Journal of Experimental Botany*, 85, 63-70.

Una copia de este artículo, tal como ha sido publicada se muestra en el Anexo 1.

La Revista Internacional de Botánica Experimental (*Phyton*) se encuentra indexada en el Journal Citations Report, entre otros índices bibliométricos (Anexo 2).

6.2. Extracción de inulina nativa

La Figura 7 muestra el efecto de la temperatura y el tiempo de maceración de las raíces de dalia deshidratadas y pulverizadas sobre la eficiencia en la extracción de inulina nativa. En esta gráfica se observa que a medida que ambos factores aumentan, la cantidad de inulina recuperada fue significativamente mayor. Esto se confirma con el análisis de varianza reportado en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Análisis de varianza del efecto de la temperatura y el tiempo sobre la extracción de inulina nativa de las raíces de dalia.

| Fuente de variación | Suma de Cuadrados | Grados de Libertad | Cuadrados Medios | F calculado | p |
|---------------------|-------------------|--------------------|------------------|-------------|-------|
| Temperatura (A) | 3745.106 | 2 | 1872.553 | 310.969 | 0.000 |
| Tiempo (B) | 59.781 | 2 | 29.890 | 4.964 | 0.019 |
| A * B | 20.073 | 4 | 5.018 | 0.833 | 0.521 |
| Error experimental | 108.390 | 18 | 6.022 | | |
| Total | 3933.350 | 26 | | | |

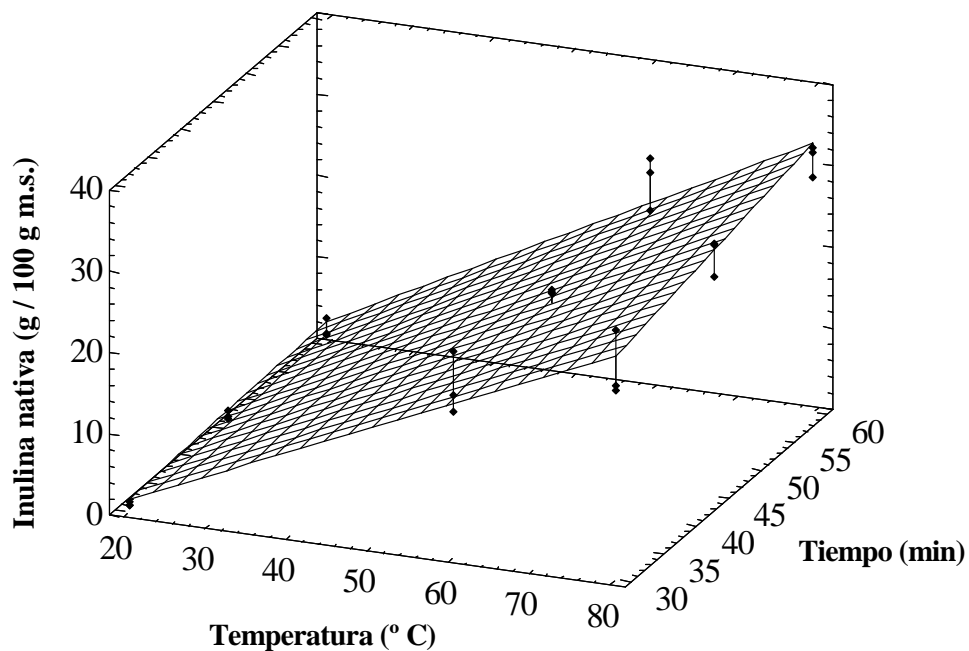


Figura 7. Efecto de la temperatura y el tiempo sobre la cantidad de inulina nativa extraída de las raíces de dalia.

De acuerdo con el Cuadro 7, la temperatura y, en menor medida, el tiempo producen un efecto significativo sobre dicha extracción ($p < 0.05$), pero no la interacción temperatura-tiempo ($p > 0.05$). De acuerdo con estos resultados, la mayor cantidad de este prebiótico se obtuvo a una

temperatura de 80° C, durante 60 min de agitación. A esta temperatura y tiempo de maceración se evaluó el efecto del pH de la solución acuosa. Lingyun *et al.* (2006) evaluaron el efecto de la temperatura y tiempo de maceración en la extracción de inulina de alcachofa de Jerusalén obteniendo los mejores resultados (82.2% de extracción) a una temperatura de 75°C y 20 minutos.

El efecto del pH en este reporte no fue significativo (Figura 8). No se encontraron otros reportes que mostraran el efecto del pH en la extracción de inulina de algún otro origen. Los resultados del presente estudio indican que el pH no ejerce una diferencia significativa en la extracción, por lo que concuerdan con los resultados reportados por Lingyun *et al.* (2006). Dado lo anterior, se utilizó una temperatura de 80°C durante 60 min en soluciones acuosas a pH igual a 9.0, para la extracción de inulina de las raíces silvestres y cultivadas.

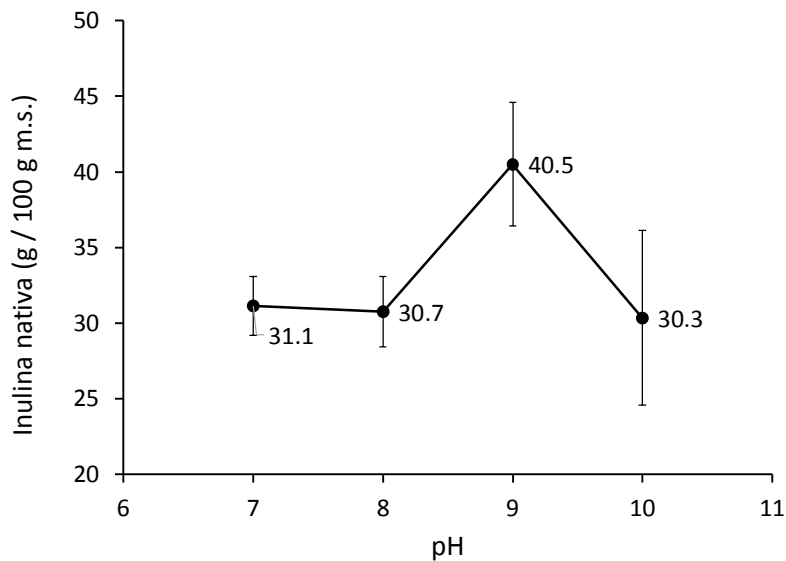


Figura 8. Efecto del pH de la solución acuosa sobre la extracción de inulina nativa de raíces de dalia.

