



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

CARRERA DE AGROINDUSTRIA

EXTRACCIÓN DE INULINA DE DOS VARIEDADES DE TUNA *Opuntia ficus-indica* COLOR ROJA Y BLANCA DEL VALLE DEL CHOTA POR LIXIVIACIÓN

TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO AGROINDUSTRIAL

Autor: RICAR OMAR PINANGO CACUANGO

Director: Ing. Marco Vinicio Lara Fiallos M.Sc.

2019

UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

CARRERA DE AGROINDUSTRIA

EXTRACCIÓN DE INULINA DE DOS VARIEDADES DE TUNA *Opuntia ficus-indica* COLOR ROJA Y BLANCA DEL VALLE DEL CHOTA POR LIXIVIACIÓN

Tesis revisada por los miembros del tribunal, por lo cual se autoriza su presentación como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

APROBADA

Ing. Marco Lara M.Sc.

DIRECTOR DE TESIS

Bioq. Valeria Olmedo M.Sc.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dra. Lucia Yépez M.Sc.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Lic. Silvio Álvarez

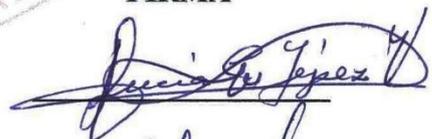
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



FIRMA



FIRMA



FIRMA



FIRMA



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

1. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA

La Universidad Técnica del Norte dentro del proyecto Repositorio Digital Institucional, determinó la necesidad de disponer de textos completos en formato digital con la finalidad de apoyar los procesos de investigación, docencia y extensión de la Universidad.

Por medio del presente documento dejo sentada mi voluntad de participar en este proyecto, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

DATOS DE CONTACTO

CÉDULA DE IDENTIDAD: 172426827-9
APELLIDOS Y NOMBRES: Pinango Cacuango Richar Omar
DIRECCIÓN: Tabacundo, barrio Nueva Esperanza
EMAIL: ropinangoc@utn.edu.ec
TELÉFONO FIJO: 022365-564 **TELÉFONO MÓVIL:** 0988116863

DATOS DE LA OBRA

TÍTULO: Extracción de inulina de dos variedades de tuna *opuntia ficus-indica* color roja y blanca del Valle del Chota por lixiviación
AUTOR: Pinango Cacuango Richar Omar
FECHA: 23 de abril del 2019

SOLO PARA TRABAJOS DE GRADO

PROGRAMA: PREGRADO POSTGRADO
TÍTULO POR EL QUE OPTA: Ingeniero Agroindustrial
ASESOR / DIRECTOR: Ing. Marco Vinicio Lara Fiallos MSc.

1. AUTORIZACIÓN DE USO A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD

Yo, Pinango Cacuango Richar Omar, con cédula de identidad número 172426827 – 9, en calidad de autor y titular de los derechos patrimoniales de la obra o trabajo de grado descrito anteriormente, hago entrega del ejemplar respectivo en formato digital y autorizo a la Universidad Técnica del Norte la publicación de la obra en el Repositorio Digital Institucional y uso del archivo digital en la Biblioteca de la Universidad con fines académicos, para ampliar la disponibilidad del material y como apoyo a la educación, investigación y extensión; en concordancia con la Ley de Educación Superior Artículo 144.

2. CONSTANCIAS

El autor manifiesta que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros, por lo tanto, la obra es original y que es el titular de los derechos patrimoniales, por lo que asume la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldrá en defensa de la Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los 23 días del mes de abril del 2019

EL AUTOR:



Pinango Cacuango Richar Omar

C.I.: 172426827-9



**CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL
TRABAJO DE GRADO A FAVOR DE LA
UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE**

Yo, **Richar Omar Pinango Cacuango**, con cédula de identidad Nro. **172426827 - 9**, manifiesto mi voluntad de ceder a la Universidad Técnica del Norte los derechos patrimoniales consagrados en la Ley de Propiedad Intelectual del Ecuador, artículos 4, 5 y 6, en calidad de autor de la obra o trabajo de grado denominado: **EXTRACCIÓN DE INULINA DE DOS VARIEDADES DE TUNA *Opuntia ficus-indica* COLOR ROJA Y BLANCA DEL VALLE DEL CHOTA POR LIXIVIACIÓN**, que ha sido desarrollado para optar por el título de: **INGENIERO AGROINDUSTRIAL** en la Universidad Técnica del Norte, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente. En condición de autor me reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia suscribimos este documento en el momento que hacemos entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Técnica del Norte.

Ibarra, a los 23 días del mes de abril del 2019

Richar Omar Pinango Cacuango

C.I.: 172426827-9

DECLARACIÓN

Manifiesto que la presente obra es original y se la desarrolló sin violar derechos de autor de terceros; por lo tanto es original y que soy el titular de los derechos patrimoniales; por lo que asumo la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldré en defensa de la Universidad Técnica del Norte en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los 23 días del mes de abril del 2019



Pinango Cacuango Richar Omar

C.I.: 172426827-9

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por el señor Richar Omar Pinango Cacuangó, bajo mi supervisión.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Marco Lara', is written over a horizontal line. The signature is stylized and includes a large flourish at the end.

Ing. Marco Lara M.Sc.

DIRECTOR DE TESIS

DEDICATORIA

Dedico esta tesis principalmente a Dios, por darme la fortaleza para superar obstáculos y dificultades cuando a punto de caer he estado.

De igual forma, dedico esta tesis con mucho cariño a mis padres José y Melchora que me dieron la vida y han estado conmigo brindándome su apoyo y cariño incondicional en todo momento.

Richar Pinango

AGRADECIMIENTO

A Dios por darme unos padres maravillosos y por gozar de un hogar lleno de amor.

A mis padres que me dieron la vida y han estado conmigo en todo momento. Gracias por darme una carrera para mi futuro y por demostrarme siempre su cariño y apoyo incondicional.

A mis hermanos Jessica y Estiven que siempre han estado junto a mí brindándome su apoyo.

A mi novia Deysi, muchas gracias por estos siete años de conocernos y en los cuales hemos compartido tantos momentos. Gracias por todo el apoyo que me has dado para continuar y seguir con mi camino.

Al Ing. Marco Lara, director de tesis, por su valiosa guía y asesoramiento a la realización de la misma.

Richar Pinango

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1.	INTRODUCCIÓN	1
1.1	PROBLEMA	1
1.2	JUSTIFICACIÓN.....	2
1.3	OBJETIVOS.....	3
1.3.1	OBJETIVO GENERAL	3
1.3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
1.4	HIPÓTESIS DE TRABAJO.....	4
1.4.1	Alternativa	4
1.4.2	Nula	4
2.	MARCO TEÓRICO	5
2.1	GENERALIDADES DE LA TUNA <i>Opuntia ficus-indica</i>	5
2.1.1	Clasificación científica	6
2.1.2	Descripción botánica	6
2.1.3	Beneficios de la tuna.....	7
2.1.4	Estudios sobre la tuna y la inulina	8
2.2	INULINA	9
2.2.1	Características físicas y químicas de la inulina y derivados.....	9
2.2.2	Fuentes de inulina.....	11
2.2.3	Aplicaciones	12
2.3	MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE INULINA Y DERIVADOS	13
2.3.1	Método (AOAC 997.08) determinación de fructanos en productos alimenticios	14

2.3.2	Método (AOAC 999.03) medición del fructano total en alimentos	16
2.4	LIXIVIACIÓN (EXTRACCIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO).....	16
2.4.1	Factores.....	17
2.5	FILTRACIÓN.....	18
2.5.1	Tipos de filtración.....	18
2.6	NEUTRALIZACIÓN	18
2.7	CARBONATACIÓN	19
2.8	ESPECTROFOTOMETRÍA	19
2.8.1	Transmitancia y absorbancia	20
2.8.2	Curvas de calibrado	21
3.	METODOLOGÍA	22
3.1	CARACTERIZACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO	22
3.1.1	Ubicación del experimento.....	22
3.2	MATERIALES	22
3.2.1	Materiales y equipos de laboratorio.....	23
3.3	METODOLOGÍA	24
3.3.1	Caracterización fisicoquímica de la tuna.....	24
3.3.2	Diseño experimental.....	24
3.3.3	Factores en estudio	25
3.3.4	Extracción y cuantificación	26
3.4	MÉTODO DE PROCESAMIENTO	27
3.4.1	Diagrama de proceso de extracción adaptado a las condiciones de operación	27
3.5	DETALLE DEL PROCESO.....	29
3.5.1	Recepción de materia prima	29

3.5.2	Desespinado.....	29
3.5.3	Selección.....	30
3.5.4	Limpieza	30
3.5.5	Pelado y troceado.....	31
3.5.6	Extracción.....	31
3.5.7	Filtración (1).....	32
3.5.8	Purificación (Carbonatación).....	32
3.5.9	Reducción de pH	33
3.5.10	Filtración (2).....	34
3.5.11	Cuantificación de la concentración de inulina.....	34
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36
4.1	CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DE LA TUNA.....	36
4.2	EFFECTO DE LA TEMPERATURA Y RELACIÓN DISOLVENTE/SOLUTO EN EL PROCESO DE LIXIVIACIÓN	37
4.3	INULINA PRESENTE ENTRE LAS VARIETADES DE TUNA <i>opuntia ficus-indica</i> COLOR ROJA Y BLANCA	45
5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	47
5.1	CONCLUSIONES	47
5.2	RECOMENDACIONES	48
6.	BIBLIOGRAFÍA.....	49
7.	ANEXOS.....	53

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación científica de la tuna	6
Tabla 2. Composición química de la pulpa de tuna.....	7
Tabla 3. Características fisicoquímicas de la inulina, inulina de “alto desempeño” (HP).....	10
Tabla 4. Contenido promedio de inulina en diferentes especies vegetales	11
Tabla 5. Porcentaje de inulina en peso fresco desde algunas fuentes importantes	12
Tabla 6. Propiedades funcionales de la inulina y derivados	13
Tabla 7. Ubicación del experimento	22
Tabla 8. Análisis empleados para caracterizar la materia prima.....	24
Tabla 9. Análisis de varianza para el diseño	25
Tabla 10. Descripción de niveles del factor A.....	25
Tabla 11. Descripción de niveles del factor B.....	25
Tabla 12. Descripción y nomenclatura de los tratamientos.....	26
Tabla 13. Procedimiento seguido para la cuantificación de inulina como azúcares reductores	26
Tabla 14. Características de las dos variedades de muestras de tuna.....	36
Tabla 15. Porcentaje de azúcares reductores en función de la relación disolvente/soluto y la temperatura para la extracción de inulina a partir de tuna roja.....	38
Tabla 16. Porcentaje de azúcares reductores en función de la relación disolvente/soluto y la temperatura para la extracción de inulina a partir de tuna blanca.....	38
Tabla 17. Pruebas de significación de Tukey para los tratamientos de la variable inulina en la variedad de tuna roja	40
Tabla 18. DMS para la variable temperatura en la variedad de tuna roja	41
Tabla 19. DMS para la variable relación disolvente/soluto en la variedad de tuna roja.....	42

Tabla 20. Pruebas de significación de Tukey para los tratamientos de la variable inulina en la variedad de tuna blanca.	43
Tabla 21. DMS para la variable temperatura en la variedad de tuna blanca	44
Tabla 22. DMS para la variable temperatura en la variedad de tuna blanca	44
Tabla 23. Comparación de rendimiento de inulina entre dos variedades de tuna	45
Tabla 24. Datos de extracción de inulina de la variedad de tuna roja	57
Tabla 25. Datos de extracción de inulina de la variedad de tuna blanca..	57
Tabla 26. Datos de purificación de inulina de la variedad de tuna roja	58
Tabla 27. Datos de purificación de inulina de la variedad de tuna blanca	58
Tabla 28. Cuantificación de inulina en el extracto de la variedad de tuna roja	59
Tabla 29. Cuantificación de inulina en el extracto de la variedad de tuna blanca	59
Tabla 30. Cantidad de agua retenida en el refinado de tuna roja	60
Tabla 31. Cantidad de agua retenida en el refinado de tuna blanca	60
Tabla 32. Volumen de agua retenida en el refinado de tuna roja	61
Tabla 33. Volumen de agua retenida en el refinado de tuna blanca	61
Tabla 34. Cantidad de agua retenida en la purificación de tuna roja	61
Tabla 35. Cantidad de agua retenida en la purificación de tuna blanca ...	62
Tabla 36. Volumen de agua retenida en la purificación de tuna roja.....	62
Tabla 37. Volumen de agua retenida en la purificación de tuna blanca....	62
Tabla 38. Cantidad de inulina en el extracto de tuna roja	63
Tabla 39. Cantidad de inulina en el extracto de tuna blanca	63
Tabla 40. Concentración promedio de inulina de tuna roja medida en espectrofotómetro UV-VIS en (mg l/ml Tuna)	64
Tabla 41. Concentración promedio de inulina de tuna blanca medida en espectrofotómetro UV-VIS en (mg l/ml Tuna)	65
Tabla 42. Cantidad de inulina retenida en el refinado de tuna roja.....	65
Tabla 43. Cantidad de inulina retenida en el refinado de tuna blanca	66

Tabla 44. Cantidad de inulina retenida en la purificación de tuna roja.....	66
Tabla 45. Cantidad de inulina retenida en la purificación de tuna blanca.	66
Tabla 46. Análisis de varianza para la variable inulina de la variedad de tuna roja.....	67
Tabla 47. Análisis de varianza para la variable inulina de la variedad de tuna blanca	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ilustración del fruto y tallo de <i>Opuntia ficus-indica</i>	5
Figura 2. Ilustración de un cultivo silvestre de tuna <i>Opuntia ficus-indica</i> ..	6
Figura 3. Estructura básica de la inulina: Izquierda, con una molécula terminal de glucosa (β -D-glucopiranosil). Derecha con una molécula terminal de fructosa (β -D-fructopiranosil).....	9
Figura 4. Incidencia de luz sobre celda con solución coloreada	20
Figura 5. Diagrama de proceso de extracción y determinación de inulina de tuna	28
Figura 6. Cultivos de tuna del Valle del Chota	29
Figura 7. Desespinado de la tuna.....	29
Figura 8. Selección de las muestras de tunas.....	30
Figura 9. Limpieza de las muestras de tuna	30
Figura 10. Pelado y troceado de las muestras de tuna blanca y roja.....	31
Figura 11. Extracción sólido- líquido	31
Figura 12. Primera filtración del extracto de tuna blanca y roja	32
Figura 13. Proceso de purificación (carbonatación) de la muestra de tuna blanca.....	33
Figura 14. Neutralización del extracto de tuna roja	33
Figura 15. Segunda filtración de muestras de tuna blanca	34
Figura 16. Proceso de cuantificación por espectrofotometría.....	35
Figura 17. Superficie de respuesta correspondiente a la concentración de inulina en el extracto de tuna roja en función la temperatura y la relación disolvente/soluto	39
Figura 18. Diagrama de Pareto de efectos estandarizados de la temperatura y relación disolvente/soluto sobre el rendimiento de inulina disuelta en el extracto de tuna roja	40
Figura 19. Gráfica de interacción de los factores: temperatura y la relación disolvente/soluto sobre el rendimiento de inulina disuelta en el extracto de tuna roja	41

Figura 20. Superficie de respuesta correspondiente a la concentración de inulina en el extracto de tuna blanca en función de la temperatura y la relación disolvente/soluto.....	42
Figura 21. Diagrama de Pareto de efectos estandarizados de la temperatura y relación disolvente/soluto sobre el rendimiento de inulina disuelta en el extracto de tuna blanca	43
Figura 22. Gráfica de interacción de los factores: temperatura y la relación disolvente/soluto sobre el rendimiento de inulina disuelta en el extracto de tuna blanca.....	44
Figura 23. Gráfico comparativo de rendimiento de inulina entre dos variedades de tuna	46
Figura 24. Resultados caracterización de las muestras	54
Figura 25. Ficha técnica de inulina estándar	55
Figura 26. Curva patrón con estándar de inulina para cuantificación por medio de espectrofotómetro UV-V	56

RESUMEN

La inulina es un carbohidrato de reserva energética presente en muchas especies de plantas, por su efecto es utilizada sobre las bifidobacterias intestinales como un prebiótico importante. En la industria alimentaria se hallan varias aplicaciones de este elemento, entre las que se puede mencionar: espesante, agente emulsificador, gelificante, sustituto de azúcares y de grasas, humectante, depresor del punto de congelación e ingrediente activo en la elaboración de alimentos de carácter funcional.

El objetivo principal de la presente investigación se centró en establecer las condiciones óptimas de extracción de inulina cruda de tuna *Opuntia ficus-indica* mediante el proceso de extracción sólido-líquido. Para la cual se empleó un diseño completamente al azar con arreglo factorial AxB. Se relacionaron dos variables dependientes a dos niveles de temperatura: 75 y 85°C y dos relaciones volumen disolvente/soluto: 3 y 4 ml H₂O/g tuna. Se trabajó con un tiempo constante de extracción de 45 minutos y una agitación de 200 rpm para todos los experimentos. La máxima extracción de inulina se logró a 85°C y a la relación de agua/tuna igual a 4ml/g, con las que se consiguió un rendimiento de 10, 63% para la tuna roja y 10, 83% para la tuna blanca.

Se concluyó que los dos factores de extracción (temperatura y relación disolvente/soluto) tienen un efecto positivo en el porcentaje de extracción de inulina a partir de tuna *Opuntia ficus-indica* (L.), siendo la relación disolvente/soluto la más influyente.

