

Extracción y determinación de inulina del ajo común autóctono (*Allium sativum*)

*Extraction and determination of inulin from common autochthonous
garlic (*Allium sativum*)*

Dr. C. Reynerio Álvarez-Borroto^I, Dr. C. Ana Lucía Ruano-Nieto^I, Ing. Mario
Romeo Calle-Miñaca^{II}, Ing. Marco Vinicio Lara-Fiallos^{II}

ralvarezb@uce.edu.ec, ana.ruano@inspi.gob.ec, macalle1307@hotmail.com,
marc_kou@hotmail.com

^ISecretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación
(SENESCYT), Quito, Ecuador; ^{II}Facultad de Ingeniería Química, Universidad
Central del Ecuador, Quito, Ecuador

Recibido: 31 agosto 2014

Aprobado: 22 noviembre 2014

Resumen

Se determinó el contenido de inulina del ajo común (*Allium sativum*) mediante un procedimiento estandarizado con el empleo de la Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Se realizó un diseño experimental multifactorial 2³ mediante el programa *Statgraphics* V. 16. Se seleccionaron dos variables independientes a tres niveles de temperatura: 303 K, 328 K y 353 K y relaciones volumen de agua-masa de ajo de 2/200 g, 3/200 g y 4/200 g de *Allium sativum*. Se fijó un tiempo de extracción de 45 min y una agitación constante de 250 rpm para todos los experimentos. La máxima extracción de inulina se obtuvo a 353 K y a la relación de agua/ajo igual a 4/200 g, con las que se alcanzó un rendimiento del 18 %. El procedimiento presentado es confiable y reproducible para la extracción y determinación de inulina de especies vegetales a escala de laboratorio.

Palabras clave: inulina, fructano, *Allium sativum*, cromatografía líquida de alta resolución.

Abstract

The content of inulin in common garlic (*Allium sativum*) by means of standardized procedure and the use of High performance liquid chromatographic (HPLC) was determined. A multifactorial design 2³ by using the software *Statgraphics* V. 16 was carried out. Two independent variables at three levels were selected: temperature: 302 K, 328 K, 353 K and relationships water volume-garlic mass of 2/200 g, 3/200 g and 4/200 g of *Allium sativum*. Extraction time was fixed at 45 min and at constant agitation of 250 rpm for all the experiments. The maximum extraction of inulin was obtained at 353 K and at relationship water/garlic equal to 4/200 g. The procedure presented is reliable and reproducible extracting and determining inulin from vegetable species at laboratory level.

Keywords: inulin, fructan, *Allium sativum*, high-performance liquid chromatography.

Introducción

Inulina es el nombre genérico que designa a una familia de glúcidos complejos (polisacáridos) formados por cadenas moleculares de fructosa. Es un fructano que se encuentra en las raíces, tubérculos y rizomas de ciertas plantas fanerógamas, como sustancia de reserva. Su nombre procede de la primera planta de la que se aisló en 1804, el helenio (*Inula helenium*). Su fórmula química semidesarrollada es $C_{6n}H_{10n+2}O_{5n+1}$. Es un sólido en apariencia similar al almidón, soluble en agua, donde forma un gel.

Los fructanos son carbohidratos compuestos mayoritariamente por fructosa, cuyo nombre común es arabino-2-hexulosa. La complejidad de la estructura de los carbohidratos complejiza su nomenclatura, por lo que los investigadores han acuñado diversos nombres; la investigación en el campo de los fructanos no se encuentra exenta de esta ambigüedad.

El *First International Symposium on Fructan*, efectuado en Bonn en 1988 [1], recomendó para la designación de fructano a cualquier compuesto donde uno o más enlaces fructosil-fructuosa constituyen la mayoría de los enlaces. Sin embargo, el uso común del término toma en cuenta la longitud de la cadena; de acuerdo con esto, un fructano es un carbohidrato con un grado de polimerización (GP) no mayor de 10, límite por encima del cual no se categoriza a una sustancia como pura

Los fructanos son polímeros de fructosa lineales o ramificados, unidos por enlaces $\beta 2 \rightarrow 1$ de inulina o $\beta 2 \rightarrow 6$ de levano. Las especies dicotiledóneas almacenan fructanos tipo inulina con enlaces lineales $\beta 2 \rightarrow 1$. En las especies monocotiledóneas se acumulan fructanos ramificados más complejos [2].