6.3. Contenido de inulina de dalias silvestres y cultivadas

En el Cuadro 8 se reporta el contenido de inulina nativa, fructanos (F_m), glucosa y fructosa en raíces de dalia silvestre y cultivada obtenidas de diferentes localidades. En las colectas silvestres se encontró un contenido de inulina y F_m que varió de 23.9 a 42.5 y 19.6 a 27.9 g/100 g M. S., respectivamente. Cuando estas colectas se sometieron a cultivo, ambos polímeros aumentaron significativamente su contenido con una variación de 38.0 a 73.1 y 25.7 a 45.2 g/100 g M. S., respectivamente (la materia seca varió de 18 a 33 g/100 g de raíz fresca).

Cuadro 8. Contenido de fructanos (F_m), inulina nativa, glucosa y fructosa en raíces de dalia silvestre y cultivada de diferentes localidades.

| Localidad | Colecta | F_m^a | Inulina nativa ^a | Fructosa ^b | Glucosa ^b |
|-------------------|-----------|----------|-----------------------------|-----------------------|----------------------|
| Acambay | Silvestre | 26.5±0.5 | 40.7±0.9 | 89.5±1.1 | 9.9±1.1 |
| El Cerro | Silvestre | 27.9±0.6 | 42.5±0.8 | 79.6±4.0 | 19.1±4.1 |
| San Martín | Silvestre | 22.4±1.2 | 34.4±2.0 | 82.5±0.7 | 17.0±0.7 |
| Las Mesas | Silvestre | 19.6±0.6 | 32.0±2.5 | 90.4±0.6 | 9.3±0.3 |
| Temascaltepec | Silvestre | 23.2±1.3 | 33.7±0.6 | 93.5±0.9 | 6.3±0.8 |
| La Mina | Silvestre | - | 37.2±1.5 | 91.6±1.1 | 8.4±1.1 |
| El Cerrillo | Cultivada | - | 23.9±1.4 | 86.3±0.6 | 11.8±1.5 |
| Acambay | Cultivada | 33.3±2.5 | 52.1±0.4 | 66.8±0.6 | 33.0±0.4 |
| El Cerro | Cultivada | 31.1±0.8 | 45.8±1.0 | 68.8±0.0 | 31.0±0.3 |
| San Martín | Cultivada | 25.7±5.3 | 40.5±7.6 | 71.2±0.3 | 28.4±0.4 |
| Las Mesas | Cultivada | 45.2±3.5 | 73.1±5.1 | 61.5±1.1 | 38.3±1.0 |
| Temascaltepec | Cultivada | 28.2±0.9 | 38.0±0.4 | 83.5±1.2 | 15.8±1.2 |
| Inulina Achicoria | Comercial | 0.0 | 100 | 94.8±1.0 | 4.6±1.0 |
| Inulina Dalia | Comercial | 0.0 | 100 | 90.9±0.2 | 8.6±0.9 |

a: Concentración en g /100 g de materia seca.

b: Concentración en g /100 g de inulina nativa.

Después de determinar la cantidad de glucosa y fructosa que componen la inulina y los fructanos de las raíces de dalia (Cuadro 8), se obtuvo una relación fructosa/glucosa como un indicador del grado de polimerización (GP) de estos compuestos, de tal manera que un valor elevado de esta

relación indica una inulina formada por una cadena de monómeros más larga y viceversa. Madrigal y Sangronis (2007) reportaron, en este sentido, que las cadenas de fructosa de la inulina tienen la particularidad de terminar en una molécula de glucosa unida por un enlace β -(1,2) (residuo β -Dglucopiranosil), tal como en la sacarosa. Con fines comparativos y de validación de los resultados experimentales, se obtuvo el GP de inulina comercial de achicoria y de dalia a través de la determinación de su concentración de glucosa y fructosa y su consecuente relación fructosa/glucosa (Tabla 2). En el caso de la inulina de achicoria se obtuvo un grado de polimerización de alrededor de 21 (cerca de la especificación del fabricante) y en la inulina de dalia éste fue de 11. Beirao-Da-Costa, *et al.* (2005) obtuvieron inulina de achicoria con un grado de polimerización de 24 a partir de una relación 96/4 de fructosa/glucosa (inulina no comercial). No obstante, también Madrigal y Sangronis (2007) reportaron que la inulina de achicoria presenta un grado de polimerización que va de 2 a 60. En el caso de la dalia, Mitchell y Mitchell (1995) mencionan la importancia del grado de polimerización e indican que en el caso particular de este cultivo, un grado de polimerización entre 16-40 es el óptimo para evitar hidrólisis a nivel gástrico facilitando, a su vez, la asimilación por parte de bacterias intestinales. Los resultados obtenidos en el presente estudio sugieren que es posible controlar el grado de polimerización de la inulina de dalia mediante la modulación de las condiciones ecofisiológicas del cultivo, logrando polímeros con largo de cadena que se ajuste a aplicaciones específicas.