DESCRIPTORES: Inulina/ Tuna/ Cuantificación

SUMMARY

Inulin is a carbohydrate energy reserve present in many plant species, for its effect is used on intestinal bifidobacteria as an important prebiotic. In the food industry there are several applications of this element, among which can be mentioned: thickener, emulsifying agent, gelling agent, sugar and fat substitute, humectant, depressant of the freezing point and active ingredient in the preparation of food of character functional.

The main objective of the present investigation was to establish the optimum conditions for extraction of crude inulin from tuna *Opuntia ficus-indica* through the solid-liquid extraction process. For which a completely random design with factorial arrangement AxB was used. Two dependent variables were related to two temperature levels: 75 and 85 ° C and two solvent/solute volume ratios: 3 and 4 ml H₂O/g tuna. We worked with a constant extraction time of 45 minutes and an agitation of 200 rpm for all the experiments. The maximum extraction of inulin was achieved at 85 ° C and at the water/tuna ratio equal to 4ml /g, with which a yield of 10, 63% for the red tuna and 10, 83% for the white tuna was achieved.

It was concluded that the two extraction factors (temperature and solvent/solute related) have a positive effect on the percentage of extraction of inulin from Tuna *Opuntia ficus-indica*, with the solvent / solute ratio being the most influential.

DESCRIPTORS: Inulin / Tuna / Quantification

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 PROBLEMA

La inulina es un carbohidrato de reserva energética presente en muchas especies de plantas, es uno de los mejores oligosacáridos utilizados por su efecto sobre las bifidobacterias intestinales y es considerado un sustrato prebiótico importante. (Lara Fiallos, Julián Ricardo , Pérez Martínez, Benítes Cortés, & Lara Gordillo, 2017), la disponibilidad de este elemento en el Ecuador es limitada, es un producto que no se elabora en el país, de difícil adquisición por lo que tiene un alto costo en el mercado nacional. Como ya se mencionó anteriormente, la inulina ofrece beneficios para la salud humana cuando se incorpora en la dieta alimentaria, haciendo que este compuesto constituya la base para poder fabricar productos de carácter funcional, pero debido a la baja disponibilidad y a los altos costos de adquisición no es utilizado.

Según Barón Delgado, productor de tuna. En el Valle del Chota se cultivan dos variedades de este fruto para ser comercializados en los mercados para el consumo interno, las variedades que se cultivan son; blanca y amarilla, las cuales son fáciles de cultivar y cosechar. La tuna que no cumplió con las normas de calidad tales como; tamaño, madurez y apariencia, no puede ser comercializada, haciendo que este se convierta en un producto de rechazo (Armas, 2012). Además, la planta de tuna tiene dos etapas altas en su producción anual, haciendo que exista una sobre producción y al mismo tiempo se incremente el producto de rechazo el cual no tiene

proceso industrial, generando pérdidas económicas para los productores y a la vez se desaprovecha un producto con un posible potencial para la generación de inulina.

1.2 JUSTIFICACIÓN

Según la tabla de arancel nacional de importaciones del Comité de Comercio Exterior (COMEX), la inulina entra al Ecuador con un 20 % de tarifa arancelaria por cada kilogramo importado. El costo de importación de almidón, fécula e inulina, fluctúa entre los 6 millones de dólares por año.

En Ecuador se cultivan cuatro variedades de tuna: amarilla sin espina, amarilla con espina, blanca y silvestre, principalmente en las provincias de Imbabura, Loja, Santa Elena y Tungurahua, con una extensión aproximada de 180 hectáreas (Chávez, 2017). En Imbabura se cultiva en los suelos semidesérticos del Valle del Chota, con una extensión aproximada de 40 ha (Samara, 2017). Tiene un rendimiento productivo que fluctúa entre 1000 a 1200 cajas de 20 kg por hectárea al año (Benalcázar, 2015). Además, contiene aproximadamente un 15% de carbohidratos de buena calidad (Velasco & Beltrán, 2010). En la medicina, el extracto y suplementos del cactus se utilizan para tratar la diabetes tipo 2, colesterol alto, colitis, diarrea y agrandamiento benigno de la glándula prostática (Paucara Condori, 2017).

El consumo de alimentos que proporcionen múltiples beneficios a la salud es una tendencia actual, debido a las enfermedades y padecimientos a causa de ciertas deficiencias nutricionales, lo que hace que los consumidores busquen productos que brinden estos beneficios. Por lo que es necesario realizar la presente investigación que tiene como finalidad extraer y cuantificar la inulina presente en la tuna *Opuntia ficus-indica* mediante el método de lixiviación, que podría ser utilizada para la elaboración de productos de carácter funcional y también para el mejoramiento de ciertos procesos agroindustriales, aprovechando la materia prima de rechazo de los productores de tuna del Valle del Chota, que no cumplen las normas de calidad para ser comercializadas.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Extraer la inulina presente de dos variedades de tuna *Opuntia ficus-indica* color roja y blanca del Valle del Chota por lixiviación, para la generación de materia prima como valor agregado.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar la caracterización fisicoquímica de la tuna *Opuntia ficus-indica*.
- Determinar el efecto de los factores temperatura y relación disolvente/soluto en el proceso de extracción de inulina mediante lixiviación.
- Comparar la cantidad de inulina presente entre las variedades de tuna *Opuntia ficus-indica* color roja y blanca.

1.4 HIPÓTESIS DE TRABAJO

1.4.1 Alternativa

Ha: La temperatura y relación disolvente/soluto influyen en el proceso de extracción de inulina mediante lixiviación.

1.4.2 Nula

Ho: La temperatura y relación disolvente/soluto no influyen en el proceso de extracción de inulina mediante lixiviación.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 GENERALIDADES DE LA TUNA *Opuntia ficus-indica*

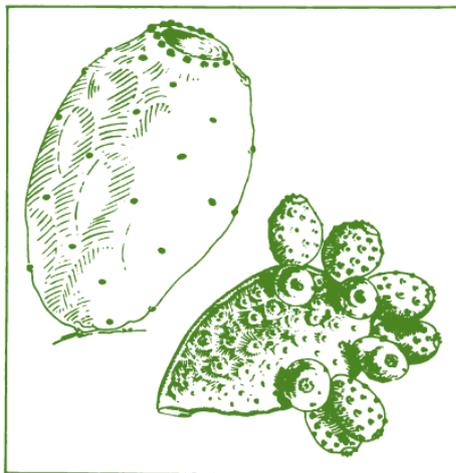


Figura 1. Ilustración del fruto y tallo de *Opuntia ficus-indica*

Fuente: (León, 1987)

La chumbera, nopal o tuna es una planta carnosa oriunda de México, la cual fue llevada por los españoles a Europa. La *Opuntia ficus-indica* es de gran interés para la alimentación de los animales (ganado vacuno, ovino y caprino). Su aspecto es muy característico; tallos articulados, formados de segmentos achatados, ovalados. El conjunto se ramifica para construir matorrales de dos a cuatro metros de altura, las flores rojizas dan frutos recubiertos por un sinnúmero de pinchos pequeños (Cujo & de la Torre, 1989).

2.1.1 Clasificación científica

Opuntia ficus-indica (L.), más conocida como tuna, pertenece a la familia de las cactáceas, especies que se desarrollan en suelos áridos y semiáridos, las cuales se caracterizan por acumular agua en su interior. Está compuesto por dos partes aptas para el consumo humano: los llamados nopalitos que corresponden a cladodios o pencas jóvenes y tiernas; y la tuna, el fruto del nopal (Moreno, Ileana, Romero, & Pouiller, 2015).

Tabla 1. Clasificación científica de la tuna

REINO	PLANTAE
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Caryophyllales
Familia	Cactaceae
Subfamilia	Opuntioideae
Género	<i>Opuntia</i>
Especie	<i>Ficus-indica</i>
Nombre binominal	<i>Opuntia ficus-induca</i> 1798 Mill

Fuente: (Ramos & M., 2014)

2.1.2 Descripción botánica

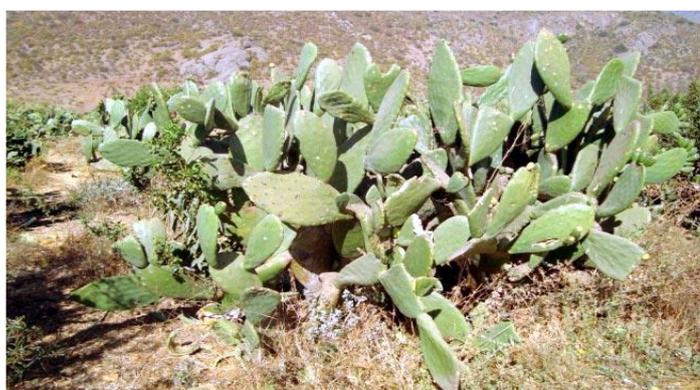


Figura 2. Ilustración de un cultivo silvestre de tuna *Opuntia ficus-indica*

Fuente: (Franck, 2010)

La tuna es un vegetal arborescente de 3 a 5 m de alto, su tronco es leñoso y mide de entre 20 a 50cm de diámetro, forma pencas denominadas cladodios de 30 a 60

cm de largo x 20 a 40 cm de ancho y de 2 a 3 cm de espesor, las flores localizadas en la parte superior de la penca miden entre 6 a 7 cm de longitud, cada aréola produce por lo general una flor, aunque no en una misma época de floración, el fruto es una baya polisperma de forma ovoide esférica de color verde y toma diferentes colores cuando maduran, son comestibles, agradables y dulces; la pulpa es gelatinosa conteniendo numerosas semillas, sus dimensiones y coloración varían según la especie; presentan espinas finas y frágiles de 2 a 3 mm de longitud, la longevidad promedio de las plantaciones de tuna a nivel comercial es de 5 a 7 años, alcanzando algunas veces hasta 10 años en terrenos apropiados, con un buen manejo de plagas y labores oportunas la planta de tuna puede llegar a vivir hasta 80 años alcanzando de 80 a 90 t/ ha/año de masa fresca (Marcelo, Rodríguez, & Alva, 2009).

2.1.3 Beneficios de la tuna

En los últimos años la comunidad científica ha mostrado mayor interés con respecto a los beneficios que proporciona la tuna a la salud. Diferentes investigaciones han demostrado la mejora de la función plaquetaria, la reducción de lípidos y triglicéridos en la sangre y el colesterol total y la reducción de las concentraciones de isopropanos en la sangre lo cual indica un menor daño oxidativo (Velasco & Beltrán, 2010).

Tabla 2. Composición química de la pulpa de tuna

Nutrientes	Valores por cada		Valores por cada	
	nutriente	Nutrientes	nutriente	
	100 g de pulpa		100 g de pulpa	
Humedad (g)	84-49	Rivoflavina (mg)	0,06	
Energía (kcal/kJ)	47-67/196-280	Niacina (mg)	0,46	
Proteína (g)	0,73	Vitamina B-6 (mg)	0,06	
Lípidos totales (g)	0,51	β-Caroteno (mg)	25,00	
Cenizas (g)	1,64	β-Cryptoxantina (mg)	3,00	
Carbohidratos (g)	10-15	Vitamina A	43,00	

Fibra total (g)	3,60	Aminoácidos	
Minerales		Prolina (mg/l)	1768,70
Calcio (mg)	59,00	Glutamina (mg/l)	574,60
Hierro (mg)	0,30	Taurina (mg/l)	572,10
Magnesio (mg)	98,40	Serina (mg/l)	217,50
Fosforo (mg)	24,00	Alanina (mg/l)	96,60
Potasio (mg)	220,00	Ácido glutámico (mg/l)	83,00
Sodio (mg)	5,00	Metionina (mg/l)	76,90
Zinc (mg)	0,12	Lisina (mg/l)	53,30
Cobre (mg)	0,08	Lípidos	
Selenio (mcg)	0,60	Ácidos grasos (saturados)(g)	0,06
Vitaminas		Ácidos grasos (monoinsaturados) (g)	0,07
Ácido ascórbico (mg)	18-23	Ácidos grasos (poliinsaturados) (g)	0,21
Tiamina (mg)	0,014		

Fuente:(Velasco & Beltrán, 2010)

2.1.4 Estudios sobre la tuna y la inulina

Se estudió las potencialidades de producir inulina en Cuba, como suplemento alimenticio por sus excepcionales características nutricionales, a partir de la Tuna (*Opuntia ficus-indica*). Se realiza un estudio de selección de la materia prima teniendo en cuenta contenido de inulina, disponibilidad, entre otros aspectos. Se llevó a cabo un estudio experimental para obtener el modelo de rendimiento de extracción teniendo en cuenta la temperatura y tiempo de extracción, así como la relación disolvente/materia y se determinó la presencia de inulina utilizando la cromatografía de capa fina. Los resultados experimentales demuestran la presencia de inulina en la tuna y el desarrollo de un modelo que permite establecer el rendimiento del proceso de extracción ante la influencia de diferentes variables de operación (Benítez, Pérez, Álvares, Collado, & González, 2015).

2.2 INULINA

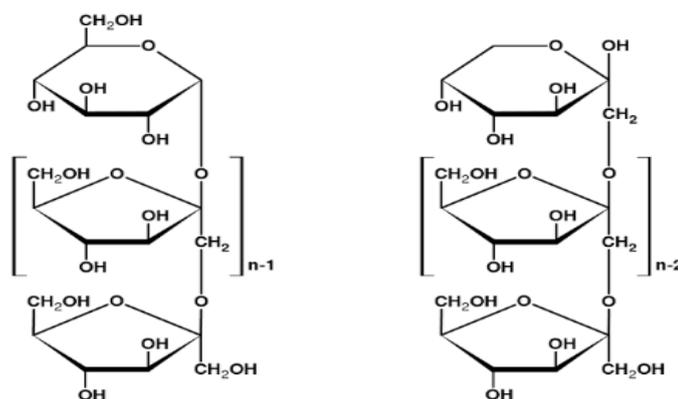


Figura 3. Estructura básica de la inulina: Izquierda, con una molécula terminal de glucosa (β -D-glucopiranosil). Derecha con una molécula terminal de fructosa (β -D-fructopiranosil)

Fuente: (Hernández, González, & Amador, 2010)

La inulina es un carbohidrato de reserva energética presente en más de 36.000 especies de plantas, la historia de esta se sitúa por el año 1804 con un científico alemán denominado Rose quien aisló por primera vez una sustancia peculiar de una planta utilizando agua caliente (Flickinger, Van Loo, & Fahey, 2003). Esa planta fue *Inula helenium* y la sustancia fue llamada después inulina por Thomson en 1818. La inulina químicamente se ha definido como un material polidisperso de hidrato de carbono que está compuesto de cadenas de 25 a 30 moléculas de fructosa unidas por enlaces $\beta(1-2)$ glucosídicos y terminada con una molécula de sacarosa. Es importante señalar que la inulina es degradada a oligómeros de cadena más corta en disolución acuosa debido a la acción de hidrolasas y luego convertidas a sacarosa (Campos, Pedraza, & Guzmán, 2013).

2.2.1 Características físicas y químicas de la inulina y derivados

Los fructanos por su configuración química no pueden ser hidrolizados por las enzimas digestivas del hombre y de animales, por lo que permanecen intactos en su recorrido por la parte superior del tracto gastrointestinal, pero son hidrolizados y fermentados en su totalidad por las bacterias de la parte inferior del tracto gastrointestinal (intestino grueso, colón). De esta manera, este tipo de compuestos

se comportan como fibra dietética. Los fructanos aportan un valor calórico reducido (1,5 kcal/g) si se comparan con los carbohidratos digeribles (4 kcal/g). A nivel industrial, la inulina se presenta como un polvo blanco, sin olor, con sabor neutral y sin efecto residual, además de su presentación en polvo se consigue como jarabe viscoso (75% de materia seca), ambos incoloros. La inulina nativa, a diferencia de la inulina HP (*high performance*) o de alta pureza, contiene azúcares libres (glucosa, fructosa, sacarosa), lo que le confiere cierto dulzor (10% del dulzor de la sacarosa). La inulina HP presenta menor solubilidad que la inulina nativa, debido a la casi total ausencia de azúcares libres (0,5 % de materia seca) (Hernández, González, & Amador, 2010).

La viscosidad de la oligofructosa a 10°C en solución acuosa al 5% p/p, es la menor de los fructanos y es una característica clave para la formación de geles y su uso como un sustituto de grasas. La inulina también mejora la estabilidad de emulsiones y espumas, por lo que se usa como estabilizante en diversos productos alimenticios (helados, salsas, untables, postres cremosos, etc.) (Madrigal & Sangronis, 2007).

Tabla 3. Características fisicoquímicas de la inulina, inulina de “alto desempeño” (HP)

Características	Inulina	Inulina HP (<i>high performance</i>)	Oligofructosa
Estructura química (*)	GFn (2 = n = 60)	GFn (10 = n = 60)	GFn + Fn (2 = n = 7)
GP _{prom}	12	25	4
Materiaseca (g/100g)	95	95	95
Pureza (g/100g)	92	99,5	95
Azúcares (g/100g)	8	0,5	5
pH	5 – 7	5 – 7	5 – 7
Cenizas (g/100g)	< 0,2	< 0,2	< 0,2
Metales pesados (g/100g secos)	< 0,2	< 0,2	< 0,2
Apariencia	Polvo blanco	Polvo blanco	Polvo blanco o jarabe viscoso
Sabor	Neutral	Neutral	Moderadamente dulce
Dulzor % (vs. sacarosa=100%)	10	Ninguno	35
Solubilidad en agua a 25°C (g/L)	120	125	> 750

Viscosidad en agua (5% p/p sol. acuosa) a 10 °C (mPa.s)	1,6	2,4	< 1,0
Funcionalidad en alimentos	Sustituto de grasas	Sustituto de grasas	Sustituto de azúcar
Sinergismo	Con agentes gelificantes	Con agentes gelificantes	Con edulcorantes intensos

(*) G: unidades de glucosa, F: unidades de fructosay oligofructosa

Fuente: (Madrigal & Sangronis, 2007)

2.2.2 Fuentes de inulina

A nivel industrial, la inulina se produce principalmente para la industria alimenticia; entre las especies de plantas que producen mayor cantidad de inulina se identifican las del grupo *Liliaceae* (ajo, cebolla, espárragos) y *Compositae* (achicoria, pataca o tupinambo y yacón), estas especies, sobre todo la pataca (*helianthus tuberosus*) y la achicoria (*Cichorium intybus*) son las que se utilizan a nivel industrial para la extracción de inulina. La inulina nativa a diferencia de la inulina HP o de alta pureza, contiene azúcares libres (glucosa, fructosa, sacarosa) lo que le confiere cierto dulzor (Hernández, González, & Amador, 2010).