La diferenciación de los carbohidratos en general, y de los fructanos en particular depende de la estructura molecular y no de los grupos funcionales. Así, la diferencia química entre las moléculas isómeras de fructosa y glucosa que poseen ambas: seis átomos de carbono, doce átomos de hidrógeno y seis átomos de oxígeno, surge de la conectividad exacta entre los átomos en cada molécula. A su vez, estas conectividades dan lugar a ciertas formas físicas que son características de la molécula particular. La inulina tiene mayoritaria o exclusivamente enlaces lineales fructosil-fructosa ($\beta 2 \rightarrow 1$), que pueden tener glucosa, aunque no necesariamente.

La inulina es una sustancia que ha sido estudiada intensamente en las últimas décadas por sus diversas aplicaciones en la industria química, alimentaria y farmacéutica. Puede formar parte de la composición intrínseca de los alimentos o añadirse a los mismos (alimentos funcionales) como sustituto de azúcares y grasas; suele aportar a los alimentos textura, estabilizar la formación de espuma, mejorar las cualidades sensoriales (organolépticas) de los productos lácteos fermentados, galletas, mermeladas, pan, yogur, leche, etcétera [3-8].

Las especies vegetales que contienen fructanos pertenecen a numerosas familias monocotiledóneas y dicotiledóneas como las *Liliaceae*, *Amaryllidaceae*, *Gramineae* y *Compositae*. Varias plantas que contienen fructanos se ingieren como vegetales, como el espárrago (*Asparagus officinalis*), el ajo (*Allium sativum*), la cebolla (*Allium cepa*), entre otros [9]. Las especies con mayor contenido de inulina la almacenan en su parte subterránea, otras como la familia de las *Gramineae*, presentan altos contenidos de fructanos en sus partes aéreas, pero con bajo rendimiento en la extracción. Hasta el presente, solo dos especies pertenecientes a la familia de las *Compositae* se emplean en la obtención industrial de inulina: la alcachofa de Jerusalén (*Helianthus tuberosus*) y la achicoria (*Cichorium intybus*).

La inulina es procesada por la industria alimentaria para producir fructanos de cadena corta, la oligofructosa (GP = 2-10), mediante hidrólisis enzimática parcial, o fructanos de cadena larga mediante técnicas de separación física. La inulina de alto rendimiento (HP, por sus siglas en inglés) es un prebiótico de alto peso molecular, mezcla de inulina tipo fructano sin fructano, con un grado de polimerización menor de 10. La inulina HP se puede incorporar a productos cocidos u horneados, productos lácteos, helados, bebidas, etcétera, como sustituto de azúcares y grasas [9, 10].

Se han realizado minuciosos estudios para comprobar y evaluar el efecto prebiótico, inmunomodulador y antioxidante de los fructanos tipo inulina y de la inulina HP [11-19]. La administración suplementaria de inulina mejora los índices glicémico y antioxidante, y disminuye los niveles de malondialdehídos (se forman por la peroxidación lipídica de ácidos grasos insaturados, y son un marcador de la degradación oxidativa de la membrana celular) en mujeres con diabetes tipo 2, [20].

Experimentos realizados en ratones genéticamente obesos, a los cuales se les administró un fructano tipo inulina en calidad de prebiótico, incrementaron la abundancia de *Akkermansia muciniphila* [19]. A partir de este descubrimiento, Everard *et al.*

[21] demostraron que el tratamiento con prebiótico en ratones experimentales incrementa los niveles basales de *A. muciniphila* y mejora la endotoxemia metabólica y los desórdenes asociados. La gran similitud de esta bacteria con el epitelio intestinal del hombre permite concluir que la *A. muciniphila* juega un papel fundamental en el mutualismo entre la microbiota intestinal y el hospedero que controla la función de la barrera intestinal y otras funciones fisiológicas y homeostáticas durante la obesidad y la diabetes tipo 2.

L. Vogt *et al.* [22] demostraron el papel inmunomodulador de los fructanos $\beta 2 \rightarrow 1$ y cómo la longitud de la cadena influye en sus efectos. Para comprobar su hipótesis se estimularon células mononucleares de sangre periférica humana (PBMCs, por sus siglas en inglés) *in vitro* con fructanos $\beta 2 \rightarrow 1$. Se comprobó que la producción de citoquinas en células PBMCs humanas dependía de la dosis y longitud de la cadena del prebiótico.