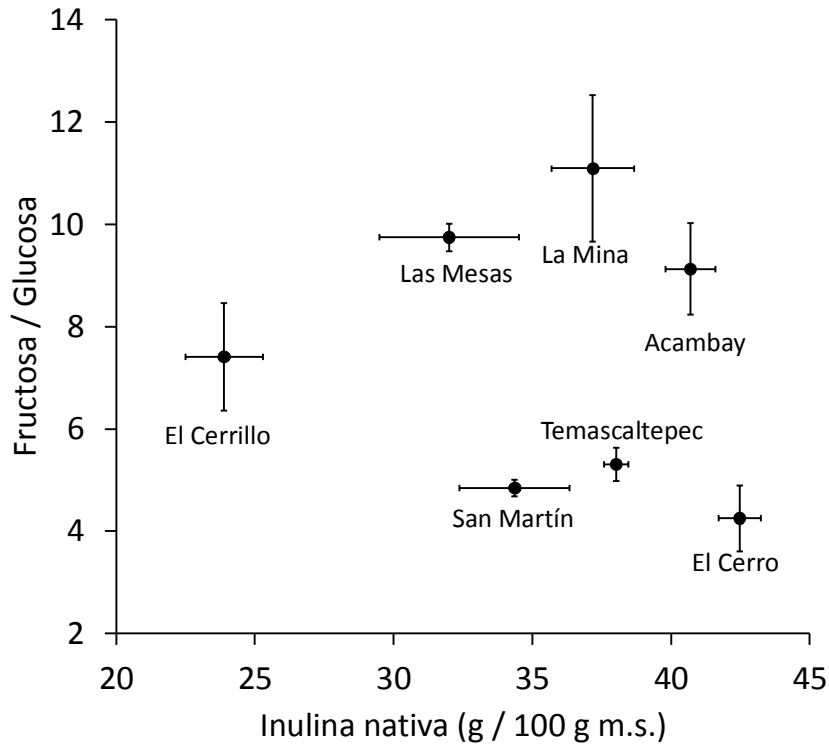


Figura 9. Contenido de inulina nativa y su relación Fructosa/Glucosa en raíces de dalias silvestres (valores promedio $\pm 1 \sigma$, representada por las barras horizontal y vertical).

La Figura 9 muestra el contenido de inulina nativa y su relación fructosa/glucosa en raíces de dalias silvestres confirmando la variabilidad observada, y previamente discutida, según la localidad en donde se recolectaron. Como se puede observar en esta figura, las líneas horizontal y vertical indican la variabilidad encontrada en una localidad determinada en cuanto a la concentración de inulina nativa y su grado de polimerización. Así, en los ejemplares de algunas colectas se encontraron concentraciones elevadas de inulina nativa, como en el caso de las provenientes de la localidad de El Cerro o Acambay o un alto grado de polimerización como en el caso de La Mina. Los ejemplares de la localidad de Temascaltepec presentaron poca variabilidad tanto en

la concentración de inulina nativa como en su grado de polimerización, al contrario de La Mina y El Cerrillo. Por su parte, San Martín y Las Mesas presentaron alta variabilidad sólo en el contenido de inulina nativa. En todos los casos, las condiciones de desarrollo de las plantas de dalia (edad, variaciones climáticas, disponibilidad de agua, etc.) y su consecuente síntesis de inulina en la raíz resultan desconocidas puesto que se recolectaron en su ambiente natural. La Figura 9 demuestra, entonces, la existencia de variabilidad en cuanto a la concentración y polimerización de la inulina, la cual se infiere que depende de factores tanto genéticos como fisiológicos y ambientales. Meijer *et al.* (1993) estudiaron estos aspectos en variedades de alcachofa de Jerusalén y achicoria y reportaron que ambas especies son sensibles a la disponibilidad de agua: un suministro elevado de agua siempre induce un aumento en el rendimiento de raíces y tubérculos, pero esto afecta negativamente el rendimiento de azúcares debido al decremento en la capacidad de acumulación en estos órganos de almacenamiento. Por otra parte, el rendimiento de tubérculos también está fuertemente afectado por la senescencia de las hojas, por la relación entre la materia seca del tallo y la inulina almacenada temporalmente en el mismo, con la expansión prematura de las hojas y la relación entre el número de brotes y el número de raíces y con las bajas temperaturas durante la estación seca en regiones tropicales (Kocsis *et al.*, 2007).

Como se observa en la Figura 10A, cuando las dalias silvestres fueron cultivadas, en todos los casos se observó un mayor contenido de inulina, pero la relación Fructosa/Glucosa disminuyó significativamente. Esto sugiere que el proceso de cultivo genera en la raíz de la dalia mayor contenido de compuestos prebióticos, pero de cadena más corta; así mismo. La Figura 10B muestra el efecto del cultivo sobre el contenido de inulina nativa y la relación Fructosa/Glucosa de las raíces de las dalias recolectadas y demuestra que este efecto fue diferente según la localidad de origen de

estas plantas. Así, por ejemplo, en el caso de las dalias originarias de la localidad òLas Mesasö se observó que el cultivo produjo la concentración más alta de inulina nativa, pero la longitud más corta de su cadena de fructosas, es decir el menor grado de polimerización. En el caso de los ejemplares provenientes de la localidad òEl Cerroö el cultivo produjo los efectos menos drásticos, esto es, se obtuvieron los menores incrementos de inulina nativa y la menor disminución del grado de polimerización. Antecedentes similares han sido reportados para alcachofa de Jerusalem (Ben Chekroun, *et al.* 1994), encontrando una máxima acumulación de carbohidratos polimerizados al término del crecimiento y antes de la floración. Otros factores agroclimáticos, podrían ser determinantes en la producción de inulina y fructanos, tal es el caso de la temperatura del año de cultivo y el fotoperiodo. Respecto de estos últimos factores, Lachman, *et al.* (2004) concluyeron, en el caso del yacón, que una alta temperatura en el año, así como una elevada cantidad de horas sol incrementaron la conversión de inulina en sacarosa y Legnani y Miller (2001) reportaron que fotoperiodos cortos promueven la acumulación de fructanos en raíces de dalia. Dado lo anterior, el estudio sobre la producción de polímeros de fructosa y, particularmente de inulina de dalia, es objeto de estudio agronómico, el cual puede ser dirigido para potenciar el uso de este polímero natural.