Tabla 4. Contenido promedio de inulina en diferentes especies vegetales

Especie vegetal	Inulina (g/100g base seca)
Pataca (<i>Helianthus tuberosus</i>)	89
Achicoria (<i>Cichorium intybus</i>)	79
Raíz de 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
Tuna (<i>Opuntia ficus-indica</i>)	9
Espárrago (<i>Asparragus officinalis</i> L.)	4
Cambur (<i>Musa cavendishii</i>)	2
Centeno (<i>Secale cereale</i>)	1

Fuente: (Caballero & Jiménez, 2012)

Tabla 5. Porcentaje de inulina en peso fresco desde algunas fuentes importantes

Fuente	Inulina (%)
Ajo	15-20
Espárragos	10-15
Salsifí	15-20
Alcachofa de Jerusalem	15-20
Tubérculos de Dalia	15-20
Raíces de Achicoria	15-20

Fuente: Traducido al español de:(Kaur & Gupta, 2002)

2.2.3 Aplicaciones

Es evidente que la inulina representa una materia prima con gran potencial para la producción de fructosa. La inulina se extrae de las plantas con agua caliente y se puede hidrolizar químicamente por la adición de ácidos fuertes, a un pH de 1-2, a 80-100°C; sin embargo, la fructosa es inestable a valores de pH ácidos y bajo las condiciones de reacción se obtiene un producto oscuro, por lo que la hidrólisis enzimática ofrece una alternativa importante. En la actualidad, se aplica para la producción de fructo-oligosacáridos y se ha propuesto como aditivo en el proceso tequilero (Dergal, 2006).

La inulina casi no tiene sabor dulce, su consistencia especial y su baja solubilidad relativa en agua la convierte en un sustituto excelente para la elaboración de varios tipos de alimentos, como helados y postres. Para el enriquecimiento en fibra, para la sustitución de materia grasa, y como suplemento en fibras alimentarias en productos (Seminario, Valderrama, & Manrique, 2003), sus derivados ofrecen múltiples usos como ingredientes en la formulación de productos (Tabla 6), tiene propiedades similares a las del almidón, mientras que la oligofructosa presenta propiedades más parecidas a la sacarosa. 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. La capacidad de formar gel es determinante en su uso como sustituto de grasas en productos lácteos, untables, aderezos, salsas y otros productos en los que las

propiedades funcionales que otorgan las grasas son indispensables para lograr los efectos sensoriales deseados por los consumidores (Madrigal & Sangronis, 2007).

Tabla 6. Propiedades funcionales de la inulina y 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 emulsión, textura y capacidad de ser untado, sustituto de grasas
Productos horneados	Disminución de a_w , 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

Fuente: (Madrigal & Sangronis, 2007)

2.3 MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE INULINA Y DERIVADOS

Los métodos AOAC oficiales están ampliamente aceptados para el etiquetado general del contenido de nutrientes de los alimentos, así como para las declaraciones de propiedades saludables y nutricionales. Los métodos AOAC están diseñados para extraer con precisión las matrices alimentarias y son métodos estudiados, rentables y reproducibles en diversos entornos analíticos en los que se basa el sector alimenticio. Son los métodos más estudiados y homologados de que se disponen para la cuantificación de componentes alimentarios. Estos métodos se han evaluado científicamente para ser métodos de referencia. Debido a la complejidad de la estructura molecular de las fibras, se desarrollaron posteriormente otros métodos AOAC para cuantificar los componentes específicos de la fibra dietética en los alimentos (a saber, el AOAC 999.03 de análisis de los fructanos). Al centrarse en un único componente, estos métodos aportan mayor especificidad y precisión, cualidades necesarias para detectar las fibras presentes en

los productos alimenticios. Igual importancia tiene el análisis rutinario y rentable que facilitan estos métodos de análisis de componentes específicos. El AOAC 997.08 y el 999.03 para calcular los fructanos, estos métodos específicos permiten la cuantificación de los componentes particulares de la fibra dietética. Están basados principalmente en la hidrólisis enzimática de los polímeros, seguida de la detección colorimétrica o cromatográfica de los monosacáridos liberados. La limitación de estos métodos es que, por lo general, se debe conocer el tipo de fibra dietética antes de proceder con el análisis (Grupo de trabajo electrónico, 2009).

2.3.1 Método (AOAC 997.08) determinación de fructanos en productos alimenticios

El método AOAC 997.08 se basa en tres etapas: extracción, hidrólisis por acción enzimática y determinación de los azúcares libres por cromatografía. Se parte una solución acuosa del producto alimenticio que contenga aproximadamente 1% (p/v) de fructanos. La extracción de los fructanos se realiza en dos pasos. En el primero se usa agua hirviendo, con agitación continua a pH 6,6 - 8,0 y se completa la extracción en un segundo paso, la solución se mantiene en agitación a 80°C por un tiempo de 10 min, se deja reposar hasta alcanzar la temperatura ambiente. Se toma una alícuota (aprox. 50 g) para ser sometida a la primera determinación cromatográfica de azúcares (glucosa, fructosa y sacarosa) a partir de la cual, y mediante cálculos analíticos, se obtendrá la cantidad de fructosa libre (F_f) y de sacarosa (S), que inicialmente estaban presentes en la muestra. Se toma otra alícuota de la solución obtenida por extracción (aprox. 15 g) para ser sometida a la primera hidrólisis enzimática con amiloglucosidasa. Para garantizar la reacción la solución se debe mantener a 60°C por un tiempo de 30 min con suave agitación, se deja reposar la solución hasta que llegue a temperatura ambiente, se toma una alícuota de aprox. 10 g para realizar la segunda determinación cromatográfica de azúcares. De esta determinación intermedia, se obtendrán las cantidades de glucosa libre (G_f), y de la glucosa obtenida a partir de las maltodextrinas (G_m) y almidones. El resto de la solución obtenida de la primera hidrólisis enzimática se somete a una segunda hidrólisis con inulinasa a 60°C por 30 min. De la determinación cromatográfica de

este última solución se obtienen las cantidades de glucosa total (G_t) y fructosa total (F_t), ya que se asume que todas las moléculas poliméricas de los fructanos han sido hidrolizadas hasta la forma de moléculas simples de los diferentes azúcares. A partir de todos los cálculos analíticos realizados se puede obtener el contenido total de fructanos, mediante la siguiente ecuación:

$$\varphi = k \cdot (G + F) \quad \text{Ecuación 2.3.1-1}$$

Donde, φ es el contenido total de fructanos presentes en la muestra, G es el contenido de glucosa y F es el contenido de fructosa, ambos proveniente de los fructanos. Mientras que k es un factor de corrección (por el agua absorbida después de la hidrólisis) que depende del grado de polimerización de la inulina presente. El factor de corrección se obtiene a partir de la siguiente ecuación:

$$k = \frac{180+162(n-1)}{180n} \quad \text{Ecuación 2.3.1-2}$$

En donde n , representa el grado de polimerización promedio. En particular para la inulina proveniente de la achicoria se puede usar $n = 10$ ($k=0,91$) y para la oligofructosa $n = 4$ ($k = 0,925$) (25). Por otro lado, para el cálculo de G y F (glucosa y fructosa provenientes de las moléculas de fructanos), y tomando en cuenta el procedimiento de la Figura 5, se tienen las siguientes ecuaciones:

$$G = G_t - G_s - G_f - G_m \quad \text{Ecuación 2.3.1-3}$$

$$F = F_t - F_s - G_f \quad \text{Ecuación 2.3.1-4}$$

Donde G_s y F_s , se refieren a la glucosa y fructosa, respectivamente, que hayan sido liberadas por la sacarosa en el proceso de hidrólisis, que son determinadas como $G_s=S/1,9$ y similarmente $F_s=S/1,9$.

En particular en cuanto al método cromatográfico, el estándar AOAC 997.08 especifica que debe ser usado un equipo de cromatografía de intercambio iónico de alto desempeño, con detección de pulsos amperométricos (HPAEC-PAD por sus siglas en inglés), ya que en investigaciones anteriores se evidenciaron desviaciones

significativas en los resultados, cuando fueron empleados otros sistemas de detección.

A pesar de que el método estándar AOAC 997.08 resulta muy confiable en sus resultados, su aplicación requiere mucho tiempo y es indispensable el uso de un aparato específico de cromatografía.

2.3.2 Método (AOAC 999.03) medición del fructano total en alimentos

Es así como existen otros métodos estándares para la determinación, entre ellos se encuentra el método AOAC 999.03 el cual consiste básicamente en extraer los “fructanos” con agua caliente. Alícuotas del extracto se tratan con una enzima sacarasa específica para hidrolizar la sacarosa en glucosa y fructosa, y con una mezcla de enzimas que degradan el almidón puro hidrolizándolo a glucosa. Todos los azúcares reductores se reducen a alcoholes de azúcar con borohidruro alcalino. Los fructanos se hidrolizan a fructosa y glucosa con fructanasa purificada (exo-inulinasa más endo-inulinasa), y estos azúcares se miden por el método de hidrazida del ácido p-hidroxibenzoico (PAHBAH) para la reducción de azúcares espectrofotométricamente.

Posee la limitación de que los compuestos provenientes de la hidrólisis de la inulina (del tipo F_n) son subestimados.

2.4 LIXIVIACIÓN (EXTRACCIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO)

Lixiviación o extracción sólido-líquido, se utiliza para disolver materia soluble a partir de su mezcla con un sólido insoluble. Esta operación unitaria, una de las más antiguas en la industria química, ha recibido muchos nombres, según la técnica más o menos compleja utilizada para llevarla a cabo. El término extracción también se emplea por lo común para describir esta operación particular, aunque también se aplica a todas las operaciones de separación, que utilicen métodos de transferencia de masa o mecánicos (McCabe, Smith, & Harriott, 1998).

2.4.1 Factores

En lixiviación se encuentran dos situaciones. En la primera de ellas se dispone de disolvente en cantidad más que suficiente para disolver todo el soluto, y en el equilibrio todo el soluto se encuentra en disolución. Existen, por tanto, dos fases, la sólida y la disolución. El número de componentes $\mathcal{C}=3$ y número de grados de libertad $\mathcal{F}=3$. Las variables son temperatura, presión y concentración de soluto en la disolución. Todas ellas son variables independientes. En el segundo caso, la cantidad de disolvente disponible es insuficiente para disolver todo el soluto y el exceso de soluto permanece como una fase sólida en equilibrio con el líquido. Por tanto, número de fases $\mathcal{P}=3$, de forma que $\mathcal{F}=2$. Las variables son temperatura, presión y concentración de la disolución saturada. Si la presión está fijada, la concentración depende de la temperatura. La relación viene dada por la curva de solubilidad (McCabe, Smith, & Harriott, 1998).

2.4.1.1 Factores que afectan la velocidad de extracción

Según Treybal(1988), los factores que afectan en la velocidad de extracción son:

- **Preparación del sólido.** - El éxito de una lixiviación y la técnica que se va a utilizar dependen con mucha frecuencia de cualquier tratamiento anterior que se le pueda dar al sólido. La trituración y molienda de estos sólidos acelerará bastante la acción de lixiviación, porque las porciones solubles son entonces más accesibles al disolvente.
- **Temperatura de lixiviación.** - Por lo general se desea realizar la lixiviación a temperaturas lo más elevadas posible. Las temperaturas elevadas producen la mayor solubilidad del soluto en el disolvente y, en consecuencia, concentraciones finales mayores en el licor de lixiviación. A temperaturas elevadas la viscosidad del líquido es menor y mayores las difusividades; esto incrementa la rapidez de lixiviación.
- **Naturaleza del disolvente.** - La exposición a un disolvente adecuado. El líquido debe ser lo más selectivo posible y de baja viscosidad para que penetre fácilmente en los poros del sólido.

2.5 FILTRACIÓN

El proceso de filtración es aquella operación de separación sólido - fluido en la que se produce la separación de partículas sólidas o gotas de líquidos o gases a través de un medio filtrante filtro, aunque a veces se utiliza en otros procesos de separación. En el caso de filtración sólido-líquido, el líquido separado se denomina filtrado, efluente, permeato o agua clara (Martín, Salcedo, & Font, 2011).

2.5.1 Tipos de filtración

Martín, Salcedo, & Font(2011) Describe los siguientes procesos de filtración:

- **Filtración de torta (cake filtration) o comúnmente filtración**, donde las partículas de sólido se acumulan sobre el filtro, donde el medio filtrante posee unos poros que no permiten pasar las partículas de sólidos, formándose una torta. Se pretende separar el sólido del fluido, y en muchas ocasiones el alimento puede proceder de un sedimentador. Es el proceso de filtración por excelencia, donde la torta formada va creciendo, y por tanto, hay que retirarla o eliminarla cada cierto tiempo.
- **Filtración de lecho profundo o de medio filtrante**, donde se pretende obtener un efluente clarificado sin partículas finas a partir de un alimento con bajo contenido en sólidos (menor de 0.1 % en peso). En este tipo de filtración, se pretende eliminar sólidos muy finos y muy diluidos mediante circulación a través de un lecho granular con sólidos medios o gruesos.
- **Filtración de flujo cruzado o ultrafiltración**, donde los sólidos (desde 5 μm hasta 0.03 μm) son separados en flujo tangencial al medio filtrante y separados continuamente sin acumulación sobre el medio filtrante, que son membranas.

2.6 NEUTRALIZACIÓN

Permite conocer el grado de conversión de una reacción cerca al punto de equivalencia, así como el pH en el punto de equivalencia, los ácidos y bases varían

en su extensión de ionización con que un protón puede ser cedido por un ácido y aceptado por una base, lo que determina el pH en el punto de equivalencia. Las valoraciones ácido – base tienen como fundamento las reacciones que se conocen con el nombre de “neutralizaciones”, es necesario conocer los principios que rigen los equilibrios ácido base, con el objeto de comprender, sí las valoraciones son realizables y el porqué de la variación del pH a lo largo de la valoración. Es necesario tener un conocimiento claro del pH en el punto estequiométrico para elegir el indicador adecuado (Pio, 2009).

2.7 CARBONATACIÓN

El principio de este método consiste en la formación de carbonato de calcio CaCO_3 por medio de la siguiente reacción: $\text{Ca(OH)}_2 + \text{CO}_2 \rightarrow \text{CaCO}_3 + \text{H}_2\text{O}$, a elevadas temperaturas, y la precipitación de algunas sustancias coloidales por el cambio de pH y la adsorción de colorantes y no-azúcares en los flóculos de CaCO_3 . El incremento de la alcalinidad coagula las proteínas del zumo. El método más conveniente es el de la carbonatación simultánea, continua o no continua, en la que los reductores no se descomponen notablemente, aún a los 80 °C. De esta manera se logra una buena filtrabilidad de la cachaza. Según la calidad de los crudos se establecerá el porcentaje de cal, que nunca deberá ser inferior al 0,5 %. El Baumé de la lechada de cal se moverá en el rango entre 14 y 16 grados. Al comparar la fosfatación con la carbonatación se evidencia que esta última es más ventajosa. Los productos resultantes son de más calidad, sobre todo el brillo del azúcar (Casanova Cabeza, Almazán del Olmo, Cordovés Herrera, & Lodos Fernández, 2016).

2.8 ESPECTROFOTOMETRÍA

La espectrofotometría es una técnica que mide la interacción de moléculas con la radiación electromagnética. La luz que se encuentra en la luz visible y la luz ultravioleta de los espectros electromagnéticos presenta una energía de 150- 400 kJmol. La energía de la luz es usada para promover electrones de un estado de excitación a otro. Un espectro es obtenido cuando la absorción de luz es medida en función de una frecuencia o longitud. Moléculas con electrones deslocalizados en

sistemas aromáticos a menudo absorben la luz a 150-400 nm (ultravioleta) o en la región visible de 400-800 nm. La espectrofotometría de absorción es usualmente usada con moléculas disueltas en un solvente transparente. La absorbancia de un soluto depende linealmente de la concentración y por consiguiente la espectrofotometría de absorción es ideal para hacer mediciones cuantitativas. La longitud de absorción y la fuerza de absorbancia de una molécula no sólo depende de la naturaleza química, si no del ambiente molecular en donde se encuentre el cromóforo. Las mediciones espectroscópicas son muy sensibles y se requieren pequeñas muestras de material para el análisis (Arenas Sosa & López Sánchez , 2004).