P. Dehghan *et al.* [23] determinaron que la inulina HP administrada a pacientes con diabetes tipo 2 modula el estado de los biomarcadores glicémicos e inflamatorios/antinflamatorios y el estado de la endotoxemia metabólica. Los resultados mostraron también que la suplementación de inulina HP disminuye, significativamente el peso y el índice de masa corporal (IMC).

El presente trabajo se inscribe en el proyecto “Uso de la inulina extraída de materia prima autóctona como inmunomodulador frente a estrongiloidosis experimental en un modelo murino con inmunosupresión”, financiado por la Universidad Central del Ecuador (UCE) y con el auspicio del Proyecto Prometeo, de la Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación (SENESCYT). Uno de los objetivos de dicho proyecto es la determinación de la fuente sustentable de obtención de inulina, que contempla evaluar varias especies vegetales autóctonas como la alcachofa (*Cynara cardunculus* var. *scolymus*), la cebolla (*Allium cepa*), el ajo (*Allium sativum*) y el agave (*Agave tequilana*).

Los fructanos tipo inulina poseen la capacidad de modular la microbiota de animales y seres humanos [24]; se consideran como fibras fermentables, solubles y no viscosas. La inulina HP es un prebiótico de larga cadena y alto peso molecular, mezcla de inulina tipo fructano con un grado de polimerización menor de 10 [25], que puede cambiar la composición de la microbiota hacia las bifidobacterias y los bacteroides; también puede disminuir los Firmicutes. Los prebióticos pueden restaurar la *Akkermansia muciniphila*

en personas obesas y con diabetes. Estos cambios se relacionan con el mejoramiento de la homeostasis de la glucosa y la reducción de la endotoxemia. [26, 27].

Fundamentación teórica

La *Association of Official Agricultural Chemists* (AOAC) ha publicado dos métodos para la determinación de fructanos en alimentos, los cuales establecen básicamente que los "fructanos se extraen a partir del producto con agua caliente". En 1997 publicó el método AOAC 997.08 y posteriormente el método AOAC 999.03 [28]. Este último resulta confiable, pero tiene el inconveniente de que su aplicación requiere de mayor tiempo y el uso de un equipo específico de cromatografía.

En el presente trabajo se emplea la Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para cuantificar el contenido de inulina tipo fructanos y se sigue el procedimiento descrito en [29]. La operación de extracción consiste en la disolución de un componente (o grupo de componentes) que forman parte de un sólido, empleando un disolvente adecuado en el que es insoluble el resto del sólido. El fundamento consiste en aprovechar las diferencias de solubilidad de los sólidos en un determinado disolvente; es una operación de transporte de masa entre fases.

En los procesos de extracción de soluto con un disolvente, la velocidad de extracción de soluto extraído se encuentra en función de la temperatura (la solubilidad aumenta con el aumento de la temperatura), el tiempo de contacto soluto-disolvente, que permita la extracción total del soluto; y la relación disolvente-materia prima, que garantice que el soluto no sea el paso controlante del proceso. Se debe garantizar un contacto adecuado disolvente-materia prima por agitación y un tamaño de partícula tal que asegure la ruptura de las células que contiene el sólido soluble, para evitar el lento proceso de extracción por difusión a través de la membrana de las células.

Cuando el proceso de extracción termina, se debe alcanzar el equilibrio, que implica posteriormente la separación de la capa superior o extracto y la capa inferior o refinado. La cantidad de solución que queda retenida en el refinado se encuentra en función de la concentración de la solución, y puede considerarse igual a la concentración del extracto.

Materiales y métodos

Como materia prima para la extracción de inulina se utilizó el ajo común (*Allium sativum*), el cual, según reporta la literatura, tiene un contenido de inulina

entre 15-20 %. El ajo es una planta herbácea que pertenece a la clase de las monocotiledóneas [30].

Para realizar las corridas experimentales, se elaboró un diseño experimental multifactorial 3^2 mediante el programa Statgraphics V. 16, a tres niveles de las tres variables independientes de temperatura: 303 K, 328 K y 353 K y la relación agua-masa de 2, 3, y 4 mL de agua para una masa fija de ajo igual a 200 g. El tiempo de extracción se fijó en 45 min.

Procedimiento experimental

El procedimiento experimental para la extracción y cuantificación de la inulina parte del trabajo [30] concebido para la producción industrial, pero complementado con la inclusión de otras etapas (figura 1).