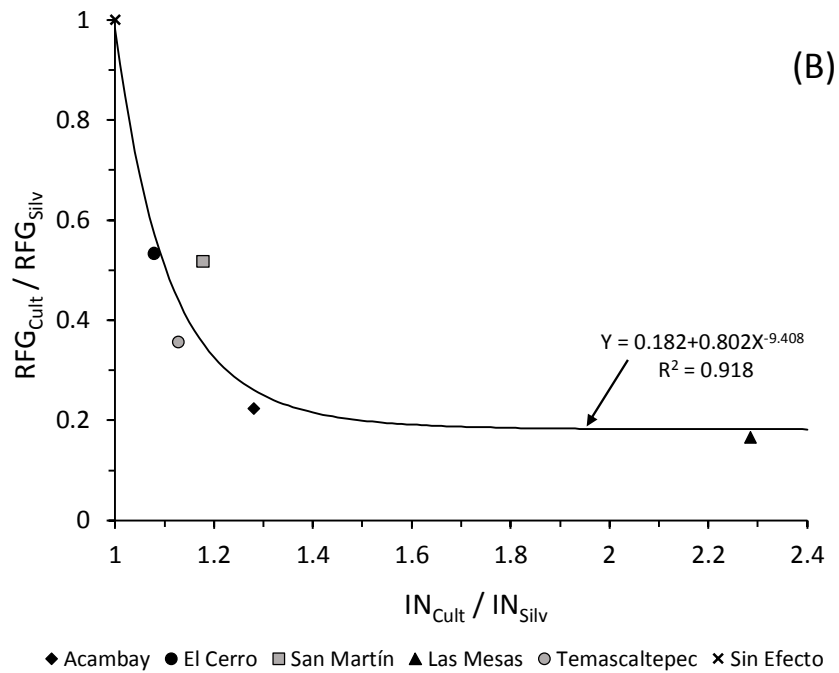
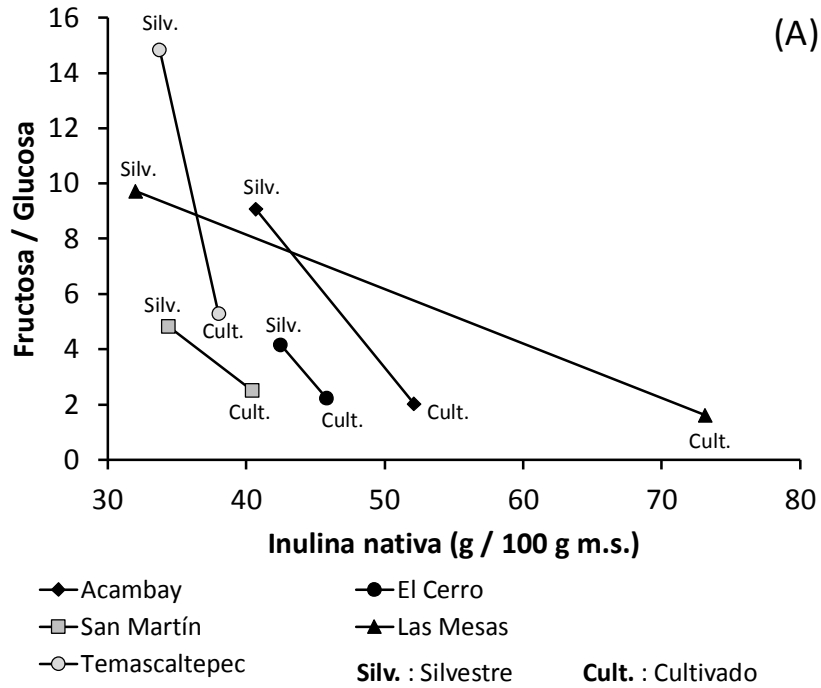


Figura 10. A) Efecto del cultivo sobre el contenido de inulina nativa y su relación Fructosa/Glucosa en raíces de dalias silvestres. B) Contenido relativo de inulina nativa (IN_{Cult} / IN_{Silv}) vs Relación glucosa/fructosa relativa en raíces de dalia (RFG_{Cult} / RFG_{Silv}).

6.4. Cinética de liberación de antocianinas impregnadas en la matriz de inulina de dalia

Las partículas obtenidas de la mezcla inulina-extracto de jamaica se suspendieron en una solución acuosa isotónica y después se mantuvieron bajo ligera agitación. A intervalos regulares, se determinó la ganancia de peso de estas películas y se midió la evolución de la absorbancia de la solución isotónica y del contenido de polifenoles totales. La figura 11 muestra el perfil de liberación teóricamente predicho (según el modelo descrito a continuación) y verificado experimentalmente de las películas mediante el control de la absorbancia de la solución isotónica. Con el fin de obtener parámetros cinéticos que resumen la liberación de polifenoles desde un tiempo cero a un estado estacionario, los datos observados se correlacionaron con un modelo cinético de primer orden (Ecuación 1). Usando este modelo, se obtuvieron dos coeficientes: una constante de velocidad, k , y un valor máximo, $[A]_0$. (Aumento de la absorbancia, polifenoles liberados en tiempo infinito, es decir cuando se alcanza el equilibrio). Por lo tanto, el valor $[B]$ representa la absorbancia (polifenoles liberados) en el tiempo t .

$$[B] = [A]_0(1 - e^{-kt}) \quad (1)$$

El aumento de la absorbancia de la solución isotónica a lo largo del tiempo fue descrito adecuadamente por la Ecuación 1 y la Figura 11 muestra el modelo de ajuste con líneas limitadas por un intervalo de confianza del 95%. De acuerdo con el modelo de la Ecuación 1, los valores de las constantes $[A]_0$ y k fueron $0.4166 (\pm 0.0029)$ y $0.0148 (\pm 0.0005)$, respectivamente. El valor de la primera constante se observó aproximadamente a los 480 min, lo que significa que la liberación

máxima o total de antocianinas de jamaica en la solución se logró aproximadamente a las 8 horas, con lo que se puede concluir que este antioxidante fue adecuadamente encapsulado en la inulina.