2.8.1 Transmitancia y absorbancia

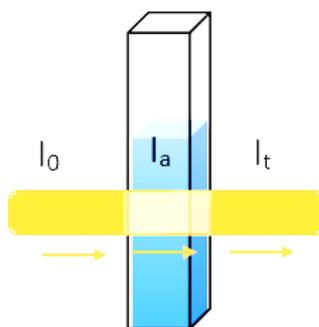


Figura 4. Incidencia de luz sobre celda con solución coloreada

Cuando un rayo de luz de una determinada longitud de onda de intensidad I_0 incide perpendicularmente sobre una disolución de un compuesto químico que absorbe luz o cromóforo, el compuesto absorberá una parte de la radiación incidente (I_a) y dejará pasar el resto (I_t), de forma que se cumple: $I_0 = I_a + I_t$. La transmitancia (T) de una sustancia en solución es la relación entre la cantidad de luz transmitida que llega al detector una vez que ha atravesado la muestra, I_t , y la cantidad de luz que incidió sobre ella, I_0 , y se representa normalmente en tanto por ciento: $\% T = I_t/I_0 \times 100$. La relación entre $\%T$ y la concentración no es lineal, pero asume una relación logarítmica inversa. La absorbancia (A) nos indica la cantidad de luz absorbida por la misma, y se define como el logaritmo de $1/T$, en consecuencia: $A = \log 1/T = -\log T = -\log I_t/ I_0$ (Abril Díaz, y otros, 2009).

2.8.2 Curvas de calibrado

Una curva de calibración es la representación gráfica de una señal que se mide en función de la concentración de un analito. La calibración incluye la selección de un modelo para estimar los parámetros que permitan determinar la linealidad de esa curva y, en consecuencia, la capacidad de un método analítico para obtener resultados que sean directamente proporcionales a la concentración de un compuesto en una muestra, dentro de un determinado intervalo de trabajo (Dosal & Vullanueva, 2008).

2.8.2.1 Método de estándar externo

Un estándar o patrón externo, es aquel que se prepara fuera de la muestra problema. Se aplica este método cuando se desea determinar la concentración de un analito en la que, ni los componentes de la matriz de la muestra ni los reactivos usados en el procedimiento interfieren en el análisis (Espejo Cuadrado, 2016).

2.8.2.2 Método de estándar interno

Método utilizado para compensar errores debidos a fluctuaciones debidas a la técnica analítica. Los patrones internos, además, se consideran muy útiles, cuando la concentración de la muestra o la respuesta instrumental varía cada vez que se utiliza, por razones desconocidas y difíciles de controlar. También es un método de utilidad cuando se producen pérdidas del analito durante el proceso (Espejo Cuadrado, 2016).

2.8.2.3 Método de adición de estándar

En ocasiones la matriz de la muestra es compleja y/o desconocida. Por ejemplo, una muestra de sangre contiene muchos constituyentes que no pueden ser incorporados a los estándares en las disoluciones de los utilizados para la curva de calibración; en este caso lo que se recomienda es añadir a la muestra pequeños volúmenes de una disolución de un estándar concentrado; de esta manera la matriz que contiene el estándar no difiere mucho de la propia muestra (Dosal & Vullanueva, 2008).

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1 CARACTERIZACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

3.1.1 Ubicación del experimento

La presente investigación se realizó en la provincia de Imbabura, cantón Ibarra. El desarrollo de pruebas preliminares y la fase experimental se efectuó en el laboratorio de Análisis Experimental e Innovación de la Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales (FICAYA) de la Universidad Técnica del Norte (UTN). La tabla 7, indica las características del lugar de acuerdo al departamento de metodología de la ciudad de Ibarra.

Tabla 7. Ubicación del experimento

Provincia:	Imbabura
Cantón:	Ibarra
Cuidad:	Ibarra
Lugar:	laboratorio de Análisis Experimental e Innovación
Altitud:	2250m.s.n.m.
HR. Promedio:	73 %
Temperatura:	17,4 °C
Pluviosidad:	503 – 1000 mm. Año

Fuente: Departamento de Meteorología de la Ciudad de Ibarra (2014)

3.2 MATERIALES

En la presente investigación se utilizó los siguientes materiales, equipos y sustancias:

3.2.1 Materiales y equipos de laboratorio

3.2.1.1 Materiales

- Vasos de precipitación de 100 ml A= [± 10 ml]
- Vasos de precipitación de 600 ml A= [± 100 ml]
- Erlenmeyer de 250 ml A= [± 50 ml]
- Probeta de 250 ml A= [± 2 ml]
- Pipeta de 5 ml A= [± 0.05 ml]
- Pipeta de 1 ml A= [± 0.01 ml]
- Tubos de ensayo con tapa
- Balón aforado de 50 ml
- Balón aforado de 250 ml
- Papel filtro
- Gradilla para tubos de ensayo
- Membranas de filtración
- Jeringas de 5 ml
- Celdas o cubetas para espectrofotómetro

3.2.1.2 Equipos

- Termómetro digital A= [± 0,1 °C] R= [-50 a +300] °C
- Termómetro de mercurio A= [± 1 °C] R= [-20 a + 100] °C
- Agitador mecánico
- Balanza analítica A= [± 0.1 g]
- Cronómetro A= [± 0.1 min]
- Triturador
- Baño térmico SHAKER
- Estufa
- Medidor de pH (potenciómetro)
- Espectrofotómetro Uv-Visible

3.2.1.3 Sustancias y reactivos

- Tuna
- Agua Tipo 1 H₂O
- Alcohol potable C₂H₅OH 50%
- Etanol C₂H₅OH 96 %
- Hidróxido de calcio Ca(OH)₂ 0.1 M
- Ácido clorhídrico HCl 0,05 N
- Carbonato de sodio Na₂CO₃ 0.045 M
- Cianuro de potasio KCN 0.0092 M

- Bicarbonato de sodio NaHCO₃ 0.109 M
- Ferricianuro de potasio K₃Fe(CN)₆ 0.0015 M
- Sulfato férrico amoniacal (FeNH₄(SO₄))₂ 0.0106 M
- Ácido sulfúrico H₂SO₄ 0.05 M
- Inulina de achicoria marca Sigma

3.3 METODOLOGÍA

3.3.1 Caracterización fisicoquímica de la tuna

Para la caracterización de la materia prima de dos variedades de tuna; roja y blanca, se realizaron los siguientes análisis físico-químicos de: humedad, fibra, pH, azúcares reductores y azúcares totales.

Tabla 8. Análisis empleados para caracterizar la materia prima

ANÁLISIS	Norma técnica	UNIDADES
Contenido acuoso (humedad)	AOAC 925.10	%
Fibra cruda	NTE INEN 522	%
pH	NTE INEN 526	pH
Azúcares Reductores libres	Fehling	%
Azúcares Totales	AOAC 906.04	%

3.3.2 Diseño experimental

En la presente investigación se utilizó un Diseño Completamente al Azar con arreglo factorial A x B en el que (A) corresponde a Temperatura de extracción y (B) Relación disolvente/soluto.

3.3.2.1 Características de la unidad experimental

La unidad experimental constó de una masa fija de 50 gramos de tuna para cada tratamiento.

3.3.2.2 Análisis estadístico

En la tabla 9, se describe la estructura que se utilizó para interpretar los datos en la variable de inulina cuantificada como azúcares reductores.

Tabla 9. Análisis de varianza para el diseño

FUENTES DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD
Total	11
Tratamientos	3
Factor A	1
Factor B	1
Interacciones AxB	1
Error Experimental	8

3.3.2.3 Análisis funcional

Se aplicó las pruebas de significación de Tukey al 5% a los tratamientos que presentaron significación.

3.3.3 Factores en estudio

La presente investigación asumió como factores en estudio los siguientes:

3.3.3.1 Factor A: Temperatura

Se estudió el efecto de aplicar dos niveles de temperatura; 75 y 85 °C en el proceso de extracción de inulina.

Tabla 10. Descripción de niveles del factor A

FACTOR A NIVELES	
A1	75 °C
A2	85 °C

3.3.3.2 Factor B: Relación disolvente/soluto

Se estudió el efecto de suministrar dos niveles de relación disolvente/soluto; 3 y 4 ml/g el proceso de extracción de inulina.

Tabla 11. Descripción de niveles del factor B

FACTOR B NIVELES	
B1	3 ml H ₂ O / g Tuna
B2	4 ml H ₂ O / g Tuna

Para cada combinación se estableció un tiempo de extracción de 45 min con agitación constante $\alpha= 200$ rpm

3.3.3.3 Tratamientos

Tabla 12. Descripción y nomenclatura de los tratamientos.

TRATAMIENTOS	COMBINACIONES	DESCRIPCIÓN
T1	A1B1	75 °C, 3 ml H ₂ O / g Tuna
T2	A1B2	75 °C, 4 ml H ₂ O / g Tuna
T3	A2B1	85 °C, 3 ml H ₂ O / g Tuna
T4	A2B2	85 °C, 4 ml H ₂ O / g Tuna

3.3.3.4 Variable a evaluarse

Variable cuantitativa

Con la finalidad de cuantificar la cantidad de inulina presente en las dos variedades de tuna, esta fue considerada como azúcares reductores y cuantificada utilizando el método de Park-Johnson modificado por Hizukuri.

3.3.4 Extracción y cuantificación

Se utilizó el método AOAC 999.03. Método oficial para determinar inulina y FOS, el cual consiste básicamente en extraer los fructanos con agua caliente. Para luego ser cuantificado el valor de inulina expresada como azúcares reductores, utilizando el método de Park Johnson modificado por (Hizukuri, Takeda, Yasuda, & Suzuki, 1981).

Tabla 13. Procedimiento seguido para la cuantificación de inulina como azúcares reductores

MUESTRA	REPETICIONES		
	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3
Extracto crudo	1 ml	1 ml	1 ml
Reactivo A	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml
Reactivo B	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml
Todos los tubos con las soluciones ya añadidas fueron puestos en agua a temperatura de ebullición por 15 minutos Luego se enfriaron en agua por 10 minutos			
Reactivo C	2.5 ml	2.5 ml	2.5 ml
Se dejó enfriar a temperatura ambiente y se procedió a leer su absorbancia a 715 nm.			

Reactivos

Los reactivos y estándares empleados fueron:

- **Reactivo A:** Solución de cianuro de potasio **KCN** (9.2 mM), carbonato de sodio **Na₂CO₃** (45 mM), bicarbonato de sodio **NaHCO₃** (109 mM).
- **Reactivo B:** Solución de ferricianuro de potasio **K₃Fe(CN)₆** (1.5 mM).
- **Reactivo C:** Solución de sulfato férrico amoniacal (**FeNH₄(SO₄)₂**) (10.6 mM), ácido sulfúrico **H₂SO₄** (50 mM).
- **Estándar de inulina de chicoria marca Sigma:** 1 mg/ml

3.4 MÉTODO DE PROCESAMIENTO

El experimento consistió de varios procedimientos secuenciales, los cuales se encuentran especificados en el diagrama de extracción de inulina de tuna.

3.4.1 Diagrama de proceso de extracción adaptado a las condiciones de operación

En la figura 5 se observa el proceso de extracción de inulina planteado por (Álvarez, Ruano, Calle, & Lara Fiallos, 2014) con ciertas modificaciones adecuadas para esta investigación.

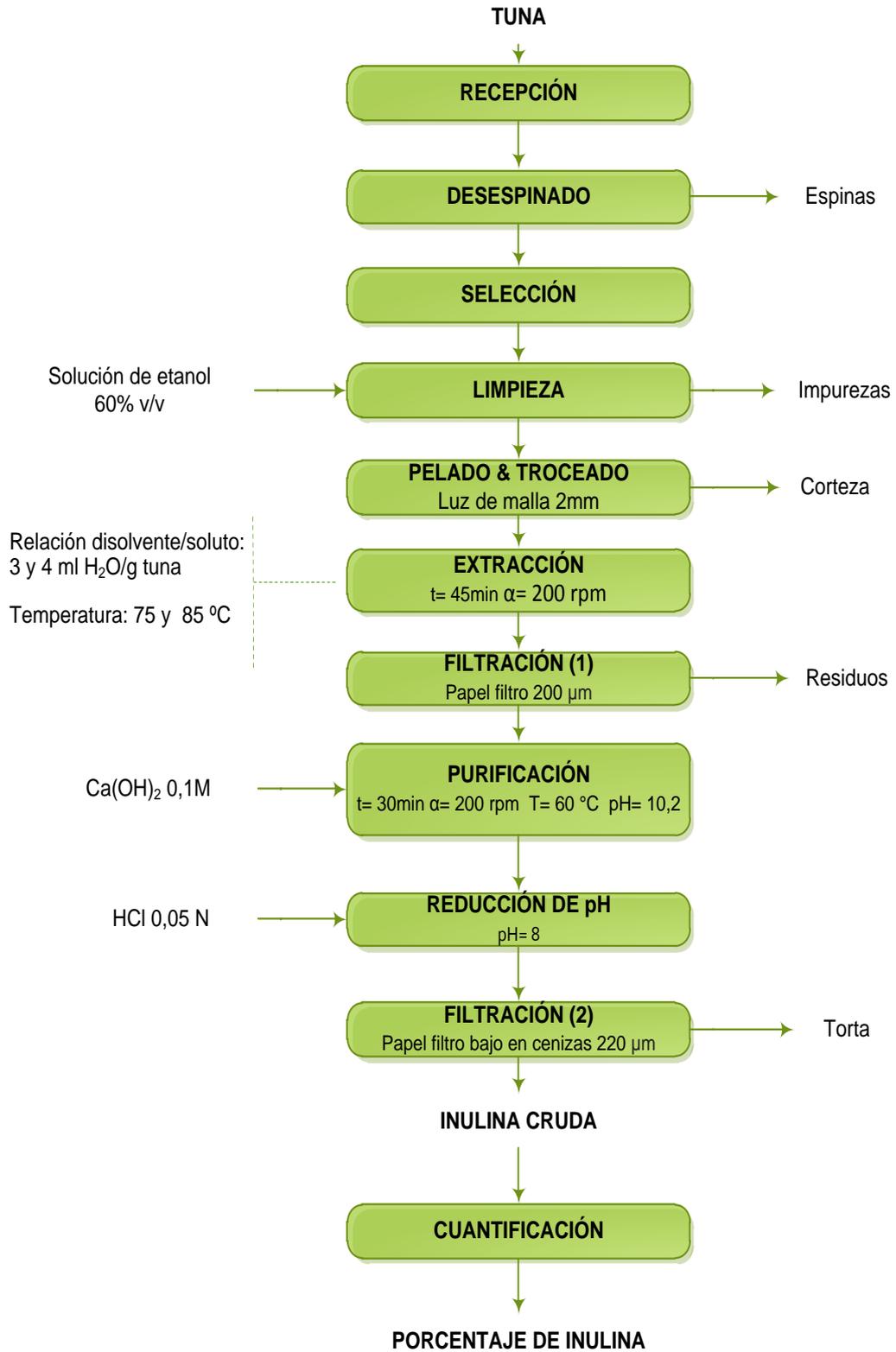


Figura 5. Diagrama de proceso de extracción y determinación de inulina de tuna

3.5 DETALLE DEL PROCESO

Para la extracción de inulina presente en la tuna, se realizó los siguientes procesos:

3.5.1 Recepción de materia prima

La materia prima utilizada en esta investigación fue adquirida de los cultivos de tuna del Valle del Chota, sector El Mirador con un grado de madurez de cosecha comercial.



Figura 6. Cultivos de tuna del Valle del Chota

3.5.2 Desespinado

Este proceso consistió en eliminar la mayor cantidad de espinas o ahuates presentes en la tuna, mediante el método tradicional de los agricultores, el cual consiste en limpiar los frutos de tuna mediante el barrido utilizando escobas, y así eliminar las espinas o ahuates haciéndolas caer en el suelo.



Figura 7. Desespinado de la tuna

3.5.3 Selección

Los frutos previamente desespinaados fueron seleccionados teniendo en cuentas las siguientes características; mismo estado de madurez y que no presenten daños mecánicos.



Figura 8. Selección de las muestras de tunas

3.5.4 Limpieza

La tuna anteriormente seleccionada, fue lavada cuidadosamente para eliminar restos de espinas e impurezas que pudieron quedar del proceso de desespinaado. Seguidamente, fue desinfectada con una solución de etanol al 60 % v/v para evitar una posible contaminación en los procesos siguientes.



Figura 9. Limpieza de las muestras de tuna

3.5.5 Pelado y troceado

Con el fin de eliminar la corteza o cascara de la tuna, se procedió a pelar manualmente el fruto utilizando un cuchillo. A continuación, se procedió a trocear y separar la semilla de la pulpa mediante un tamiz de 2 mm de luz de malla.



Figura 10. Pelado y troceado de las muestras de tuna blanca y roja

3.5.6 Extracción

Para este proceso, se utilizó el equipo de baño María el cual permite controlar la temperatura y agitación de la muestra, la pulpa de tuna fue expuesta a un proceso de extracción sólido-líquido, relacionando dos variables dependientes a dos niveles de temperatura: 75 y 85°C y dos relaciones de volumen (disolvente/soluto): 3 y 4 ml H₂O/g tuna, para una cantidad fija de materia prima de 50 g, un tiempo de extracción de 45 min y agitación constante de 200 rpm.



Figura 11. Extracción sólido- líquido

3.5.7 Filtración (1)

Todos los extractos obtenidos del proceso de extracción, fueron filtrados por medio de papel filtro de 200 μm , con la finalidad de separar las partículas o restos de pulpa, obteniendo un residuo (R) y un extracto (E).



