

Extracción y evaluación de inulina a partir de dalias silvestres mexicanas (*Dahlia coccinea* Cav.)

Evaluation of inulin extracted from Mexican wild dahlias (*Dahlia coccinea* Cav.)

Santana Legorreta S¹, A Villanueva-Carvajal², EJ Morales-Rosales², A Laguna-Cerda², A Dominguez-Lopez²

Resumen. La dalia (*Dahlia coccinea* Cav.) es una planta que ha sido cultivada y mejorada genéticamente con fines ornamentales; no obstante, su sistema radical almacena carbohidratos de reserva bajo la forma de inulina y otros fructanos. La inulina forma parte de la fibra dietética de diversos vegetales, y es considerada como un compuesto prebiótico. Este polisacárido se extrae principalmente de la achicoria y la alcachofa mediante métodos de separación muy variados, siendo la raíz de la dalia una opción interesante de utilización industrial. Los objetivos de este estudio fueron (1) proponer un método simple de extracción de inulina de la raíz de dalia, y (2) evaluar el efecto del cultivo de dalias silvestres sobre su contenido de inulina, fructanos, fructosa y glucosa. Se realizaron colectas de dalia silvestre y se propuso un método de extracción de inulina. Las semillas de los ejemplares recolectados fueron cultivadas y a las raíces obtenidas se les determinó la concentración de fructanos, inulina, fructosa y glucosa, y se estimó el grado de polimerización. La relación tiempo-temperatura afectó significativamente la concentración de inulina y fructanos extraídos, siendo la combinación óptima 80 °C durante 60 minutos. La influencia del pH resultó no significativa para este mismo propósito. Por otro lado, el cultivo de las dalias silvestres aumentó significativamente el contenido de inulina y fructanos de sus raíces. Sin embargo, el grado de polimerización, estimado a partir de la relación fructosa/glucosa, disminuyó.

Palabras clave: *Dahlia coccinea* Cav.; Inulina; Fructanos; Prebióticos; Grado de polimerización.

Abstract. The Dahlia (*Dahlia coccinea* Cav.) is a plant that has been cultivated and genetically improved due to its ornamental importance; anyhow, its radical system accumulates reserve carbohydrates in the form of inulin and other fructans. Inulin is considered a part of the dietetic fiber from vegetable food sources, and it is also considered as a prebiotic compound. Inulin is extracted mainly from chicory and artichoke through different separation methods being Dahlia's tubers an interesting option for industrial utilization. The aims of this study were to (1) propose a simple extraction method of inulin from Dahlia's tubers, and (2) evaluate the effect of cultivating wild Dahlias' on their inulin, fructans, fructose and glucose content. Wild Dahlia's samples were collected and an inulin extraction method was proposed. The seeds of the collected specimens were planted and fructans, inulin, fructose and glucose were quantified on the harvested roots, and the degree of polymerization was estimated. The time-temperature relationship significantly affects the concentration of extracted inulin and fructans, being 80 °C during 60 minutes the optimal combination. The pH, however, did not have any significant effect on those variables. Furthermore, cultivation of wild Dahlias significantly increased inulin and fructans contents of their roots. However, the polymerization degree (estimated from the fructose/glucose ratio) decreased.

Keywords: *Dahlia coccinea* Cav.; Inulin; Fructans; Prebiotics; Polymerization degree.

¹ Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma del Estado de México. Campus Universitario "El Cerrillo". Km 15, Carr. Toluca-Ixtlahuaca, Entronque El Cerrillo. Apdo. Postal 435, Toluca 50200, Estado de México, MEXICO. Tel. & Fax: 52 (722) 296 5529.

² Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma del Estado de México. Campus Universitario "El Cerrillo". Km 15, Carr. Toluca-Ixtlahuaca, Entronque El Cerrillo. Apdo. Postal 435, Toluca 50200, Estado de México, MEXICO. Tel. & Fax: 52 (722) 296 5529.

Address correspondence to: Dr. Aurelio Dominguez-Lopez, e-mail: adominguezl@uaemex.mx

Received 23.IV.2015. Accepted 10.VII.2015.