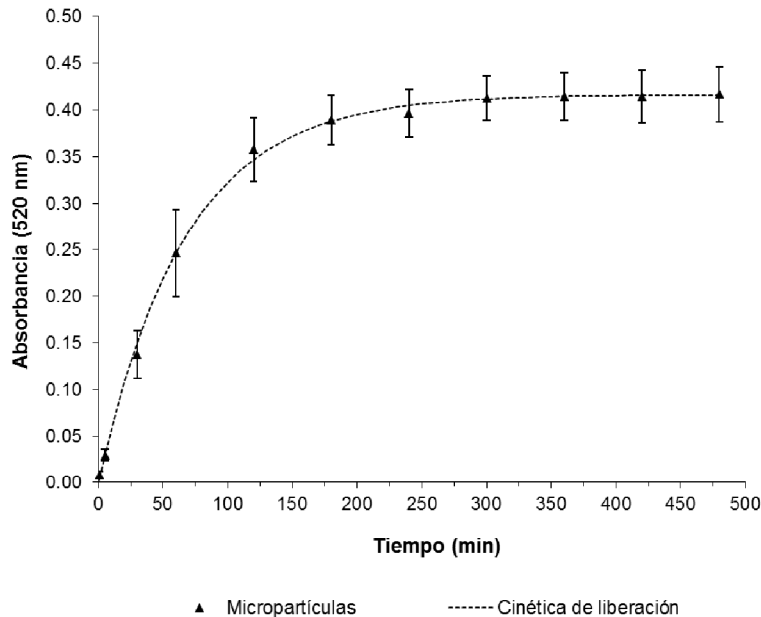


Figura 11. Cinética de liberación de absorbancia de la solución isotónica de la mezcla inulina-extracto de jamaica.

El aumento de los polifenoles liberados (p) a la solución isotónica en el tiempo siguió una tendencia semejante al aumento de la absorbancia (A). Cuando se trazaron las observaciones experimentales de absorbancia frente a las de los polifenoles, se obtuvieron correlaciones lineales altamente significativas ($R^2 = 0.986$) que se describen por la ecuación: $A = 13.58p - 0.1266$.

La alta correlación obtenida muestra que, como se esperaba, el aumento de la absorbancia se debió a la incorporación de polifenoles en la solución isotónica.

VII. CONCLUSIONES

La temperatura y el tiempo de maceración de raíces tuberosas de dalia producen un efecto significativo sobre la extracción de inulina y fructanos, siendo la combinación de extracción óptima 80°C durante 60 minutos. Respecto del pH, su influencia resultó no significativa para este mismo propósito. Por otro lado, el cultivo de las dalias silvestres aumenta, de manera significativa, el contenido de inulina y fructanos de las raíces, aunque la relación fructosa/glucosa, relacionada con el largo de la cadena polimérica, disminuye. Si se asume que las plantas silvestres presentaban una edad de sus raíces superior a las cultivadas, los resultados de este estudio sugerirían que en la medida que las raíces van envejeciendo acumulan reservas bajo la forma de inulinas y fructanos de cadena más larga. Es necesario estudiar este aspecto de manera experimental. También, se hace necesario conocer y valorar la influencia de las condiciones agroclimáticas en la producción y polimerización de los derivados de la sacarosa, fructanos e inulina, encontrados en la raíz de dalia con el fin de controlar el largo de la cadena polimérica. De esta manera, sería posible obtener fructanos e inulina con características particulares (con grados de polimerización controlados) decidiendo la época de cosecha y las condiciones del cultivo.

El cáliz de la jamaica tiene un contenido elevado de compuestos fenólicos. En este trabajo se evaluó la liberación de estos compuestos previamente encapsulados en inulina de dalia. La liberación de polifenoles encapsulados en este polímero natural en la solución isotónica sigue una cinética de primer orden con una constante de velocidad (basada en la absorbancia del medio isotónico) de 0.0148 unidades por minuto y una liberación máxima de 0.4166 unidades de absorbancia que se observaron a las 8 horas de permanencia de las partículas en una solución isotónica. Esto significa

que la inulina es un agente encapsulante afín a las antocianinas de jamaica que podría retener hasta por 8 horas este compuesto antioxidante o, en otras palabras, liberarlos de manera controlada.

VIII. AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México, por financiar los estudios de postgrado de Sergio Santana Legorreta. A la Universidad Autónoma del Estado de México por el apoyo en recursos humanos e instalaciones.

XIX. BIBLIOGRAFÍA

- Ananón, N.A., O.A. Andreeva, L.P. Mycots y E.T. Oganessian. 2009. Standardization of inulin extracted from Dahlia single tubers and some physicochemical properties of inulin. *Pharmaceutical Chemistry Journal* 43: 157-159.
- Aragon L, Alarcón J, Cardarelli H, Chiu M, Isay S. 2007. Potentially probiotic and symbiotic chocolate mousse. *Food Science and Technology*, 40, 669-675.
- Arenas, J. Y. R., R. Delgado-Martinez, E.J. Morales-Rosales, A. Laguna-Cerda, O. Franco-Mora y E. Urbina-Sánchez. 2011. Tuberous root yield of *Dahlia variabilis* Wild .Desf. under different agronomic management practices. *Phyton-International Journal of Experimental Botany*, 80, 107-112.
- Barclay, T., Ginic-Markovic, M., Cooper, P., y Petrovsky, N. 2010. Inulin: A versatile polysaccharide with multiple pharmaceutical and food chemical uses. *Journal of Excipients and Food Chemicals*, 1, 27-50.
- Barclay, T., Ginic-Markovic, M., Johnston, M. R., Cooper, P. D., y Petrovsky, N. 2012. Analysis of the hydrolysis of inulin using real time H-1 NMR spectroscopy. *Carbohydrate Research*, 352, 1176125.
- Beirao-Da-Costa, M.L., M.I. Janeiro, F.M.S. Simao y A.E.B. Leitao. 2005. Characterisation of inulin from chicory and salsifí cultivated in Portugal. *Alimentos e Nutrição, Araraquara* 16: 3, 221-225.
- Ben Chekroun, M., J. Amzile, M. Yachioui, N.E. El Haloui y N.E. Prevost. 1994. Qualitative and quantitative development of carbohydrate reserves during the biological cycle of Jerusalem artichoke *.Helianthus tuberosus* L. tubers. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 22, 31-37.
- Biedrzycka E, Bielecka M. 2004. Prebiotic effectiveness of fructans of different degrees of polymerization. *Trends Food Sciences and Technology*, 15, 170-175.
- Bosscher, D. 2009. Fructan Prebiotics Derived from Inulin. *In: Charalampopoulos, D. y Rastall, R.A. .eds. p. 163-205. Prebiotics and Probiotics Science and Technology. Springer-Verlag New York. DOI: 10.1007/978-0-387-79058-9_6.*
- Brennam C, Kuri V, Tudorica C. 2004. Inulin-enriched pasta: effects on textural properties and starch degradation. *Food Chemistry*, 86, 189-193.
- Camire M., Cho S., Craig S., Devrie J., Gordon D, Jones J, Li B, Lineback D, Prosky L, Tunland B. 2001. The definition of dietary fiber. *Cereal Foods World*, 46, 112-126.