Figura 12. Primera filtración del extracto de tuna blanca y roja

3.5.8 Purificación (Carbonatación)

Este proceso implica mezclar el extracto (E) de tuna con una solución de hidróxido de calcio $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 0,1 M a temperatura de 60 °C con una agitación constante de 200 rpm por 30 minutos. Durante este proceso, el dióxido de carbono y la solución de hidróxido de calcio se recombinan para producir carbonato de calcio CaCO_3 , el cual produce la precipitación de algunas sustancias coloidales por el cambio de pH y la adsorción de colorantes. El incremento de la alcalinidad que produce esta reacción hace que se coagulen las proteínas, arrastrando con ellas la mayor parte de impurezas del extracto. Como resultado de la carbonatación el pH del extracto se eleva a 10,2.

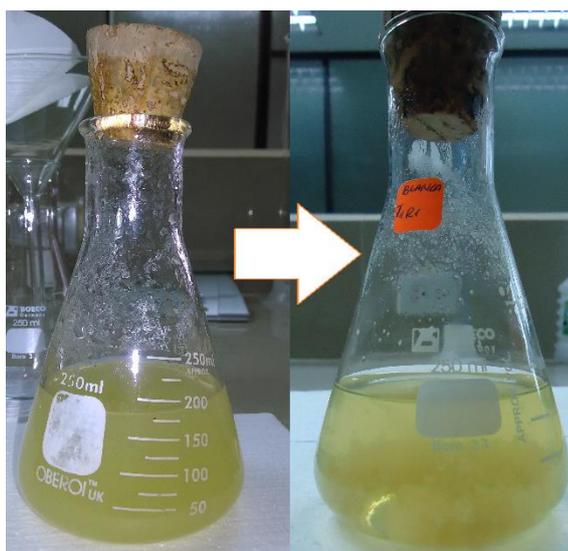


Figura 13. Proceso de purificación (carbonatación) de la muestra de tuna blanca

3.5.9 Reducción de pH

El proceso consistió en restablecer el pH de los extractos a su valor inicial, entre 7 y 8. Con esta intención se colocó a cada extracto una solución de ácido clorhídrico HCl 0,05 N, la adición del ácido hace que también el extracto recupere parcialmente su color inicial. Esta operación se controló mediante un potenciómetro digital portátil.

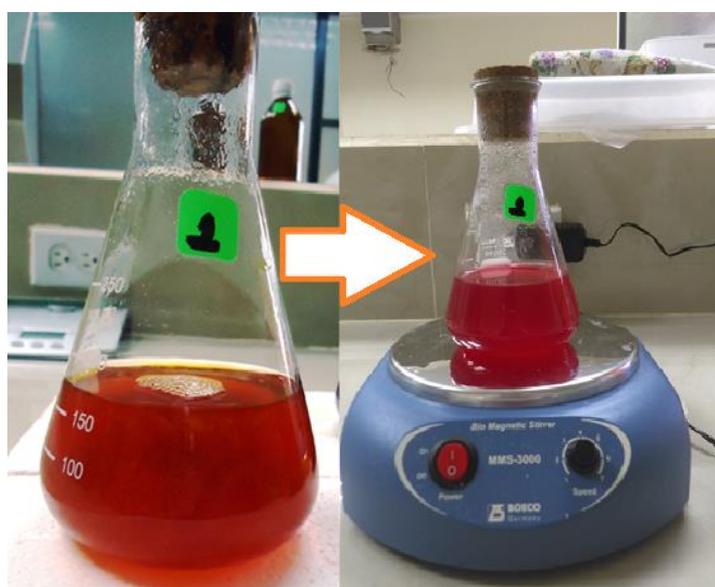


Figura 14. Neutralización del extracto de tuna roja

3.5.10 Filtración (2)

La segunda filtración consistió en hacer pasar el extracto (E), que anteriormente fue reducido el pH por papel filtro bajo en cenizas (whatman 220 μm), con la finalidad de separar los coágulos e impurezas que se generaron en el proceso de carbonatación.

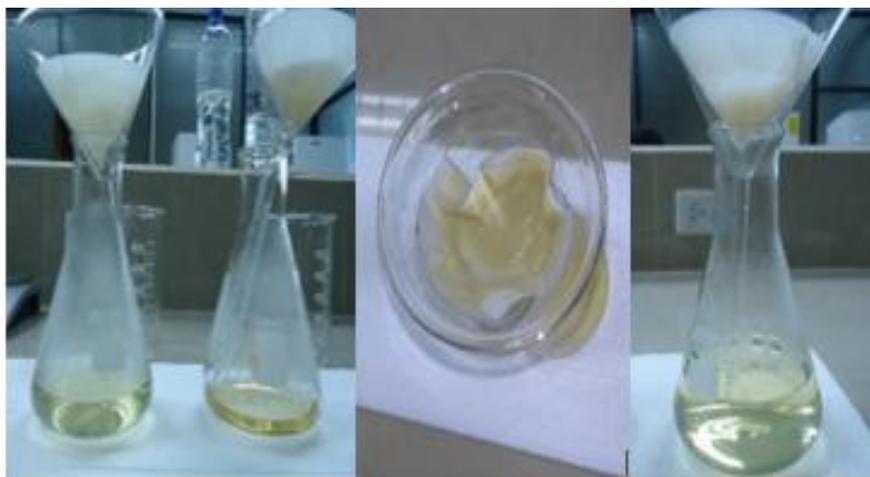


Figura 15. Segunda filtración de muestras de tuna blanca

3.5.11 Cuantificación de la concentración de inulina

Para realizar las lecturas por medio del espectrofotómetro Uv-Vis, se procedió a realizar una curva patrón de estándar de inulina, para el cual se utilizó inulina pura comercial marca SIGMA, con el que se preparó una solución concentrada de 2mg de inulina por cada ml de agua tipo 1, al mismo tiempo esta solución fue diluida con la finalidad de tener diferentes concentraciones y elaborar la curva de absorbancia en función de la concentración, la misma que se realizó siguiendo el método el método de Park Johnson para determinación de azúcares reductores, la curva de calibración se la puede apreciar en el ANEXO III.

Los extractos obtenidos fueron diluidos, para luego cuantificar la cantidad de inulina expresándola como azúcares reductores mediante el método de Park Johnson modificado por (Hizukuri, Takeda, Yasuda, & Suzuki, 1981), validada por (Alvarez, Jurado, Calixto , & Alarcón , 2008) y por (Rodríguez , 2010) en

investigaciones similares. Los resultados se encuentran en las tablas de datos experimentales del ANEXO IV.

Las absorbancias fueron leídas a una longitud de onda de 715 nm en el espectrofotómetro de UV-VIS del laboratorio de Biología Molecular de la FICAYA, para luego mediante cálculos determinar la concentración final de inulina.



Figura 16. Proceso de cuantificación por espectrofotometría

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente capítulo se muestran los resultados de la investigación “EXTRACCIÓN DE INULINA DE DOS VARIEDADES DE TUNA *Opuntia ficus-indica* COLOR ROJA Y BLANCA DEL VALLE DEL CHOTA POR LIXIVIACIÓN”.

4.1 CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DE LA TUNA

Para la caracterización de las muestras de tuna roja y blanca, se realizaron los siguientes análisis físico-químicos de: humedad, fibra, pH, azúcares reductores y azúcares totales en el Laboratorio de Análisis Físicos, Químicos y Microbiológicos de la Universidad Técnica del Norte. Como se muestra en la tabla 14.

Tabla 14. Características de las dos variedades de muestras de tuna

Parámetro Analizado	Unidad	Resultados		Método de ensayo
		Tuna roja	Tuna blanca	
Contenido de Agua	%	87,5	87,4	AOAC 925.10
Azúcares Totales	%	11,2	13,6	AOAC 906.04
Azúcares Reductores Libres	%	7,6	8	Fehling
Fibra Cruda	%	9,2	6,3	NTE INEN 522
pH	pH	6,12	6,05	NTE INEN 526

De acuerdo a los resultados obtenidos, en la tabla 14, se puede apreciar que las dos variedades de tuna son diferentes en su composición, siendo la tuna blanca quien presenta mayor contenido de azúcares totales 13,6 % y azúcares reductores libres 8% en relación a la tuna roja que presenta 11,2 % de azucares totales y 7,6% de azúcares reductores libres; resultados favorables para esta investigación, ya que los

métodos oficiales de cuantificación de inulina de la AOAC reportan que la mayor parte de la inulina se encuentra contenida en las mismas.

En relación al contenido de fibra cruda, la tuna roja es la que presenta mayor porcentaje con 9,2% en relación a la tuna blanca que presenta 6,3%; estos porcentajes hacen que esta fruta sea un alimento con beneficios para la salud, ya que el componente mencionado se le atribuyen efectos benéficos en la trata de problemas intestinales.

En cuanto a los valores de contenido de agua 87,5% para la roja y 87,4% para la blanca, y los valores de pH 6,12 y 6,05% respectivamente, no presentan diferencia significativa.

Además, las concentraciones reportadas en esta investigación presentan una ligera variación entre las reportadas por (Cerezal & Duarte , 2005), en su estudio denominado “Algunas características de tunas (*Opuntia ficus-índica* (L.) Miller) cosechadas en el altiplano andino de la 2da Región de Chile”, donde se obtuvo las siguientes concentraciones: Humedad 84,95%, azúcares totales 10,46%, azúcares reductores 8,07%, fibra cruda 3,24% y pH 6,31%. Esta variación se debe al lugar donde fue cultivada, ya que (Cerezal & Duarte , 2005), demostró que el tamaño de las tunas, el peso y su composición se ven influenciado por la localización donde se desarrolla la planta.

4.2 EFECTO DE LA TEMPERATURA Y RELACIÓN DISOLVENTE/SOLUTO EN EL PROCESO DE LIXIVIACIÓN

En las tablas 15 y 16 se presentan los rendimientos obtenidos en función de los factores temperatura y relación disolvente/soluto para el extracto de inulina obtenido a partir de dos variedades de tuna.

Tabla 15. Porcentaje de azúcares reductores en función de la relación disolvente/soluto y la temperatura para la extracción de inulina a partir de tuna roja

TUNA ROJA		% INULINA		
Temperatura (°C)	Relación S-L (ml)	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
75	3	6,400	6,859	6,239
	4	9,519	9,710	9,639
85	3	8,993	8,957	8,915
	4	10,371	10,552	10,633

Tabla 16. Porcentaje de azúcares reductores en función de la relación disolvente/soluto y la temperatura para la extracción de inulina a partir de tuna blanca

TUNA BLANCA		% INULINA		
Temperatura (°C)	Relación S-L (ml)	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
75	3	6,961	6,753	6,941
	4	9,460	9,694	9,500
85	3	7,764	7,916	7,752
	4	10,777	10,658	10,833

En las tablas 15 y 16, Se aprecia las condiciones con las que se trabajó en esta investigación, donde se relacionaron dos variables dependientes a dos niveles de temperatura; 75 y 85 °C, y dos niveles de relación disolvente/soluto; 3 y 4 ml H₂O/g tuna, para un tiempo y agitación constante de 45 min y 200 rpm respectivamente. Respecto a los factores temperatura y relación disolvente/soluto, se aprecia que actuaron conjuntamente en el proceso de extracción, conforme se aumenta o disminuye los niveles de estos, el porcentaje de extracción de inulina se eleva o descende respectivamente, llegando a obtener un valor máximo de extracción de 10,63% para la variedad de tuna roja y un valor de 10,83% para la variedad de tuna blanca, valores superiores al reportado por (Caballero & Jiménez, 2012) en su estudio de pre-factibilidad para la producción de inulina de tuna para Cuba, donde se obtuvo 9%.

La diferencia entre los resultados obtenidos por (Caballero & Jiménez, 2012) y esta investigación, se deberían a la variedad de tuna utilizada y zona de cultivo, ya que diversos estudios comprueban que existen diferencias entre cultivos de la misma especie en su composición, tal como se logró apreciar en la investigación de extracción y determinación de inulina de ajo común autóctono por (Álvarez, Ruano,

Calle, & Lara Fiallos, 2014), donde se alcanzó un rendimiento del 18%, valor superior con reportes de investigaciones similares que reportaron 16%. Otros factores que pudieron inferir con los resultados obtenidos serían la temperatura de extracción y la agitación que se utilizó para facilitar la transferencia de calor al momento de la extracción sólido-líquido. Adicionalmente, la técnica utilizada en esta investigación fue de carácter cuantitativo, mientras que en la investigación citada fue de carácter cualitativo que constó de tres etapas de identificación: examen físico, evidencias organolépticas e identificación final.

La dependencia del rendimiento de la temperatura y la relación disolvente/soluto, se puede apreciar de mejor manera mediante las gráficas de superficie de respuesta para cada variedad de tuna en las figuras 17 y 20.

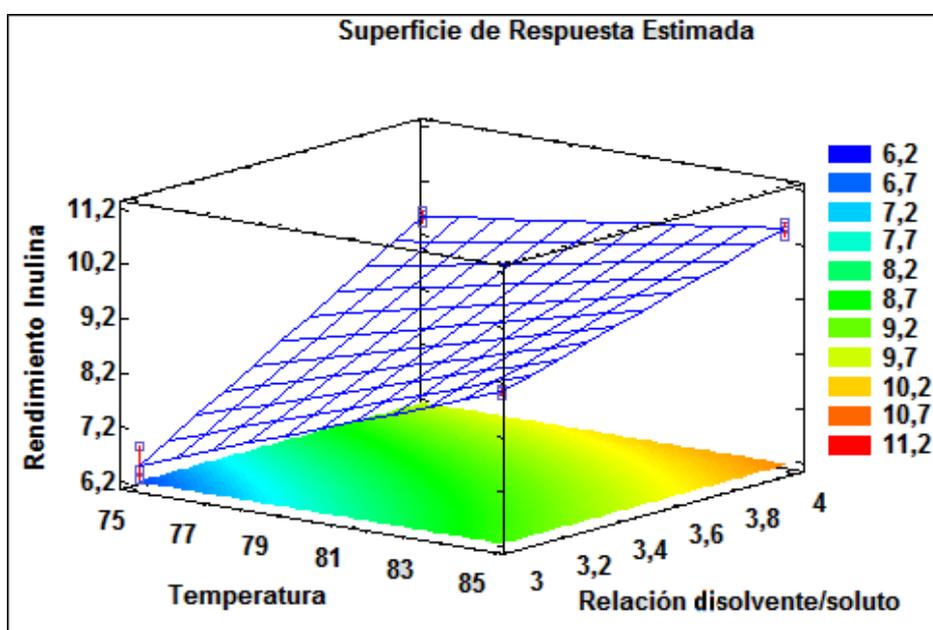


Figura 17. Superficie de repuesta correspondiente a la concentración de inulina en el extracto de tuna roja en función de la temperatura y la relación disolvente/soluto

En la figura 17, se presenta el diagrama de superficie de respuesta para la variedad de tuna roja, donde se observa el efecto que tienen los factores temperatura y relación disolvente/soluto en función del rendimiento de inulina, donde mediante colores se aprecia el incremento gradual de extracción de inulina conforme interactúan estos factores, siendo el color verde donde se obtuvo la mayor extracción, en cuanto a los demás colores se aprecia que la extracción no fue tan

pronunciada. Al mismo tiempo, se puede apreciar el punto máximo de extracción de inulina si incrementa los niveles de cada factor llegando a obtener un valor de 11,2%.

El mejor rendimiento dentro de los parámetros establecidos para esta investigación se obtiene al trabajar con una temperatura de 85°C y una relación disolvente/soluto de 4 ml H₂O/g tuna

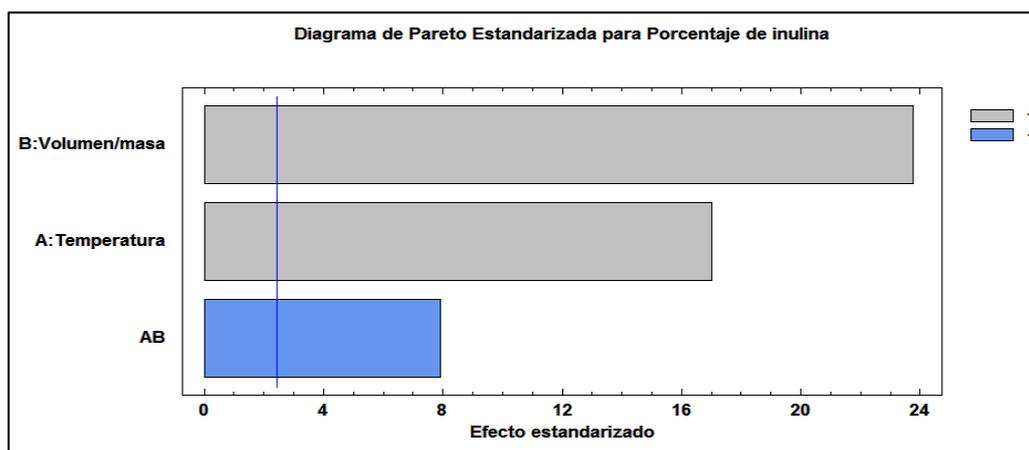


Figura 18. Diagrama de Pareto de efectos estandarizados de la temperatura y relación disolvente/soluto sobre el rendimiento de inulina disuelta en el extracto de tuna roja

En la figura 18, se presenta el diagrama de Pareto de efectos estandarizados, en el cual se observa que el efecto producido por la relación disolvente/soluto es mayor que el efecto producido por la temperatura, el cual afirma que el efecto con mayor relevancia es la relación disolvente soluto.

Tabla 17. Pruebas de significación de Tukey para los tratamientos de la variable inulina en la variedad de tuna roja

Tratamientos	media	Rango
T4	10,52	a
T2	9,62	b
T3	8,95	c
T1	6,5	d

En la prueba de significación de Tukey (Tabla 62) para la variable inulina en la variedad de tuna roja, se puede apreciar que el T4 (85°C, 4 ml H₂O/g tuna), presenta 10,52 % de inulina, mientras que el T2 (75°C, 4 ml H₂O/g tuna), presenta 9,62% de

inulina, siendo estos tratamientos los que presentan la mayor concentración. Mostrando que la relación disolvente/soluto 4:1 es la más influyente.