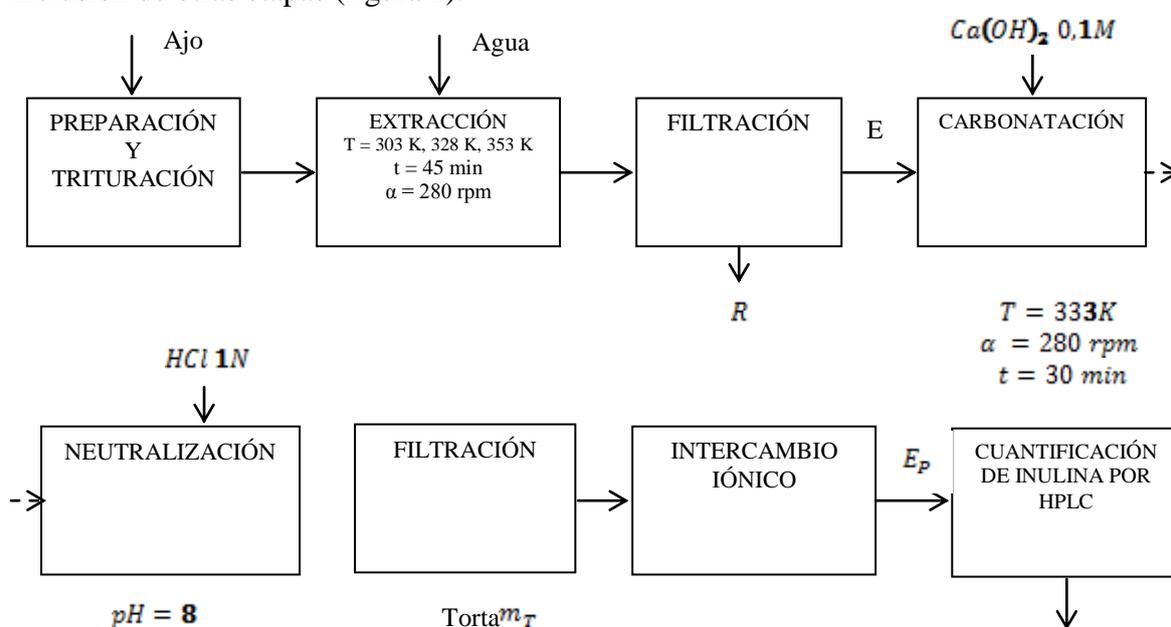


Figura 1. Representación diagramática del proceso de extracción y determinación del contenido de inulina del ajo común

Descripción del proceso

1. Preparación y trituración de la materia prima

Se trituran los bulbos de ajo previamente lavados y desinfectados con etanol, hasta un tamaño de partícula aproximadamente de 4 mm. Se determinó su humedad, para lo cual se tomaron 100 g de ajo y se secaron en la estufa a 70 °C durante 24 h, y se pesó la masa seca de ajo. El proceso se replicó tres veces y se determinó la media. Con los datos obtenidos se determinó la humedad del ajo, que se calculó por la relación expresada en (1).

$$H = \frac{(m_{MP} - m_{MS})}{m_{MP}} 100 \quad (1)$$

donde

m_{MP} : masa de ajo (100 g)

m_{MS} : masa seca de ajo (obtenida experimentalmente)

2. Extracción de la inulina

Se trabajó a tres niveles de temperatura: T = 303 K, 328 K, 353 K y tres relaciones disolvente/materia prima $\frac{R}{D}$, variando el volumen de disolvente para una cantidad fija de materia prima de 200 g (2).

$$\frac{R}{D} = \frac{V_{agua} (mL)}{200 g} = 4, 3, 2 \quad (2)$$

Que corresponde, respectivamente a: $D = 800, 600, 400 \text{ mL de agua}$

3. Filtración

Cada una de las soluciones obtenidas del proceso de extracción, a las diferentes condiciones, se filtró; se obtuvo un residuo R y un extracto E . El extracto se filtró y determinó su volumen. Se pesó la masa y se secó durante 24 h a 80 °C; se pesó la torta seca. El extracto obtenido se sometió a un conjunto de operaciones secuenciales, denominado purificación primaria, que consiste en la carbonatación, neutralización y filtración.