- Castro-Castro, A., A. Rodríguez, G. Vargas-Amado y M. Harker. 2012. Diversidad del género *Dahlia* .Asteraceae: Coreopsidae. en Jalisco, México y descripción de una especie nueva. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 83, 347-358.
- Cavanilles A. J. *Icones et Descriptiones. Plantarum* 1: 57, 1791.
- erný, I., V. Pa utá y M. Kovár. 2008. Yield and quality of chicory .*Cichorium intybus* L. in dependence on variety and foliar application of atonik and polybor 150. *Journal of Central European Agriculture* 9: 425-430.
- Chumsri, P.; Sirichote, A; Itharat, A. 2008. Studies on the optimum conditions for the extraction and concentration of roselle .*Hibiscus Sabdariffa* Linn. extract. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 30, 133-139.
- Coussement P. 1999. Inulin and Oligofructosa: safe intakes and legal status. *Journal of Nutrition*, 129, 1412-1417.
- Cummings, J. H., Macfarlane, G. T., y Englyst, H. N. 2001. Prebiotic digestion and fermentation. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73, 415S-420S.
- De Bruyn A., Álvarez A.P., Sandra P., Deleenheer L. 1992. Isolation and identification of b-D-fructosyl-.2, 1.-D-fructose, a product of the enzymatic hydrolysis of the inulin from *Chicorium intybus*. *Carbohydr. Res.* 235: 303-308.
- De La Cruz, M; J. Badiano.1964. *Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis*. México, D.F. Instituto Mexicano del Seguro Social. 394 p.
- Dastmalchi, K.; Dorman, D.; Kosar, M.; Hiltunen, R. 2007. Chemical composition and in vitro antioxidant evaluation of a water-soluble Moldavian balm .*Dracocephalum moldavica* L. extract. *LWT-Food Science and Technology*, 40, 239-248.
- Everett, T. H. 1981. *The New York Botanical Garden, Illustrated Encyclopedia of Horticulture*. Vol. 3. New York, Garland Publishing, Inc. pp. 1 000-1 003.
- Farr, D. F., Bills, G. F., Chamuris, G. P. And A. Y. Roosman. 1989. *Fungi on plants and plant products in the United States*. St. Paul, Minnesota, American Phytopathological Society. 1 252 pp.
- Flamm, G., Glinsmann, W., Kritchevsky, D., Prosky, L., y Roberfroid, M. 2001. Inulin and oligofructose as dietary fiber: A review of the evidence. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 41, 353-362.
- Flickinger E, Van Loo J, Fahey G. 2003. Nutritional responses to the presence of inulin and oligofructose in the diet of domesticated animals: A review. *Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition*, 43, 19-60.

- Franck A. 2006. Inulin. En: Food Polysaccharides and Their Applications. Stephen A. .Editor. Segunda Edición. Nueva York, USA: Marcel Dekker. 733 pp.
- Franck, A. 2002. Technological functionality of inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*, 87, 287-291.
- Franck, A., y De Leenheer, L. 2005. Inulin. *Biopolymers online*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH y Co. KGaA.
- Garzón, S. C.; Mejía, M. J.; Trejo, C. R.; Gómez, L. F.; Espinosa F. A. y Sánchez A. C. 2008. Fenología de dalia campanulata .*Dahlia campanulata* saar.: nueva especie para la horticultura ornamental *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*, 8,18-24
- Gibson G.R., Roberfroid M.B., 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota ó Introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, 125, 1401-1412.
- Gibson, G.R., E.R. Beatty y J. Cummings. 1995. Selective fermentation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology*, 108, 975-982.
- Grasso, R., A. Muguero, J. Ferratto, M.C. Mondino y A. Longo. 2004. Efecto de la época y de la densidad de plantación sobre la productividad del tomate .*Lycopersicon esculentum* Mill. bajo invernadero. *Revista Ciencias Agrarias*, 3, 7-11.
- Greger Kelly, J. 1999. Nondigestible carbohydrates and mineral bioavailability. *Journal of Nutrition*, 129, 1434-1435.
- Guarner F. 2007. Studies with Inulin-Type Fructans on Intestinal Infections, Permeability, and inflammation. *Journal of Nutrition*, 137, 2568S-2571.
- Hansen H. V., J. P. Hjerting. 2000. The early history of the domestication of Dahlia .*Asteraceae, Heliantheae*. with emphasis on the period 1791ó1836 including observations on taxonomy, chromosome numbers, biochemistry, biosystematics, ray colour inheritance, and ray colour designation within the genus: The Botanical Garden. University of Copenhagen, Denmark.
- Hernández, F. *Historia de las plantas de la Nueva España*. 3 Vols. México, 1946, D.F.
- Huebner, J., R.L. Wehling y R.W. Hutkins. 2007. Functional activity of commercial prebiotics. *International Dairy Journal*, 17, 770-775.
- Hussein H, Flickinger E, Fahey G. 1999. Petfood applications of inulin and oligofructose. *Journal of Nutrition*, 129, 1454-1456.
- Incoll LD, Bonnett GD. 1993. The occurrence of fructan in food plants. In, Fuchs A .ed. *Inulin and inulin containing crops*. Elsevier Science, Amsterdam, p. 309
- Johansen F. 2003. Toxicological profile of carboxymethyl inulin. *Food Chem Toxicol*; 41, 49-59.