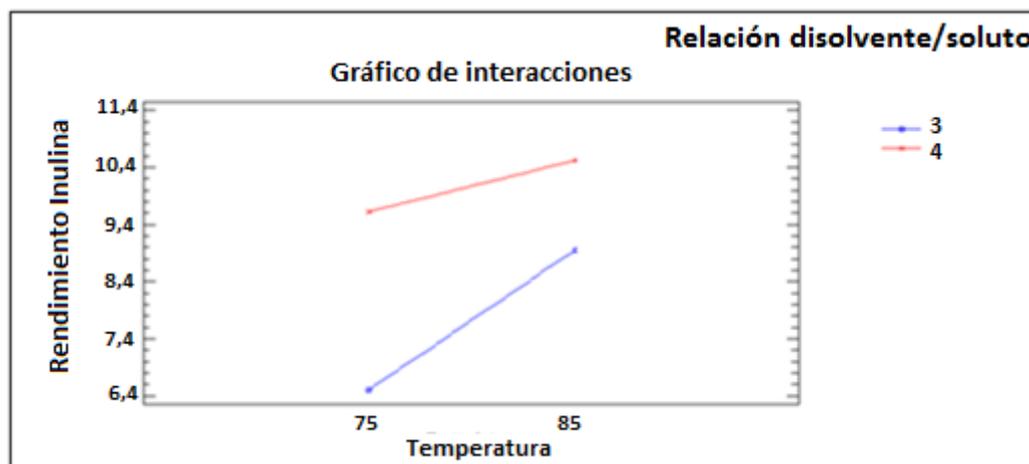


Figura 19. Gráfica de interacción de los factores: temperatura y la relación disolvente/soluto sobre el rendimiento de inulina disuelta en el extracto de tuna roja

En la figura 19, se aprecia que el efecto más importante es la relación disolvente/soluto, ya que se puede evidenciar que existe un aumento considerable en el proceso de extracción si se aumenta dicho efecto. Este comportamiento se debe que al aumentar la cantidad de agua aumenta a su vez la difusión de los polisacáridos hacia el medio de extracción. Estos resultados concuerdan con investigaciones de diversos autores (Salazar Leyva, González Ferreiro, Osuna Ruelas, & Osuna Ruiz , 2007), (Arango Bedoya, Cuarán , & Fajardo, 2008) que observaron que se obtiene un mayor rendimiento de extracción de inulina al trabajar con relaciones disolvente/soluto mayores a 3:1.

Tabla 18. DMS para la variable temperatura en la variedad de tuna roja

Factor A	Media	Rangos
a2	9,74	a
a1	8,06	b

Al realizar la prueba de significación de Diferencia Mínima Significativa (DMS) para el factor A (temperatura de extracción) tabla 18, se determinó que existe diferencia significativa para los grados de temperatura sobre la relación disolvente soluto, de manera que a2 (85°C) es el mejor nivel, siendo 85°C la temperatura ideal para obtener la mayor concentración de inulina en la variedad de tuna roja.

Tabla 19. DMS para la variable relación disolvente/soluto en la variedad de tuna roja

Factor B	Media	Rangos
b2	10,07	a
b1	7,73	b

Al realizar la prueba de significación de Diferencia Mínima Significativa (DMS) para el factor B (relación disolvente/soluto) tabla 19, se determinó que existe diferencia significativa para los grados de temperatura sobre la relación disolvente soluto, de manera que b2 (4 ml H₂O/g tuna), es el mejor nivel, siendo la relación 4:1 la ideal para obtener la mayor concentración de inulina en la variedad de tuna roja.

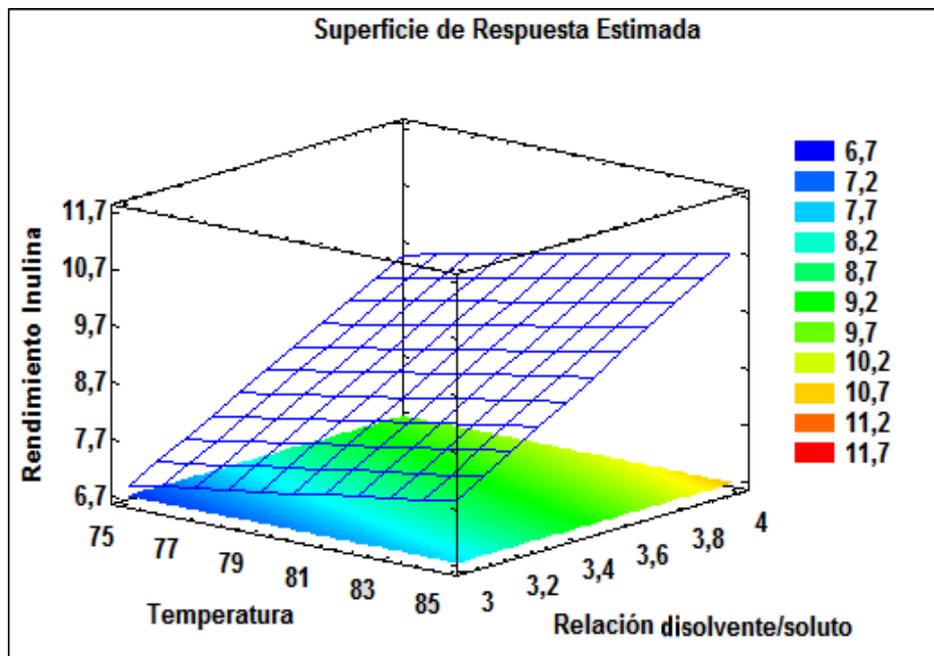


Figura 20. Superficie de repuesta correspondiente a la concentración de inulina en el extracto de tuna blanca en función de la temperatura y la relación disolvente/soluto

En la figura 20, se muestra la gráfica de superficie de respuesta correspondiente a la variedad de tuna blanca, en la que se puede observar un comportamiento similar a la variedad de tuna roja. De igual manera, se aprecia que el mejor rendimiento dentro de los parámetros establecidos se obtiene al trabajar con una temperatura de 85°C y relación disolvente/soluto de 4ml/g de muestra.

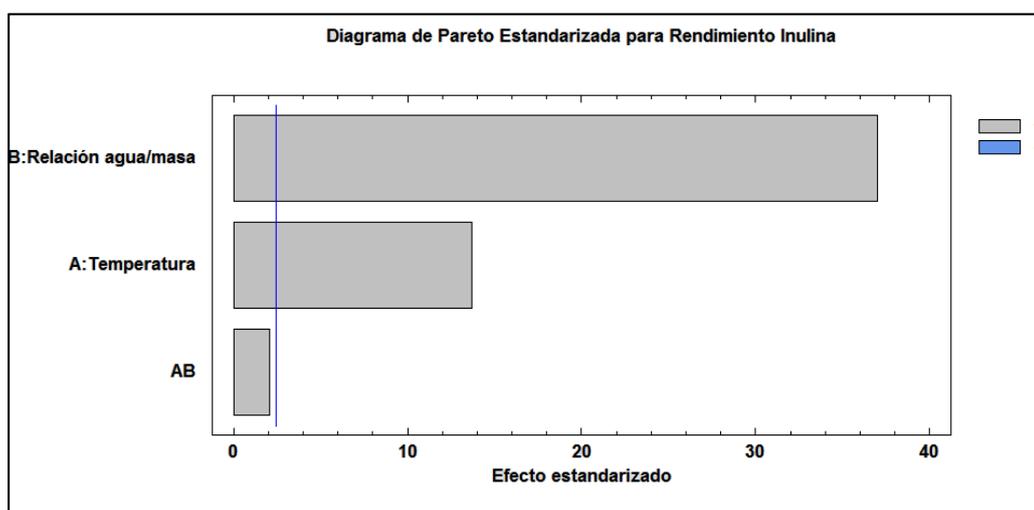


Figura 21. Diagrama de Pareto de efectos estandarizados de la temperatura y relación disolvente/soluto sobre el rendimiento de inulina disuelta en el extracto de tuna blanca

De igual modo que con la figura 18, en la figura 21, se observa el efecto producido en la variedad de tuna blanca por las variables de estudio; temperatura y relación disolvente/soluto, mostrando que el factor con mayor influencia es la relación disolvente soluto. Además, se puede apreciar que las variables de estudio actuaron del mismo modo para las dos variedades de tuna.

Tabla 20. Pruebas de significación de Tukey para los tratamientos de la variable inulina en la variedad de tuna blanca.

Tratamientos	Media	Rango
T4	10,76	a
T2	9,55	b
T3	7,77	c
T1	6,88	d

En la tabla 20, el análisis de Tukey para la variedad de tuna blanca, muestra que todos los tratamientos son diferentes y representados por diferente letra, con referente al tratamiento T4 (85°C, 4 ml H₂O/g tuna), presenta un valor promedio de inulina de 10,76 %, mientras que el T2 (75°C, 4 ml H₂O/g tuna), presenta 9,55 % de inulina, siendo estos tratamientos los que presentan la mayor concentración. mostrando que la relación disolvente soluto 4:1 es la más influyente

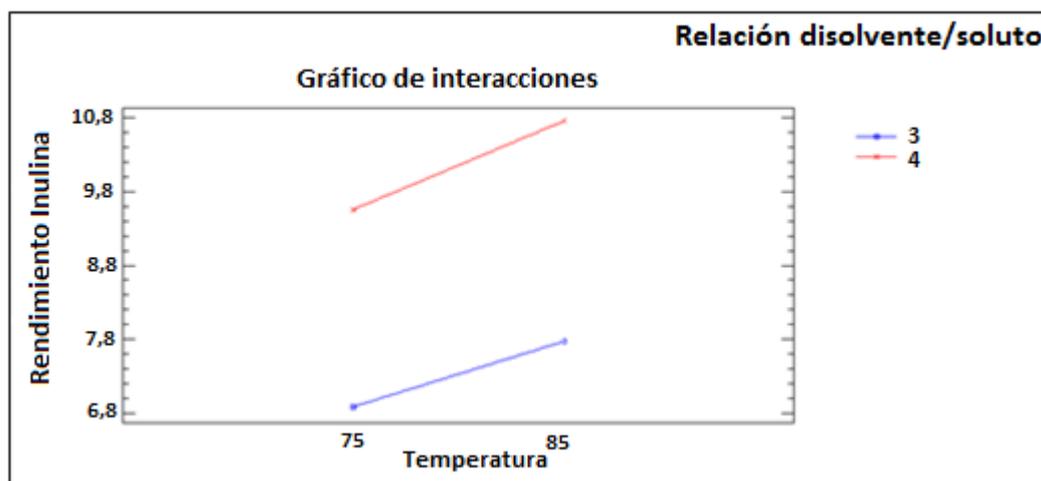


Figura 22. Gráfica de interacción de los factores: temperatura y la relación disolvente/soluto sobre el rendimiento de inulina disuelta en el extracto de tuna blanca

De igual modo que en la figura 19, en la figura 22, se aprecia la gráfica de interacción de los factores de estudio en la variedad de tuna blanca, la cual indica que el efecto más importante es la relación disolvente/soluto. Revelando a su vez, que las afirmaciones mostradas anteriormente en el estudio de la variedad de tuna roja concuerdan con las investigaciones ya mencionadas.

Tabla 21. DMS para la variable temperatura en la variedad de tuna blanca

Factor A	Media	Rangos
a2	9,26	a
a1	8,22	b

Al realizar la prueba de significación de Diferencia Mínima Significativa (DMS) para el factor A (temperatura de extracción) tabla 21, se determinó que existe diferencia significativa para los grados de temperatura sobre la relación disolvente soluto, de manera que a2 (85°C) es el mejor nivel, siendo 85°C la temperatura ideal para obtener la mayor concentración de inulina en la variedad de tuna blanca.

Tabla 22. DMS para la variable disolvente/soluto en la variedad de tuna blanca

Factor B	Media	Rangos
b2	10,15	a
b1	7,33	b

Al realizar la prueba de significación de Diferencia Mínima Significativa (DMS) para el factor B (relación disolvente/soluto) tabla 22, se determinó que existe diferencia significativa para los grados de temperatura sobre la relación disolvente soluto, de manera que b2 (4 ml H₂O/g tuna), es el mejor nivel, siendo la relación 4:1 la ideal para obtener la mayor concentración de inulina en la variedad de tuna blanca.

4.3 INULINA PRESENTE ENTRE LAS VARIEDADES DE TUNA *opuntia ficus-indica* COLOR ROJA Y BLANCA

Tabla 23. Comparación de rendimiento de inulina entre dos variedades de tuna

Velocidad de agitación (rpm)	Tiempo (min)	TEMPERATURA (°C)	RELACIÓN DISOLVENTE/SOLUTO (ml/g)	RENDIMIENTO INULINA %	
				ROJA	BLANCA
200	45	75	3	6,50	6,88
			4	9,62	9,55
		85	3	8,95	7,77
			4	10,52	10,76

En la tabla 23, se observa las condiciones con las que se trabajó en esta investigación junto al porcentaje promedio de inulina obtenido en cada trata tratamiento y cada variedad de tuna. Para poder apreciar de mejor manera el rendimiento de inulina alcanzado en la tuna roja y blanca, se realizó un gráfico comparativo.

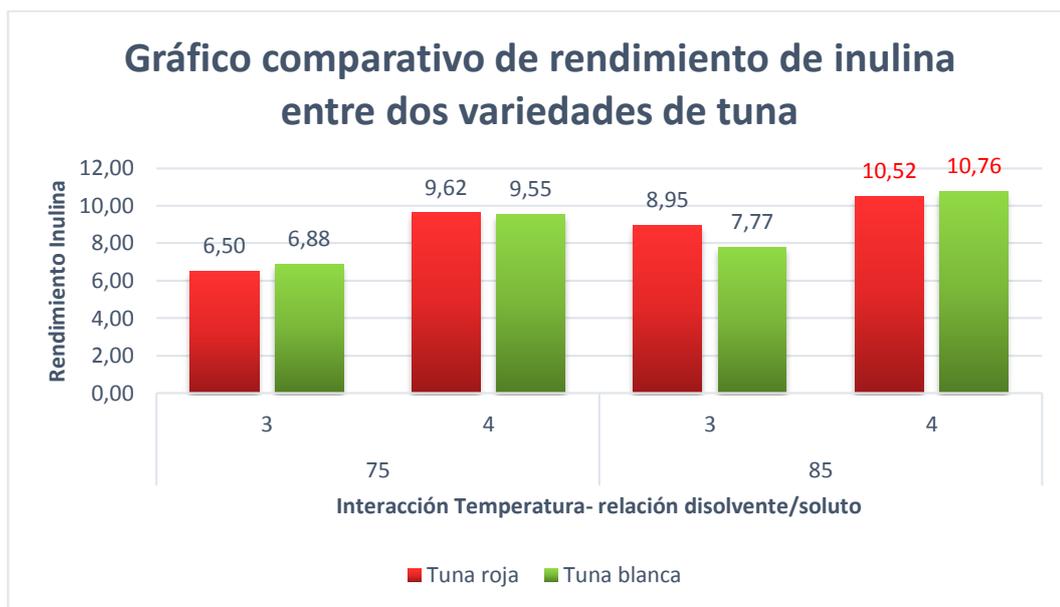


Figura 23. Gráfico comparativo de rendimiento de inulina entre dos variedades de tuna

De acuerdo al gráfico comparativo de los resultados de rendimiento de inulina entre las dos variedades de tuna roja y blanca (figura 23), se puede apreciar que las concentraciones entre tratamientos de la tuna roja y blanca son similares, mostrando que la influencia de los factores de extracción actuó del mismo modo, sin verse afectado significativamente por la variedad.

Los porcentajes máximos de inulina para cada variedad fueron 10,52 % para la roja y 10,76% para la blanca, por lo que se establece que estas pueden ser empleadas como precursores de inulina.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

- La caracterización de la materia prima reveló que la tuna contiene un porcentaje de azúcares totales de 11,2% para la roja y 13,6% para la blanca, un porcentaje de azúcares reductores de 7,6% en la roja y 8% en la blanca; resultados favorables para esta investigación, ya que los métodos oficiales de cuantificación de inulina de la AOAC reportan que la mayor parte de la inulina se encuentra contenida en los azúcares totales. Además, el porcentaje de fibra cruda 9,2 y 6,3% respectivamente, hacen que esta fruta sea un alimento con beneficios para la salud, ya que al componente mencionado se le atribuye efectos benéficos en la trata de problemas intestinales.
- La temperatura y la relación disolvente/soluto produjeron un efecto significativo en el proceso de extracción, ya que al aumentar o disminuir los niveles de estos, los porcentajes de extracción se ven influenciados aumentado o disminuyendo el valor de extracción final.
- Al comparar el porcentaje de inulina extraída entre la tuna roja y blanca: 10,51 y 10,75 % respectivamente, se evidencia que no existe diferencia significativa entre las variedades en lo que refiere al rendimiento de extracción, por lo que se establece que éstas pueden ser empleadas como precursores de inulina.

5.2 RECOMENDACIONES

- Si se piensa guardar los extractos por un periodo largo se recomienda almacenar en frascos oscuros y en refrigeración, ya que tienden a fermentarse.
- Estudiar la composición de los subproductos generados de la extracción de inulina en ánimo de establecer posibles usos en la industria.
- De acuerdo al porcentaje de inulina presente en las dos variedades de tuna *Opuntia ficus-indica* 10,52% para la roja y 10,76 % para la blanca, y a la disponibilidad de materia prima en el valle del chota 40 ha, se sugiere realizar un estudio de prefactibilidad para la implementación de una planta de producción de inulina en la zona.
- Continuar con la investigación aplicando métodos de concentración y cristalización del extracto para llegar a obtener inulina comercial.