4. Carbonatación

La carbonatación tiene el propósito de purificar, en una primera etapa, el extracto para eliminar ciertos componentes del ajo distintos de la inulina, como grasas, proteínas y algunos aniones, como fosfatos y coloides. Con este fin se usa una solución de hidróxido de calcio $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 0,1 M, a T = 333 K, con agitación constante de 280 rpm, durante 30 min. Como resultado del tratamiento el pH se eleva a 10,2.

5. Neutralización

La etapa de neutralización persigue restablecer el pH de las soluciones a su valor inicial, aproximadamente igual a 8. Con este propósito se usa una solución de ácido clorhídrico HCl 1 N.

6. Filtración del extracto

La segunda filtración tiene el objetivo de separar los sedimentos e impurezas mecánicas que se generaron en el proceso de carbonatación.

7. Intercambio iónico

La segunda purificación consiste en hacer pasar el extracto por una resina de intercambio iónico. Esta etapa persigue la eliminación de cationes y aniones disueltos en la solución que no se eliminaron en la etapa de carbonatación. Las soluciones obtenidas se hicieron pasar sucesivamente por columnas de intercambio catiónico y aniónico, y se midió el volumen del extracto purificado. La masa de la torta húmeda (de la primera purificación) se filtró, pesó y secó durante 8 h a 70 °C; posteriormente se pesó la torta seca.

8. Determinación de la concentración de inulina por HPLC

La determinación de la concentración de inulina se realizó mediante HPLC con el empleo de un cromatógrafo marca Alliance, modelo 2 659, provisto de un detector de índice de refracción 2 414 y una columna de determinación de carbohidratos SHODEX KS-806. Se fijó en 40 °C la temperatura del detector y en 80 °C la temperatura de la columna; se estableció un flujo de la fase móvil de 1,2 mL/min. Una vez que se equilibró todo el sistema durante 2 h aproximadamente, se cuantificó el contenido de inulina de cada una de las muestras; se realizaron y promediaron tres réplicas.

Resultados y discusión

El valor de la humedad del ajo, determinado mediante la ecuación 1, fue de 70,9433 %. Los datos experimentales obtenidos del proceso de extracción se muestran en las tablas 1-3 para los tres niveles de temperatura y para una masa fija de ajo de 200 g en todos los casos.

TABLA 1. EXTRACCIÓN DE INULINA A 303 K

No.	Volumen de agua, mL	Extracto <i>E</i> , mL	Residuo <i>R</i> , g	Masa de torta seca <i>m_{ts}</i> , g
1	800,0	766,0	205,5	32,20
2	600,0	569,2	205,7	35,30
3	400,0	373,7	194,9	37,80

TABLA 2. EXTRACCIÓN DE INULINA A 328 K

No.	Volumen de agua, mL	Extracto E , mL	Residuo R , g	Masa de torta seca m_{ts} , g
1	800,0	746,0	168,0	18,8
2	600,0	570,0	175,2	21,7
3	400,0	352,0	181,6	27,1

TABLA 3. EXTRACCIÓN DE INULINA A 353 K

No.	Volumen de agua, mL	Extracto E , mL	Residuo R , g	Masa de torta seca m_{ts} , g
1	800,0	628,8	155,9	17,0
2	600,0	506,8	162,7	21,1
3	400,0	330,0	172,0	25,3

Los resultados del proceso de purificación a diferentes temperaturas 303 K, 328 K y 353 K se muestran en las tablas 4-6, respectivamente.

TABLA 4. DATOS EXPERIMENTALES DE LA PURIFICACIÓN DEL EXTRACTO A 303 K

No.	Torta húmeda m_{th} , g	Torta seca m_{ts} , g	Extracto purificado E_p , mL
1	13,4	1,02	1 110
2	9,13	1,47	905,0
3	8,13	1,36	624,0

TABLA 5. DATOS EXPERIMENTALES DE LA PURIFICACIÓN DEL EXTRACTO A 328 K

No.	Torta húmeda m_{thI} , g	Torta seca m_{tsI} , g	Extracto purificado E_p , mL
1	21,30	1,62	1 082,9
2	19,42	2,04	892,50
3	12,80	2,19	618,45

TABLA 6. DATOS EXPERIMENTALES DE LA PURIFICACIÓN DEL EXTRACTO A 353 K

No.	Masa de torta húmeda m_{th1} , g	Masa de torta seca m_{ts1} , g	Extracto purificado E_p , mL
1	22,04	1,92	985,0
2	20,32	2,60	879,0
3	17,20	2,74	636,8

Los resultados de concentración de inulina obtenidos por HPLC a diferentes temperaturas 303 K, 328 K y 353 K se muestran en la tabla 7.