- Judprasong, K., Tanjor, S., Puwastien, P., y Sungpuag, P. 2011. Investigation of Thai plants for potential sources of inulin-type fructans. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24, 642-649.
- Kim Y, Faqih M, Wang S. 2001. Factor affecting gel formation of inulin. *Carbohydrate Polymers*, 46, 135-145.
- Kip P, Meyer D, Jellema R. 2005. Inulin improve sensoric and textural properties of low fat yogurts. *Int Dairy J*; 16, 1098- 1103.
- Kocsis, L., P. Liebhard y W. Praznik. 2007. Effect of seasonal changes on content and profile of soluble carbohydrates in tubers of different varieties of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 9401-9408.
- Kolida S, Gibson GR. 2007. Prebiotic Capacity of Inulin-Type Fructans. *Journal of Nutrition*, 137, 2503S-2506.
- Lachman, J., B. Havrland, E.C. Fernández y J. Dudjak. 2004. Saccharides of yacon [*Smallanthus sonchifolius* Poepp. et Endl. H. Robinson] tubers and rhizomes and factors affecting their content. *Plant Soil Environment* 50, 383-390.
- Laguna, C.A. y G.E. Archundia. 2004. Evaluación de la productividad de raíces tuberosas de dalia para la obtención de inulina. Coloquio de Investigación, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México, 58 p.
- Laparra, J. M., Tako, E., Glahn, R. P., y Miller, D. D. 2008. Supplemental inulin does not enhance iron bioavailability to Caco-2 cells from milk- or soy-based, probiotic-containing, yogurts but incubation at 37 °C does. *Food Chemistry*, 109, 1226-1228.
- Lawrence, W.J.C. 1970., The evolution and history of the dahlia, *National Dahlia Society* 1970, Leamington, Ca., pp.16-24.
- Legnani, G. y Miller, B.W. 2001. Short photoperiods induce fructan accumulation and tuberous root development in Dahlia seedlings. *New Phytologist* 149, 449-454.
- Leite Toneli, J.T.C., F.E.S. Mürr, P. Martinelli, I.M. Dal Fabbro y K.J. Park. 2007. Optimization of a physical concentration process for inulin. *Journal of Food Engineering* 80, 832-838.
- Lindsay JO, Wlielan K, Stagg AJ, et al. 2006. Clinical, microbiological, and immunological effects of fructooligosaccharide in patients with Crohn's disease. *Gut*, 55, 348-355.
- Lingyun, W., W. Jianhua, Z. Xiaodong, T. Da, Y. Yalin, C. Chenggang, F. Tianhua y Z. Fan. 2007. Studies on the extracting technical conditions of inulin from Jerusalem artichoke tubers. *Journal of Food Engineering* 79, 1087-1093.
- Logan, A. E., Zettler, F. W., Christie S. R. 1988. Susceptibility of *Ageratum*, *Dahlia*, *Rudbeckia*, and other bedding plants to *Bidens Mottle Virus*. *Plant Disease* 72, 260-262.

- López-Molina, D., M.D. Navarro-Martínez, F. Rojas Melgarejo, A.N.P. Hiner, S. Chazarra y J.N. Rodríguez-López, J.N. 2005. Molecular properties and prebiotic effect of inulin obtained from artichoke *Cynara scolymus* L.. *Phytochemistry* 66, 1476-1484.
- Madrigal, L. y E. Sangronis. .2007. La inulina y derivados como ingredientes claves en alimentos funcionales. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 57, 387-396.
- Martiñon, A. 1998. caracterización química de cuatro especies de Dahlia, por medio de isoenzimas, carbohidratos y fenoles. Tesis profesional. Universidad autónoma chapingo, México.
- Matías, J., J. González, J. Cabanillas y L. Royano. 2013. Influence of NPK fertilisation and harvest date on agronomic performance of Jerusalem artichoke crop in the Guadiana Basin .Southwestern Spain. *Industrial Crops and Products* 48, 191-197.
- Matusek, A., Meresz, P., Le, T. K. D., y Oersi, F. 2009. Effect of temperature and pH on the degradation of fructo-oligosaccharides. *European Food Research and Technology*, 228, 3556365.
- Meijer, W.J.M., E.W.J.M. Mathijssen y G.E.L. Borm. 1993. Crop Characteristics and Inulin Production of Jerusalem Artichoke and Chicory. *Studies in Plant Science*, 3, 29-38.
- Mejía M.J.M. 2003., *Dalias arbustivas de México*, en M. Mejía Muñoz, y A. Espinosa Flores .comps., *Plantas Nativas de México con Potencial Ornamental, Análisis y Perspectivas*, México, Universidad Autónoma Chapingo, pp. 81-88
- Mera-Ovando, L. M. y R.B. Boettler. 2006. La Dahlia una belleza originaria de México. *Revista Digital Universitaria* 7, 1-11. <http://www.revista.unam.mx/vol.7/num11/art90/int90.htm>.
- Milani, E., Koocheki, A. y Golimovahhed, Q. Ali. 2011. Extraction of inulin from Burdock root. *Arctium lappa*. using high intensity ultrasound. *International Journal of Food Science and Technology*, 46, 169961704
- Mitchell, Ch.R. y P.R. Mitchell. 1995. Evaporative concentration to adjust degree of polymerization of pressed and assayed juice having cold water solubility and free from sesquiterpene lactones. Instant dried dahlia inulin juice and its method of production and usage. United States Patent Number: US5422346 A.
- Morris, C., y Morris, G. A. 2012. The effect of inulin and fructo-oligosaccharides supplementation on the textural, rheological and sensory properties of bread and their role in weight management: A review. *Food Chemistry*, 133, 2376248.
- Moscato J, Borsato D, Bona E, De Oliveira A, De Oliveira M. 2006. The optimization of the formulation for a chocolate cake containing inulin and yacon meal. *Int J Food Sci Technol*; 41, 181-188.
- Niness K. 1991. Inulin and oligofructose: what are they?. *Journal of Nutrition*,; 129, 1402-1406.