BIBLIOGRAFÍA

- Abril Díaz, N., Bárcena Ruiz , A., Fernández Reyes , E., Galván Cejudo, A., Jorrín Novo , J., Peinado Peinado, J., . . . Túnez Fiñana, I. (2009). *Espectrometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas*. Córdoba España.
- Alvarez, P. P., Jurado, B., Calixto , M., & Alarcón , J. S. (2008). Prebiótico Inulina/Oligofructosa en la Raíz del Yacón (*Smallanthus sonchifolus*), Fitoquímica y Estandarización coo Base de Estudio Preclínicos y Clínicos. *Gastroenterol Perú*, 22-27.
- Álvarez, R., Ruano, A., Calle, R., & Lara Fiallos, M. (2014). *Extracción y determinacion de inulina de ajo común autóctono (allium sativum)*. Quiro: Revista Cubana de Química.
- Arango Bedoya, O., Cuarán , G., & Fajardo, J. (2008). *Extracción, cristalización y caracterización de inulina a partir de yacón (Smallanthus sonchifolius) para su utilización en la industria alimentaria y farmaceutica*. Pasto Colombia.
- Arenas Sosa, I., & López Sánchez , J. L. (2004). *Espectrofotometría de absorción* . México.
- Armas, C. (6 de Agosto de 2012). La tuna lleva prosperidad a afroecuatorianos de El Chota. *EL UNIVERSO*.
- Benalcázar, W. (5 de Septiembre de 2015). La tuna reverdece al Valle Del Chota. *EL COMERCIO*.
- Benítez, D. I., Pérez, D. A., Álvares, D. R., Collado, M. O., & González, M. Y. (2015). Perspectivas de la producción de inulina a partir de la tuna (*Opuntia ficus-indica*). 1-13.
- Caballero, B. D., & Jiménez, A. C. (2012). *Análisis de prefactibilidad técnico-económico para la obtención de inulina apartir de Tuna (Opuntia ficus-indica)*. Cmagüey.
- Campos, M. F., Pedraza, L. C., & Guzmán, B. R. (2013). Extracción y caracterización de inulina presente en los tubérculos de la Dahlia spp . *Instituto de investigacion RIIGEO, FIGMMG-UNMSM Vol. 16, 2*.

- Casanova Cabeza, E., Almazán del Olmo, O., Cordovés Herrera, M., & Lodos Fernández, J. (2016). *Tecnología azucarera Conocimientos y práctica productiva* .
- Castro, E. R. (2010). *Ingeniería de tratamiento y acondicionamiento de aguas*. Chile: Departamento Editorial de la UACH.
- Cerezal, P., & Duarte, G. (2005). *Algunas características de tunas (Opuntia ficus-índica (L.) Miller) cosechadas en el altiplano andino de la 2da Región de Chile*. Chile.
- Chávez, R. (4 de Noviembre de 2017). El cultivo de tuna ocupa 180 hectáreas en el país. *el telégrafo*.
- Cujo, P., & de la Torre, F. (1989). *Compendio de agronomía tropical*. San José, Costa Rica: IICA.
- Dergal, s. B. (2006). *Química de los alimentos Cuarta edición* . México: Pearson Educacion .
- Dosal, M. A., & Vullanueva, M. (2008). *Curvas de calibración en los métodos analíticos* .
- Espejo Cuadrado, M. (2016). *Importancia de la calibración en los laboratorios de química analítica*. Sevilla-España .
- Flickinger, E., Van Loo, J., & Fahey, G. (2003). Nutritional responses to the presence of inulin and oligofructose in the diet of domesticated animals. *Food Sci Nutr*, 19-60.
- Franck, N. (2010). Perspectivas de la tecnificación del cultivo de la tuna. *INFORMATIVO INIA-URURI*, 1-4.
- Grupo de trabajo electrónico. (2009). Lista de métodos para la determinación de la fibra dietética en el trámite 7. *Comisión del codex alimentarius Programa Conjunto FAO/OMS Sobre Normas Alimentarias*, (pág. 16). Düsseldorf (Alemania).
- Hernández, E. B., González, J. F., & Amador, C. C. (2010). *Ingeniería de tequilas* . Bogotá Colombia.
- Hizukuri, S., Takeda, Y., Yasuda, M., & Suzuki, A. (1981). Multi-branched nature of Amylose and action of debranching enzymes. *Carbohydrate Research*, 205- 213.

- Kaur, N., & Gupta, A. K. (2002). Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. *J. Biosci. Vol. 27 No 7, 2.*
- Lara Fiallos, M., Julián Ricardo , M. C., Pérez Martínez, A., Benítez Cortés, I., & Lara Gordillo, P. (2017). Avances en la producción de inulina. *Tecnología Química, 1-7.*
- León, J. (1987). *Botánica de los cultivos tropicales.* San José, Costa Rica.
- Madrigal, L., & Sangronis, E. (2007). La inulina y derivados como ingredientes claves en alimentos funcionales. *Archivos latinoamericanos de nutrición Organo Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición, 2.*
- Marcelo, J. J., Rodríguez, C. P., & Alva, D. M. (2009). Cultivo de tuna (*Opuntia ficus indica*). *Gerencia Regional Agraria La Libertad, 1-35.*
- Martín, I., Salcedo, R., & Font, R. (2011). Mecánica de fluidos Tema 5. Operaciones separación Sólido-Fluido. *Universidad de Alicante, 15-27.*
- McCabe, W. L., Smith, J. C., & Harriott, P. (1998). *Operaciones Unitarias en Ingeniería Química.* España: Mc Graw Hill.
- Moreno, C., Ileana, M., Romero, A., & Pouiller, P. (2015). Tuna: Un alimento para descubrir. *Nutrición y educación alimentaria, 1-3.*
- Paucara Condori, C. M. (2017). *Caracterización física y química de la tuna opuntia ficus indica en el municipio de Luribay provincia Loayza del departamento de La Paz.* La Paz - Bolivia.
- Pauer, R. E. (1990). Generalidades sobre el intercambio iónico conceptos introductorios. *Consultora de Aguas, 2-5.*
- Pio, C. E. (2009). Análisis Químico I - Un enfoque ambiental . *Universidad Nacional de Callao, 109-111.*
- Ramos, J. R., & M., V. Q. (2014). Manejo general del cultivo del nopal. *Manual del participante, 1-81.*
- Rodríguez , W. (2010). *Determinación de inulina de once especies vegetales.* Buenavista, Santillo, Coahuila, México.
- Salazar Leyva, J. A., González Ferreiro, Á., Osuna Ruelas, S., & Osuna Ruiz , I. (2007). *Determinación de las condiciones óptimas de extracción de inulina a partir de piñas de agave azul (Tequilana Weber).* México.

- Samara. (17 de Febrero de 2017). La tuna, fruta que despunta el desarrollo económico de la comunidad del juncal . *EL NORTE* .
- Seminario, J., Valderrama, M., & Manrique, I. (2003). El yacón. *Fundamentos para el aprovechamiento de un recurso promisorio*, 10.
- Treybal, R. E. (1988). *Operaciones de transferencia de masa* (Vol. Segunda edición). Mc Geaw Hill.
- Velasco, C. O., & Beltrán, J. A. (2010). La tuna: una perspectiva de su producción, propiedades y métodos de conservación . *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos* , 1-15.

ANEXOS

ANEXO I

**RESULTADOS DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LAS DOS
VARIEDADES DE MUESTRAS DE TUNA ROJA Y BLANCA**



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

UNIVERSIDAD ACREDITADA RESOLUCIÓN 002 – CONEA – 2010 – 129 – DC.
Resolución No. 001 – 073 – CEAACES – 2013 – 13

FICAYA

Laboratorio de Análisis Físicos, Químicos y Microbiológicos

Informe N°:	37 -2018
Análisis solicitado por:	Sr. Richard Pinango
Empresa:	No aplica
Muestreado:	Propietario
Fecha de recepción:	14 de abril de 2018
Fecha de entrega informe:	21 de abril de 2018
Ciudad:	Ibarra
Provincia:	Imbabura
No. de Lote	No aplica
No. Unidades Analizadas	2

#	Muestra	Codificación o # de Lote
1	Tuna (fruto fresco)	No aplica

Parámetro Analizado	Unidad	Resultados		Metodo de ensayo
		Tuna Roja	Tuna Blanca	
Contenido de Agua	%	87,50	87,4	AOAC 925.10
Fibra Cruda	%	9,2	6,3	NTE INEN 522
pH	-----	6,12	6,05	NTE INEN 526
Azucares Reductores Libres	-----	7,60	8,00	Fehling
Azucares Totales	-----	11,20	13,60	AOAC 906.04

Atentamente:

Bloq. José Luis Moreno
Técnico de Laboratorio



Visión Institucional
La Universidad Técnica del Norte en el año 2020, será un referente en ciencia, tecnología e innovación en el país, con estándares de excelencia institucionales

Av. 17 de Julio S 21 y José María
Córdova Barro El Olivo
Teléfono (06)2997800
Fax Ext 7711
Email: utn@utn.edu.ec
www.utn.edu.ec
Ibarra - Ecuador

Figura 24. Resultados caracterización de las muestras

ANEXO II

FICHA TÉCNICA DE INULINA ESTÁNDAR

SIGMA-ALDRICH®

sigma-aldrich.com

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA

Website: www.sigmaaldrich.com

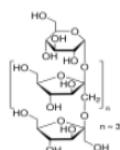
Email USA: techserv@sial.com

Outside USA: eurtechserv@sial.com

Product Specification

Product Name:
Inulin from chicory

Product Number: **I2255**
CAS Number: 9005-80-5
MDL: MFCD00131407



TEST	Specification
Appearance (Color)	White
Appearance (Form)	Powder
Solubility (Color)	Colorless
Solubility (Turbidity)	Clear to Hazy
100 mg/mL, H ₂ O	
Water (by Karl Fischer)	≤ 15 %
Free Glucose	≤ 0.05 %
by enzymatic assay	
Free Fructose	≤ 0.05 %
by enzymatic assay	
Ratio	Conforms
Fructose:Glucose	
(> = 20:1)	

Specification: PRD.1.ZQ5.10000036356

Sigma-Aldrich warrants, that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current Specification sheet may be available at Sigma-Aldrich.com. For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.

1 of 1

Figura 25. Ficha técnica de inulina estándar

ANEXO III

CURVA PATRÓN CON ESTÁNDAR DE INULINA MARCA SIGMA

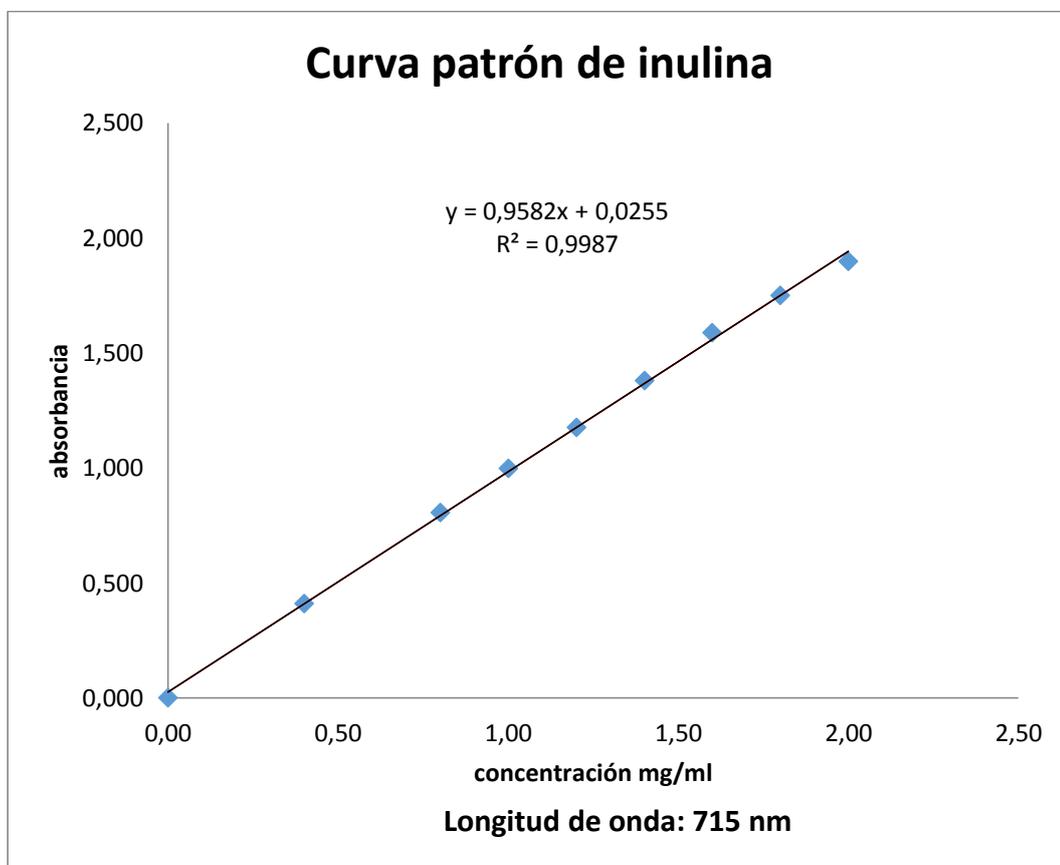


Figura 26. Curva patrón con estándar de inulina para cuantificación por medio de espectrofotómetro UV-V

ANEXO IV

DATOS EXPERIMENTALES

EXTRACCIÓN

Tabla 24. Datos de extracción de inulina de la variedad de tuna roja

T	Tuna g	(T _{Ext}) °C	(a) ml			(T _{amb}) °C	(E) ml			(R) g			(mst) g		
			r1	r2	r3		r1	r2	r3	r1	r2	r3	r1	r2	r3
1	50	75	150			21	166	170	168	13	13	12	0,30	0,30	0,27
2			200				218	216	222	20	19	15	0,43	0,43	0,38
3	50	85	150			21	168	170	170	12	13	13	0,25	0,28	0,30
4			200				210	215	214	15	16	15	0,38	0,38	0,35

Tabla 25. Datos de extracción de inulina de la variedad de tuna blanca

T	Tuna g	(T _{Ext}) °C	(a) ml			(T _{amb}) °C	(E) ml			(R) g			(mst) g		
			r1	r2	r3		r1	r2	r3	r1	r2	r3	r1	r2	r3
1	50	75	150			21	162	168	168	13	17	15	0,30	0,32	0,30
2			200				214	220	220	13	14	16	0,31	0,35	0,30
3	50	85	150			21	168	170	168	16	17	17	0,25	0,28	0,27
4			200				220	212	216	16	17	15	0,24	0,23	0,24

Donde:

T: Tratamiento

a: Volumen de agua

E: Extracto

T_{amb}: Temperatura ambiente

T_{Ext}: Temperatura de extracción

R: Refinado

mst: Masa torta seca

r: Repeticiones

PURIFICACIÓN

Tabla 26. Datos de purificación de inulina de la variedad de tuna roja

T	(T _{Ext}) °C	(T _{amb}) °C	(mthp) g			(mtsp) g			(Ep) ml		
			r1	r2	r3	r1	r2	r3	r1	r2	r3
1	75	21	2	1	2	0,21	0,19	0,20	120	130	118
2			4	2	2	0,30	0,19	0,18	188	190	191
3	85	21	7	10	6	0,35	0,40	0,70	156	154	158
4			5	7	5	0,30	0,30	0,28	190	195	196

Tabla 27. Datos de purificación de inulina de la variedad de tuna blanca

T	(T _{Ext}) °C	(T _{amb}) °C	(mthp) g			(mtsp) g			(Ep) ml		
			r1	r2	r3	r1	r2	r3	r1	r2	r3
1	75	21	4	5	4	0,20	0,20	0,21	156	152	156
2			7	4	4	0,30	0,20	0,19	202	206	204
3	85	21	4	3	6	0,20	0,18	0,26	156	162	158
4			5	4	3	0,28	0,21	0,20	206	202	208

Donde:

mthp: Masa torta húmeda en la purificación

mtsp: Masa torta seca en la purificación

Ep: Extracto purificado

CUANTIFICACIÓN

Tabla 28. Cuantificación de inulina en el extracto de la variedad de tuna roja

T		(Ep) ml	Abs			\bar{X}_{Abs}	(CI _{uv-v}) mg/ml
			1	2	3		
1	r1	120	1,308	1,292	1,307	1,302	26,67
	r2	130	1,287	1,289	1,290	1,289	26,38
	r3	118	1,289	1,296	1,289	1,291	26,44
2	r1	188	1,236	1,237	1,240	1,238	25,32
	r2	190	1,250	1,254	1,243	1,249	25,55
	r3	191	1,231	1,232	1,232	1,232	25,19
3	r1	156	1,400	1,420	1,397	1,406	28,82
	r2	154	1,431	1,383	1,440	1,418	29,08
	r3	158	1,383	1,375	1,371	1,376	28,21
4	r1	190	1,330	1,334	1,333	1,332	27,29
	r2	195	1,290	1,335	1,338	1,321	27,06
	r3	196	1,340	1,298	1,335	1,324	27,13

