



ESTUDIO DE ESTANDARIZACIÓN DE UN MÉTODO ALTERNATIVO Y SENCILLO PARA DETERMINAR PERFIL DE TAMAÑO DE LOS FRUCTANOS DE AGAVE.

Lorena Moreno-Vilet, José Luis Flores-Montaño, Rosa María Camacho-Ruiz

Centro de Investigación y Asistencia Tecnológica del Estado de Jalisco. Biotecnología Industrial. Guadalajara, Jalisco.

C.P. 44270, rcamacho@ciatej.mx

Palabras clave: fructanos, centrifugación, Agave

Introducción. Los fructanos y fructooligosacáridos (FOS) de Agave han tenido un creciente interés tanto en la industria de alimentos funcionales como en investigación científica. Estudios recientes han demostrado que la funcionalidad de los fructanos depende del tamaño o grado de polimerización (GP) [1]. Por lo que es necesario contar con técnicas analíticas que separen e identifiquen a los fructanos de distinto GP. Se han descrito diversos métodos cromatográficos y espectrométricos, para elucidar la estructura, determinar la concentración y grado de polimerización de los fructanos [2]. Sin embargo, la mayoría de estos métodos son técnicamente complicados al involucrar múltiples extracciones e hidrólisis secuenciales, consumen mucho tiempo y son costosos. Por lo anterior, en este trabajo se presenta un estudio de estandarización de parámetros de Ultrafiltración (UF) tangencial como una técnica simple, sencilla y barata, como alternativa de cuantificación del perfil de tamaño de los fructanos de Agave. Esta técnica hace una separación entre los FOS y los fructanos con GP mayor.

Metodología. Se evaluaron distintos parámetros de centrifugación como tiempo, temperatura, número de lavados y concentración de la muestra para optimizar la técnica de separación de fructanos de Agave, según el método propuesto por Alvarado y col. (2014) [3]. Se utilizó un diseño factorial 2³ con punto central (Tabla 1). La eficiencia de la separación se evaluó por Cromatografía en capa fina de alta resolución (HPTLC) y Cromatografía de exclusión de tamaños (SEC) [4].

Tabla 1. Corridas experimentales y sus condiciones de acuerdo al diseño experimental.

Exp	t (min)	T (°C)	Lavados (Num.)	Conc (g/L)
1	5	4	5	40
2	35	4	1	40
3	5	30	1	40
4	35	30	5	40
5	20	15	3	40
6	20	15	3	40
7	20	15	3	20
8	20	15	3	60

Resultados. Se determinó que la separación de fructanos se lleva a cabo entre fracciones de FOS con GP<10 y fructanos con GP>10. La figura 1 muestra la eficiencia de la separación para las distintas condiciones, siendo mejor la del experimento número 4. El tiempo,

temperatura y número de lavados presentaron un efecto positivo sobre la eficiencia de la separación, mientras que la concentración presentó un efecto negativo. El tiempo de centrifugación fue el parámetro de mayor contribución (Fig 2).

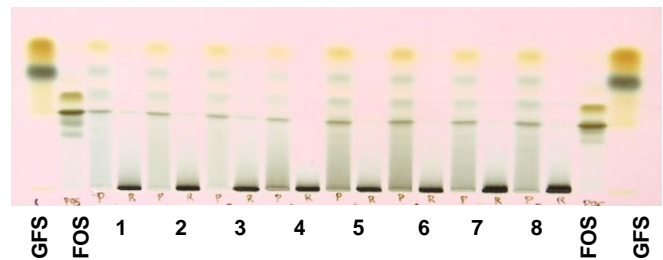


Fig. 1. Placa de cromatografía de capa fina mostrando los estándares, permeados (P) y retenidos (R) usando membranas de 3KDa para cada corrida experimental. **GFS:** estándar de glucosa, fructosa y sacarosa; **FOS:** estándar Fructooligosacáridos de Achicoria P95.

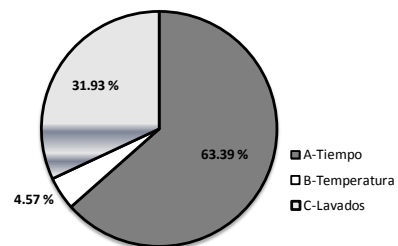


Fig. 2. Porcentaje de contribución de cada parámetro de centrifugación a la separación de las fracciones de FOS y fructanos de alto GP.

Conclusiones. La eficiencia de separación de las fracciones de FOS y los fructanos de alto GP con membrana de 3KDa por UF depende directamente de los parámetros de centrifugación. Las mejores condiciones de separación se encontraron usando 30°C y 5 lavados de 35 min, utilizando 40 g/L de concentración de muestra.

Agradecimientos. Al proyecto CONACyT PROINNOVA 2013.

Bibliografía.

1. Marquez-Aguirre A.L., Camacho-Ruiz R.M., Arriaga-Alba M., Padilla-Camberos E. Kirchmayr M.R., Blasco J.L., González-Avila M. (2013). *Food Funct.* 4:1237-1244.
2. Benkeblia N. (2013). *J.Chomatogr.A.* 1313: 54-61.
3. Alvarado C., Camacho R.M., Cejas R., Rodríguez J.A. (2014). *Revista Mexicana de Ingeniería Química.* 13 (2): 417-427.
4. Jun D., Hongping Y., Shangwei C., Song Z., Xiaohong G., Min W., Jian T. (2006). *Chinese Journal of Chromatography.* 24 (6): 560-565.