- O'Brien C, Mueller A, Scannell A, Arendt E. 2003. Evaluation of the effects of fat replacers on the quality of wheat bread. *J Food Eng*, 56, 265-267.
- Oliveros L, Moreno J. Prebióticos en formulas infantiles. *Anal Pediatr*. 2006; 4, 20-29.
- Reyes, J.; C. Brachet; J. Pérez; y A. Gutiérrez. 2004. Cactáceas y otras plantas nativas de la Cañada de Cuicatlán, Oaxaca. CFE., SMC., IBUNAM., CNANP., CUICATLAN A. C. 47p.
- Roberfroid M, Cumps J, Devogelaer J. 2002. Dietary chicory inulin increases whole-body mineral density in growing male rats. *Journal of Nutrition*,; 132, 3599-3602.
- Roberfroid M, Van Loo J, Gibson G. 1998. The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. *Journal of Nutrition*,; 128, 11-19.
- Roberfroid M. 2002. Functional foods: concepts and applications to inulin and oligofructose. *Brit Journal of Nutrition*, 87, 139-143.
- Roberfroid M. 2005. *Inulin-Type Fructans: Functional Food Ingredients*. Boca Raton, USA: CRC Press. 370 pp.
- Roberfroid M. 2000. Non digestible oligosaccharides. *Crit. Rev Food Sci Nutr.*; 40, 461-480.
- Roberfroid M. 2007. Prebiotics: the concept revisited. *Journal of Nutrition*, 137,830S-837S.
- Roberfroid M., Gibson G.R., Delzenne N. 1993. Biochemistry of oligofructose, a non-digestible dietary fiber: an approach to calculate its caloric value. *Nutr. Rev.* 51, 137-146.
- Rodríguez R, Jiménez A, Fernández J, Guillén R, Heredia A. 2006. Dietary fiber from vegetable products as source of functional ingredients. *Trends Food Sci Technol*; 17, 3-15.
- Ronkart, S. N., Blecker, C. S., Fourmanoir, H., Fougny, C., Deroanne, C., Van Herck, J.-C., et al. 2007. Isolation and identification of inulooligosaccharides resulting from inulin hydrolysis. *Analytica Chimica Acta*, 604, 81687.
- Saar, D. E.; N. O. Polans; P.D. Sorensen. 2003. A Phylogenetic Analysis of the genus *Dahlia* .Asteraceae. based on internal and external transcribed spacer regions of nuclear ribosomal DNA. *Systematic Botany* 28, 627-639, 2003.
- Sako T., Matsumoto K, Tanaka R. 1999. Recent progress on research and applications of nondigestible galacto-oligosaccharides. *Int. Dairy J.* 9, 69-80.
- Satorre, E.H. and Slafer, G.A. .eds., 1999. *Ecology and Physiology of Yield*. The Haworth Press, Inc. New York, USA. pp. 141-159. 340 p.
- Saturno, N. E. 1990. Estudio económico y financiero de la floricultura en Venezuela. T.E.G. Caracas, Venezuela. Universidad Central. Facultad de Ciencias Económicas y Sociales, Escuela de Economía. 165 pp.

- Schneeman B. 1999. Fiber, inulin and oligofructose: similarities and differences. *Journal of Nutrition*; 129: 1424-1427.
- Schutz K, Muks E, Carle R, Schieber A .2006. *Biomed Chromatogr* 20,1295
- Silveira M, Monereo S, Molina B. 2003. Alimentos funcionales y nutrición óptima: ¿Cerca o lejos? *Rev Esp Salud Pub*; 77, 317-331.
- Sorensen, P.D .1970. *Dahlia: An Early History*. *Arnoldia* 30, 121-138.
- Stevens, C.V., A. Meriggi y K. Booten .2001. Chemical Modification of Inulin, a Valuable Renewable Resource, and Its Industrial Applications. *Biomacromolecules* 2, 1-16.
- Treviño, C. G.; Mera, O. L.; Bye, B. R.; Mejia, M. J. y Laguna, C. A. 2007. ¿Historia de la dalia .Acocoxóchitl. la flor nacional de México? publicación de difusión #1 SAGARPA, SNICS y SINAREFI .grupo Dalia.
- Tungland, B. C., y Meyer, D. 2002. Non digestible oligo- and polysaccharides .dietary fiber.: Their physiology and role in human health and food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 1, 73692.
- Van der Poel, P.W., Schiweck, H. y Schwartz, T. 1998. *Sugar Technology. Beet and Cane Sugar Manufacture*, 1st edn. Berlin: Bartens, .Chapter 6.
- Van Loo J, Coussement P, De Leenheer L, Hoebregs H, Smits G .1995. *Critic Rev Food Sci Nutr* 35,525
- Veereman G. 2007. Pediatric Applications of Inulin and Oligofructose. *Journal of Nutrition*,; 137, 2585S-2589.
- Villegas, B. y Costell, E. 2007. Flow behaviour of inulinó milk beverages. Influence of inulin average chain length and of milk fat content. *International Dairy Journal*, 17, 7766781.
- Wang J, Rosell C, Benedito C. 2002. Effect of the addition of different fibres on wheat dough performance and bread quality. *Food Chem*; 79, 221-226.
- Widowati, S., T.C. Sunarti y D.A. Zaharani .2005. Ekstraksi, Karakterisasi, dan Kajian Potensi Prebiotik Inulin Dari Umbi Dahlia .*Dahlia pinnata L.*. Seminar Rutin Puslitbang Tanaman Pangan, Bogor, 16 Juni 2005
- Wong JMW, Jenkins DJA. Carbohydrate Digestibility and Metabolic Effects. *Journal of Nutrition*, 2007; 137, 2539S-2546.
- Yamaguchi F., Shimizu N., Hatanaka C. 1994. Preparation and physiological effect of lowmolecular-weight pectin. *Biosci. Biotech. Biochem.* 58, 679.
- Zubaidah, E. y W. Akhadiana. 2013. Comparative Study of Inulin Extracts from Dahlia, Yam, and Gembili Tubers as Prebiotic. *Food and Nutrition Sciences* 4, 8-12.

ANEXO I

ANEXO II