TABLA 7. CONCENTRACIÓN DE INULINA DETERMINADA POR HPLC A 303 K, 328 K Y 353 K

No.	303 K		328 K		353 K	
	Extracto purificado E_p , mL	inulina m_I , mg/mL	Extracto purificado E_p , mL	inulina m_I , mg/mL	Extracto purificado E_p , mL	inulina m_I , mg/mL
1	1 110,0	18,654	1 097,8	27,819	985,00	31,110
2	905,00	21,758	892,50	30,452	879,00	33,999
3	624,00	23,998	612,45	35,770	636,70	36,040

En el proceso de extracción de inulina mediante el proceso descrito hay determinadas pérdidas que es necesario tomar en cuenta para determinar el contenido real de inulina en el ajo y que no se toman en cuenta en el procedimiento industrial descrito en [30]. La cantidad de inulina del ajo comprende la inulina en el extracto, el refinado y la retenida en la purificación primaria (3).

$$m_{Ii} = m_{Ei} + m_{Ri} + m_{RPi} \quad (i = 1,2,3) \quad (3)$$

donde

m_{Ii} : masa de inulina contenida en el ajo (g)

m_{Ei} : inulina contenida en el extracto (g)

m_{Ri} : inulina contenida en el refinado (g)

m_{RPi} : inulina retenida en el proceso de refinación primaria (g)

Para determinar el contenido de inulina en el ajo se necesita estimar cada uno de los términos de la derecha de la ecuación (3).

Agua retenida en el refinado

El agua retenida en el refinado se expresa por la diferencia entre la masa total de refinado y la masa de torta seca (4).

$$m_{R,i} = R_i - m_{tsi} \quad (i = 1, 2, 3) \quad (4)$$

donde

$m_{R,i}$: agua retenida en el refinado (g)

R_i : refinado (g)

m_{tsi} : torta seca (g)

El volumen de agua retenida en el refinado se estima por la relación entre la masa de agua retenida y la densidad del agua a la temperatura del experimento (5).

$$V_{R,i} = \frac{m_{R,i}}{\rho_{agua}} \quad (i = 1,2,3) \quad (5)$$

Agua retenida en la purificación primaria

El agua retenida en la purificación primaria se expresa por la diferencia entre la masa de torta húmeda y la masa de torta seca (6).

$$m_{P,i} = m_{thi} - m_{tsi} \quad (i = 1, 2, 3) \quad (6)$$

donde

$m_{P,i}$: masa de agua retenida en la purificación primaria (g)

m_{thi} : masa de torta húmeda (g)

m_{tsi} : masa de torta seca (g)

Cálculo del volumen de agua retenida en la purificación primaria (7)

$$m_{P,i} = \frac{m_{R,i}}{\rho_{agua}} \quad (i = 1,2,3) \quad (7)$$

Cálculo de la masa de inulina en el extracto purificado (8)

$$m_{I,E_{Pi}} = \frac{E_{Pi}(C_{Ii})}{1000} \quad (i = 1,2,3) \quad (8)$$

donde

$m_{I,E_{Pi}}$: masa de inulina en el extracto purificado (g)

E_{Pi} : volumen de extracto purificado (mL)

C_{Ii} : concentración promedio de inulina en el extracto medida por HPLC (mg/mL de extracto)

Cálculo de la masa de inulina en el extracto determinada por HPLC (9)

$$m_{Ei} = E_{Pi}C_{Ii} \quad (i = 1, 2, 3) \quad (9)$$

donde

m_{Ei} : masa de inulina en el extracto (mg)

E_{Pi} : volumen de extracto purificado (mL)

C_{Ii} : concentración de inulina determinada por HPLC (mg/mL de extracto purificado)

Cálculo del volumen de inulina en el extracto purificado (10)

$$V_{I,E_{Pi}} = \frac{m_{I,E_{Pi}}}{\rho_I(1000)} \quad (i = 1,2,3) \quad (10)$$

donde

$V_{I,E_{Pi}}$: volumen de inulina en el extracto purificado (mL)

ρ_I : densidad de la inulina ($0,490 \pm 0,40 \frac{g}{mL}$) (dato tomado de las especificaciones técnicas de la inulina)