Tabla 29. Cuantificación de inulina en el extracto de la variedad de tuna blanca

T		(Ep) ml	Abs			\bar{X}_{Abs}	(CI _{uv-v}) mg/ml
			1	2	3		
1	r1	156	1,092	1,098	1,091	1,094	22,310
	r2	152	1,083	1,100	1,084	1,089	22,210
	r3	156	1,094	1,090	1,088	1,091	22,250
2	r1	202	1,120	1,161	1,159	1,147	23,420
	r2	206	1,164	1,146	1,146	1,152	23,530
	r3	204	1,149	1,131	1,141	1,140	23,280
3	r1	156	1,195	1,208	1,194	1,199	24,510
	r2	162	1,200	1,199	1,187	1,195	24,430
	r3	158	1,200	1,199	1,201	1,200	24,530
4	r1	206	1,273	1,286	1,275	1,278	26,160
	r2	202	1,277	1,300	1,289	1,289	26,380
	r3	208	1,266	1,280	1,271	1,272	26,040

Donde:

Abs: Absorbancia del espectrofotómetro UV-V

\bar{X}_{Abs} : Promedio absorbancias

CI_{uv-v}: Concentración de inulina espectrofotómetro UV-V

ANEXO V CÁLCULOS

AGUA RETENIDA EN EL REFINADO

Cálculo de la cantidad de agua retenida en el refinado

$$a_{Ri} = R_i - mts_i$$

Donde:

a_{Ri} : Agua retenida en el refinado (g)

R_i : Refinado (g)

mts_i : Masa de torta seca (g)

Tabla 30. Cantidad de agua retenida en el refinado de tuna roja

T	(Rel) ml/g	(T_{Ext}) °C	(R) g			(mst) g			(a _R)g		
			r1	r2	r3	r1	r2	r3	r1	r2	r3
1	150	75	13	13	12	0,30	0,30	0,27	12,7	12,7	11,73
2	200		20	19	15	0,43	0,43	0,38	19,57	18,57	14,62
3	150	85	12	13	13	0,25	0,28	0,30	11,75	12,72	12,70
4	200		15	16	15	0,38	0,38	0,35	14,62	15,62	14,65

Tabla 31. Cantidad de agua retenida en el refinado de tuna blanca

T	(Rel) ml/g	(T_{Ext}) °C	(R) g			(mst) g			(a _R)g		
			r1	r2	r3	r1	r2	r3	r1	r2	r3
1	150	75	13	17	15	0,3	0,32	0,30	12,70	16,68	14,70
2	200		13	14	16	0,31	0,35	0,35	12,69	13,65	15,65
3	150	85	16	17	17	0,25	0,28	0,27	15,75	16,72	16,73
4	200		16	17	15	0,24	0,23	0,24	15,76	16,77	14,76

VOLUMEN DE AGUA RETENIDA EN EL REFINADO

Cálculo del volumen de agua retenida en el refinado

$$Va_{Ri} = \frac{a_{Ri}}{\rho_i}$$

Donde:

V_{aRi} : Volumen de agua retenida en el refinado (ml)

a_{Ri} : Agua retenida en el refinado (g)

ρ : Densidad del agua (g/ml)

Tabla 32. Volumen de agua retenida en el refinado de tuna roja

T	(Rel) ml/g	(T_{Ext}) °C	(T_{amb}) °C	(ρ) g/ml	(a_R) g			(V_{aR}) ml		
					r1	r2	r3	r1	r2	r3
1	150	75	21	0,998	12,7	12,7	11,73	12,73	12,73	11,75
2	200				19,57	18,57	14,62	19,61	18,61	14,65
3	150	85	21	0,998	11,75	12,72	12,7	11,77	12,75	12,73
4	200				14,62	15,62	14,65	14,65	15,65	14,68

Tabla 33. Volumen de agua retenida en el refinado de tuna blanca

T	(Rel) ml/g	(T_{Ext}) °C	(T_{amb}) °C	(ρ) g/ml	(a_R) g			(V_{aR}) ml		
					r1	r2	r3	r1	r2	r3
1	150	75	21	0,998	12,7	16,68	14,7	12,73	16,71	14,73
2	200				12,69	13,65	15,65	12,71	13,67	15,68
3	150	85	21	0,998	15,75	16,72	16,73	15,78	16,75	16,76
4	200				15,76	16,77	14,76	15,79	16,8	14,79

AGUA RETENIDA EN LA PURIFICACIÓN

Cálculo de la cantidad de agua retenida en la purificación

$$a_{Rpi} = mthp_i - mtps_i$$

Donde:

a_{Rpi} : Agua retenida en la purificación (g)

$mthp$: Masa torta húmeda en la purificación (g)

$mtps$: Masa torta seca en la purificación (g)

Tabla 34. Cantidad de agua retenida en la purificación de tuna roja

T	(Rel) ml/g	(T_{Ext}) °C	$(mthp)$ g			$(mstp)$ g			(a_{Rp}) g		
			r1	r2	r3	r1	r2	r3	r1	r2	r3
1	150	75	2	1	2	0,21	0,19	0,20	1,79	0,81	1,80
2	200		4	2	2	0,30	0,20	0,18	3,70	1,80	1,80
3	150	85	7	10	6	0,35	0,40	0,30	6,65	9,60	5,70
4	200		5	7	5	0,30	0,30	0,28	4,70	6,70	4,72

Tabla 35. Cantidad de agua retenida en la purificación de tuna blanca

T	(Rel) ml/g	(T _{Ext}) °C	(mthp) g			(mstp) g			(a _{Rp}) g		
			r1	r2	r3	r1	r2	r3	r1	r2	r3
1	150	75	4	5	4	0,20	0,20	0,21	3,80	4,80	3,79
2	200		7	4	4	0,35	0,20	0,19	6,65	3,80	3,81
3	150	85	4	3	6	0,20	0,18	0,26	3,80	2,82	5,74
4	200		5	4	3	0,28	0,21	0,20	4,72	3,79	2,80

VOLUMEN DE AGUA RETENIDA EN LA PURIFICACIÓN

Cálculo del volumen de agua retenida en la purificación

$$Va_{Rpi} = \frac{a_{Rpi}}{\rho_i}$$

Donde:

V_{aRpi}: Volumen de agua retenida en la purificación (ml)

a_{Rpi}: Agua retenida en la purificación (g)

ρ: Densidad del agua (g/ml)

Tabla 36. Volumen de agua retenida en la purificación de tuna roja

T	(Rel) ml/g	(T _{Ext}) °C	(T _{amb}) °C	(ρ) g/ml	(a _{Rp}) g			(V _{aRp}) ml		
					r1	r2	r3	r1	r2	r3
1	150	75	20	0,998	1,79	0,81	1,80	1,79	0,81	1,80
2	200				3,70	1,80	1,82	3,71	1,81	1,82
3	150	85	20	0,998	6,65	9,60	5,70	6,66	9,62	5,71
4	200				4,70	6,70	4,72	4,71	6,71	4,73

Tabla 37. Volumen de agua retenida en la purificación de tuna blanca

T	(Rel) ml/g	(T _{Ext}) °C	(T _{amb}) °C	(ρ) g/ml	(a _{Rp}) g			(V _{aRp}) ml		
					r1	r2	r3	r1	r2	r3
1	150	75	20	0,998	3,80	4,80	3,79	3,81	4,81	3,80
2	200				6,65	3,80	3,81	6,66	3,81	3,82
3	150	85	20	0,998	3,80	2,82	5,74	3,81	2,83	5,75
4	200				4,72	3,79	2,80	4,73	3,80	2,81

CANTIDAD DE INULINA EN EL EXTRACTO

Cálculo de la cantidad de inulina en el extracto

$$I_{Ep} = \frac{Ep \times CI_{UV-V}}{1000}$$

Donde:

I_{Ep} : Cantidad de inulina en el extracto (g)

CI_{UV-V} : Concentración de inulina espectrofotómetro UV-V

Tabla 38. Cantidad de inulina en el extracto de tuna roja

T	(T _{Ext}) °C	(Ep) ml			(CI _{UV-V}) mg/ml			(I _{Ep}) g		
		r1	r2	r3	r1	r2	r3	r1	r2	r3
1	75	120	130	118	26,67	26,38	26,44	3,2	3,43	3,12
2		188	190	191	25,32	25,55	25,19	4,76	4,86	4,81
3		156	154	158	28,82	29,08	28,21	4,5	4,48	4,46
4	85	190	195	196	27,29	27,06	27,13	5,19	5,28	5,32

Tabla 39. Cantidad de inulina en el extracto de tuna blanca

T	(T _{Ext}) °C	(Ep) ml			(CI _{UV-V}) mg/ml			(I _{Ep}) g		
		r1	r2	r3	r1	r2	r3	r1	r2	r3
1	75	156	152	156	22,31	22,21	22,25	3,48	3,38	3,47
2		202	206	204	23,42	23,53	23,28	4,73	4,85	4,75
3		156	162	158	24,51	24,43	24,53	3,82	3,96	3,88
4	85	206	202	208	26,16	26,38	26,04	5,39	5,33	5,42

CONCENTRACIÓN PROMEDIO DE INULINA MEDIADA EN EL ESPECTROFOTÓMETRO UV-VIS

$$I_{Ei} = E_{pi} \times CI_{UV-V}$$

$$VI_{Ei} = I_{Ei} / (\rho_i \times 1000)$$

$$Va_{Epi} = E_{pi} - VI_{Ei}$$

$$CI_{UV-V} = \frac{I_{Ei}}{Va_{Epi}}$$

Donde:

I_{Ei} : Cantidad de inulina en el extracto (mg)

E_{pi} : Extracto purificado(ml)

CI_{UV-V} : Concentración de inulina espectrofotómetro UV-V (mg/ml)

ρ : Densidad de inulina (g/ml)

VI_{Ei} : Volumen de inulina en el extracto purificado (ml)

Va_{Epi} : Volumen de agua en el extracto purificado (ml)

CI_{UV-V} : Concentración promedio de inulina medida en el espectrofotómetro UV-VIS en (mg l/ml Tuna)

Tabla 40. Concentración promedio de inulina de tuna roja medida en espectrofotómetro UV-VIS en (mg l/ml Tuna)

T	(Ep) ml	(CI_{uv-v}) mg/ml	(I_E) mg	(ρ) g/ml	(VI_E) ml	(Va_{Ep}) ml	(CI_{uv-v}) mg l/ml Tuna
1	r1 120	26,67	3200,00	0,49	6,53	113,47	28,20
	r2 130	26,38	3429,58	0,49	7,00	123,00	27,88
	r3 118	26,44	3119,57	0,49	6,37	111,63	27,94
2	r1 188	25,32	4759,53	0,49	9,71	178,29	26,70
	r2 190	25,55	4855,11	0,49	9,91	180,09	26,96
	r3 191	25,19	4811,55	0,49	9,82	181,18	26,56
3	r1 156	28,82	4496,53	0,49	9,18	146,82	30,63
	r2 154	29,08	4478,54	0,49	9,14	144,86	30,92
	r3 158	28,21	4457,43	0,49	9,10	148,90	29,94
4	r1 190	27,29	5185,66	0,49	10,58	179,42	28,90
	r2 195	27,06	5275,99	0,49	10,77	184,23	28,64
	r3 196	27,13	5316,69	0,49	10,85	185,15	28,72

Tabla 41. Concentración promedio de inulina de tuna blanca medida en espectrofotómetro UV-VIS en (mg l/ml Tuna)

T	(Ep) ml	(CI _{uv-v}) mg/ml	(I _E) mg	(ρ) g/ml	(VI _E) ml	(Va _{Ep}) ml	(CI _{x uv-v}) mg l/ml Tuna	
1	r1	156	22,31	3480,42	0,49	7,10	148,90	23,37
	r2	152	22,21	3376,37	0,49	6,89	145,11	23,27
	r3	156	22,25	3470,65	0,49	7,08	148,92	23,31
2	r1	202	23,42	4730,20	0,49	9,65	192,35	24,59
	r2	206	23,53	4846,81	0,49	9,89	196,11	24,71
	r3	204	23,28	4750,06	0,49	9,69	194,31	24,45
3	r1	156	24,51	3823,47	0,49	7,80	148,20	25,80
	r2	162	24,43	3958,12	0,49	8,08	153,92	25,72
	r3	158	24,53	3875,78	0,49	7,91	150,09	25,82
4	r1	206	26,16	5388,68	0,49	11,00	195,00	27,63
	r2	202	26,38	5329,03	0,49	10,88	191,12	27,88
	r3	208	26,04	5416,40	0,49	11,05	196,95	27,50

CANTIDAD DE INULINA RETENIDA EN EL REFINADO

Para este cálculo se consideró que la composición del extracto es igual a la composición del retenido.

$$I_{Ri} = \frac{Va_{Ri} \times CI_{xUV-V}}{1000}$$

Donde:

I_{Ri}: Cantidad de inulina en el refinado (g)

Va_{Ri}: Volumen de agua contenido en el refinado (ml)

CI_{xUV-V}: Concentración promedio de inulina medida en el espectrofotómetro UV-V (mg l/ml Tuna)

Tabla 42. Cantidad de inulina retenida en el refinado de tuna roja

T	(Rel) ml/g	(Va _R) ml			(CI _{xUV-V}) mg l/ml Tuna			(IR) g		
		r1	r2	r3	r1	r2	r3	r1	r2	r3
1	150	12,73	12,73	11,75	28,2	27,88	27,94	0,36	0,35	0,33
2	200	19,61	18,61	14,65	26,7	26,96	26,56	0,52	0,5	0,39
3	150	11,77	12,75	12,73	30,63	30,92	29,94	0,36	0,39	0,38
4	200	14,65	15,65	14,68	28,9	28,64	28,72	0,42	0,45	0,42

Tabla 43. Cantidad de inulina retenida en el refinado de tuna blanca

T	(Rel) ml/g	(VaR) ml			(ClxUV-V) mg l/ml Tuna			(IR) g		
		r1	r2	r3	r1	r2	r3	r1	r2	r3
1	150	12,73	16,71	14,73	23,37	23,27	23,31	0,3	0,39	0,34
2	200	12,71	13,67	15,68	24,59	24,71	24,45	0,31	0,34	0,38
3	150	15,78	16,75	16,76	25,8	25,72	25,82	0,41	0,43	0,43
4	200	15,79	16,8	14,79	27,63	27,88	27,5	0,44	0,47	0,41

CANTIDAD DE INULINA RETENIDA EN LA PURIFICACIÓN

Cálculo de la cantidad de inulina retenida en la purificación

$$I_{Rpi} = \frac{Va_{Rpi} \times Clx_{UV-v}}{1000}$$

Donde:

I_{Rpi} : Cantidad de inulina retenida en la purificación (g)

Va_{Rpi} : Volumen de agua retenido en la purificación (ml)

Clx_{UV-v} : Concentración promedio de inulina medida en el espectrofotómetro UV-V (mg l/ml Tuna)

Tabla 44. Cantidad de inulina retenida en la purificación de tuna roja

T	(Rel) ml/g	(Va _{Rp}) ml			(Clx _{UV-v}) mg l/ml Tuna			(I _{Rp}) g		
		r1	r2	r3	r1	r2	r3	r1	r2	r3
1	150	1,79	0,81	1,80	28,20	27,88	27,94	0,05	0,02	0,05
2	200	3,71	1,81	1,82	26,70	26,96	26,56	0,10	0,05	0,05
3	150	6,66	9,62	5,71	30,63	30,92	29,94	0,20	0,30	0,17
4	200	4,71	6,71	4,73	28,90	28,64	28,72	0,14	0,19	0,14

Tabla 45. Cantidad de inulina retenida en la purificación de tuna blanca

T	(Rel) ml/g	(Va _{Rp}) ml			(Clx _{UV-v}) mg l/ml Tuna			(I _{Rp}) g		
		r1	r2	r3	r1	r2	r3	r1	r2	r3
1	150	3,81	4,81	3,80	23,37	23,27	23,31	0,09	0,11	0,09
2	200	6,66	3,81	3,82	24,59	24,71	24,45	0,16	0,09	0,09
3	150	3,81	2,83	5,75	25,80	25,72	25,82	0,10	0,07	0,15
4	200	4,73	3,80	2,81	27,63	27,88	27,50	0,13	0,11	0,08

ANEXO VI

ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE INULINA DE LAS DOS VARIEDADES DE TUNA *Opuntia ficus-indica* ROJA Y BLANCA

Tabla 46. Análisis de varianza para la variable inulina de la variedad de tuna roja

F.V.	G.L.	S.C.	ADEVA		F. Tabular	F. Tabular	
			C.M.	F.C.			
Total	11	26,992			.05	.01	
Tratamientos	3	26,727	8,909	269,20	**	4,07	7,59
A	1	8,425	8,425	254,59	**	5,32	11,3
B	1	16,478	16,478	497,91	**	5,32	11,3
AxB	1	1,824	1,824	55,11	**	5,32	11,3
Eexp.	8	0,265	0,033				

F.V. Factor de la varianza, G.L. Grados de libertad, S.C. Suma de cuadrados, C.M. Cuadrado medio.

C.V = 2,004 %

** : Altamente significativo

Tabla 47. Análisis de varianza para la variable inulina de la variedad de tuna blanca

F.V.	G.L.	S.C.	ADEVA		F. Tabular	F. Tabular	
			C.M.	F.C.			
Total	11	27,416			.05	.01	
Tratamientos	3	27,306	9,102	659,81	**	4,07	7,59
A	1	3,280	3,280	237,79	**	5,32	11,3
B	1	23,950	23,950	1736,15	**	5,32	11,3
AxB	1	0,076	0,076				
Eexp.	8	0,110	0,014				

F.V. Factor de la varianza, G.L. Grados de libertad, S.C. Suma de cuadrados, C.M. Cuadrado medio

C.V = 1,344 %

** : Altamente significativo