Cálculo del volumen de agua en el extracto purificado (11)

$$V_{aE_{Pi}} = E_{Pi} - V_{I,E_{Pi}} \quad (i = 1,2,3) \quad (11)$$

donde

$V_{aE_{Pi}}$: volumen de agua en el extracto purificado (mL)

E_{Pi} : volumen de extracto purificado (mL)

$V_{I,E_{Pi}}$: volumen de inulina en el extracto purificado (mL)

Cálculo de la relación inulina/agua, g/g (12)

$$m_{I,E_{Pi}} = E_{Pi}C_{Ii} \quad (i = 1,2,3) \quad (12)$$

Cálculo de la relación agua/inulina (13)

$$R_{\frac{I}{a}} = \frac{m_{I,E_{Pi}}}{V_{a,E_{Pi}}\rho_a} \quad (i = 1,2,3) \quad (13)$$

En aras de la simplificación, los cálculos para estimar cada uno de los términos de la ecuación (12) se omiten, y los resultados obtenidos se resumen en la tabla 8.

TABLA 8. CONTENIDO DE INULINA A DIFERENTES TEMPERATURAS Y RELACIONES AGUA/AJO

$\frac{R_D}{200}$, mL/g	303 K		328 K		353 K	
	Masa de inulina, g	%	Masa de inulina, g	%	Masa de inulina, g	%
4,00	21,1	12,4	29,9	17,4	30,6	18,0
3,00	19,7	11,7	27,1	16,3	29,9	17,9
2,00	14,9	9,53	21,9	14,1	22,9	14,6

La extracción de inulina con agua caliente es un proceso noble y efectivo en el que la temperatura, el tiempo de extracción y la relación agua/materia prima son las variables independientes que influyen en el proceso de extracción. El máximo contenido de inulina se obtiene a la mayor relación volumen de agua/200 g de ajo (igual a 4) y a la temperatura más alta de 353 K: 30,6 g, lo que representa un 18 %. Sin embargo, a la temperatura de 328 K y a la misma relación agua/ajo se obtienen resultados muy cercanos a la temperatura de 353 K. Esto sugiere que la extracción podría efectuarse a una temperatura inferior a 353 K, lo que en un proceso industrial tiene significación por el ahorro de energía. Asimismo, entre las dos temperaturas referidas deberá existir una temperatura óptima de extracción. Sería conveniente obtener un modelo empírico para optimizar el proceso de extracción en función de las variables especificadas.

Conclusiones

El procedimiento presentado [30] desarrollado para procesos industriales, ha sido estandarizado para la fácil y confiable determinación del contenido de inulina extraída de especies vegetales con agua caliente mediante el empleo de HPLC. En él se presentan las etapas y ecuaciones que permiten calcular las cantidades de inulina retenidas en las distintas etapas del proceso, lo que aporta gran exactitud, confiabilidad y reproducibilidad a escala de laboratorio, usando un equipo de HPLC común, provisto de una columna de determinación de carbohidratos. Dicho procedimiento podría perfeccionarse mediante la construcción de las curvas de refinado en un diagrama triangular, que represente diferentes proporciones de la

mezcla ternaria: inulina, agua e inerte, lo que permitirá verificar la correcta extracción y determinación.

Agradecimientos

El presente trabajo ha sido desarrollado con el auspicio del Proyecto “Prometeo”, de la Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación (SENESCYT), Quito, Ecuador.

Referencias bibliográficas

1. LEWIS, D. H., “Nomenclature and diagrammatic representation of oligomeric fructans- a paper for discussion”, *New Phytol.*, 1993, **124**(4), 583-594.
2. VIJIN, I., *et al.*, “Fructan: more than a reserve carbohydrate?”, *Plant Physiol.*, 1999, **120**, 351-359.
3. GIBSON, G. R., *et al.*, “Dietary modulation of the colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics”, *J. Nutr.*, 1995, **125**, 1401-1412.
4. GIBSON, G. R., *et al.*, “Dietary modulation of the human colonic microbiota: Updating the concept of prebiotics”, *Nutr. Res. Rev.*, 2004, **17**, 257-259.
5. ROBERFROID, M. B., “Prebiotics: The Concept Revisited”, *J. Nutr.*, 1998, **137**, 830-837.
6. ROBERFROID, M. B., “Prebiotics and synbiotics: concepts and nutritional properties”, *Br. J. Nutr.*, 1998, **80**, 197-202.
7. ROBERFROID, M. B., “Functional foods: concepts and application to inulin and oligofructose”, *Br. J. Nutr.*, 2002, **87**(2), 139-143.
8. MEYERA, D., *et al.*, “Inulin as texture modifier in dairy products”, *Food Hydrocolloids*, 2011, **25**(8), 1881-1890.
9. VAN LOO, J., *et al.*, “On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the Western diet”, *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 1995, **35**, 525-552.
10. DE LEENHEER, L., “Production and use of inulin: Industrial reality with a promising future”, en VAN BEKKUM, H.; RÖPER, H.; VARAGEN, A. G. J. (ed.), *Carbohydrates as organic raw materials*, vol. 3, New York, VCH Publ. Inc., 1996, 67-92.
11. FRANCK, A., “Technological functionality of inulin and oligofructose”, *Br. J. Nutr.*, 2002, **87**(2), 287-291.

12. KAUR, N., *et al.*, “Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition”, *J. Biosci.*, 2002, **27**, 703-714.
13. CANI, P. D., *et al.*, “Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice”, *Diabetes*, 2008, **57**(6), 1470-1481.
14. CANI, P. D., *et al.*, “Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability”, *Gut Microbes*, 2009, **58**(8), 1091-1103.
15. CANI, P. D., *et al.*, “Involvement of gut microbiota in the development of low-grade inflammation and type 2 diabetes associated with obesity”, *Gut Microbes*, 2012, **3**(4), 279-288.
16. CANI, P. D., *et al.*, “Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance”, *Diabetes*, 2007, **56**(7), 1761-1772.
17. EVERARD, A., *et al.*, “Responses of gut microbiota and glucose and lipid metabolism to prebiotics in genetic obese and diet-induced leptin-resistant mice”, *Diabetes*, 2011, **60**(11), 2775-2786.
18. CANI, P. D., *et al.*, “Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxemia”, *Diabetologia*, 2007, **50**(11), 2374-2383.
19. BAHRAM, P., *et al.*, “Effects of High Performance Inulin Supplementation on Glycemic Control and Antioxidant Status in Women with Type 2 Diabetes”, *Diabetes Metab. J.*, 2013, **37**, 140-148.
20. PARVIN, D., *et al.*, “Effects of High Performance Inulin Supplementation on Glycemic Control and Antioxidant Status in Women with Type 2 Diabetes”, *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 2014, **65**(1), 117-123.
21. EVERARD, A., *et al.*, “Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity”, *PNAS*, 2013, **110**(22), 83-99.
22. VOGT, L., *et al.*, “Immune Modulation by Different Types of β 2 \rightarrow 1-Fructans Is Toll-Like Receptor Dependent”, *PLoS ONE*, 2013, **8**(7), 103-120.

23. DEGHAN, P., *et al.*, “Inulin controls inflammation and metabolic endotoxemia in women with type 2 diabetes mellitus: a randomized-controlled clinical trial”, *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 2014, **65**(1), 117-123.
24. DELZENNE, N. M., *et al.*, “Modulation of the gut microbiota by nutrients with prebiotic properties: consequences for host health in the context of obesity and metabolic syndrome”, *Microb. Cell Fact.*, 2011, **10**(1), 10.
25. KOLIDA, S., *et al.*, “Capacity of Inulin-Type Fructans”, *J. Nutr.*, 2007, **137**(11), 2503-2506.
26. DEWULF, E. M., *et al.*, “Insight into the prebiotic concept: lessons from an exploratory, double blind intervention study with inulin-type fructans in obese women”, *Gut*, 2013, **62**, 112-1121.
27. BURCELIN, R., *et al.*, “Gut microbiota and diabetes: from pathogenesis to therapeutic perspective”, *Acta Diabetol.*, 2011, **48**, 257-273.
28. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST (AOAC), *Fructans in Food Products, Ion Exchange Chromatographic Method*, Official Method 997.08, 1999. Disponible en: <<http://wenku.baidu.com>>.
29. MADRIGAL, L., *et al.*, “La inulina y derivados como ingredientes claves en alimentos funcionales”, *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 2011, **61**(4), 1-12.
30. GARCÍA, L., *et al.*, “Revisión: Efectos cardiovasculares del ajo (*Allium Sativum*)”, *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 2000, **50**, 39-51.