INTRODUCCIÓN

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

La dalia es una planta que ha sido, durante mucho tiempo, cultivada y mejorada genéticamente con fines ornamentales, ya que produce inflorescencias muy atractivas. De hecho, a partir de 1963 fue considerada la flor nacional de México (Mera-Ovando y Boettler, 2006). Sin embargo, recientemente se ha puesto atención a su sistema radical, compuesto de raíces tuberosas, dado que en este órgano se almacenan carbohidratos de reserva bajo la forma de inulina y otros fructanos. Esto es similar a lo que ocurre con otras especies de la familia Asteraceae, como el Yacón (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. Endl), la Achicoria (*Cichorium intybus* L.) y la Alcachofa de Jerusalén (*Helianthus tuberosus*) (Bosscher, 2009). Arenas et al. (2011) informaron que una de las especies más comunes, *Dahlia variabilis* Wild (Desf.), puede producir alrededor de 17 t/ha de raíz tuberosa en condiciones controladas, lo que representa aproximadamente 3500 kg de materia seca. Este rendimiento es comparable con el de la achicoria, que oscila entre 20 y 24 t/ha (Černý et al., 2008), o con el de la raíz de alcachofa (10-19 t/ha: Matías et al., 2013) con la ventaja de que se puede producir en valles altos y en condiciones de temporal. De acuerdo con Widowati et al. (2005), la materia seca de la raíz de dalia contiene 85% de carbohidratos, de los cuales de 52 a 83% son inulina, dependiendo del estado de madurez de la raíz, la especie y otros factores (Stevens et al., 2001).

La inulina es un grupo heterogéneo de polisacáridos que está compuesto principalmente de monómeros de fructosil-fructosa, comúnmente conocidos como fructanos, ligados mediante enlaces $\beta(2\rightarrow1)$ (cuya abreviatura común es F_n), con una unidad de glucopiranososa reductora en el extremo de cada molécula (cuya abreviatura es GF_n). En algunos casos, como en la dalia o la achicoria, se presentan ramificaciones a través de enlaces $\beta(2\rightarrow6)$ (1-2% y 4-5% en una y otra, respectivamente) (Stevens et al., 2001). Así, la inulina puede ser representada como GF_n y F_m a la vez, lo que significa que es una mezcla de oligómeros y polímeros. En la inulina de achicoria, n , el número de unidades de fructosa ligadas a una terminal de glucosa varía de 10 a 14, y en la dalia es de alrededor de 20 (Bosscher, 2009).

La inulina nativa, tal como se extrae de raíces frescas, presenta en promedio un grado de polimerización (GP) de 10,

aunque varía de 2 a 70 dependiendo de la especie vegetal, de las condiciones climáticas en las que ésta se desarrolla y de su edad fisiológica. Además, la longitud de la cadena puede ser reducida por medio de enzimas endoinulinasas para dar GP entre 2 y 8, con un promedio de 4. El producto resultante es comúnmente llamado "oligofructosa" y se trata de una mezcla de fragmentos de GF_n , como la sacarosa y F_m , es decir cadenas de fructosa (Stevens et al., 2001).

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

Los métodos utilizados para la separación de la inulina a partir del material vegetal son variados y se han ensayado principalmente en la achicoria y en la alcachofa. Incluyen, entre otros, una etapa de trituración del material, difusión en un medio acuoso, insolubilización y precipitación con etanol o mediante bajas temperaturas, centrifugación y deshidratación por atomización u otros medios. La temperatura, el pH, los tiempos de extracción y los tipos de solventes son factores que se han hecho variar a fin de maximizar la cantidad extraída por unidad de material (Leite Toneli et al., 2007). Por ejemplo, Lingyun et al. (2007) emplearon diversas combinaciones de pH, tiempo, temperatura, relación sólidos-solvente, y agitación mediante ultrasonido para optimizar la extracción de inulina a partir de raíces tuberosas de alcachofa. Estos autores informaron que a pH natural, una temperatura de 76.7 °C durante 20 min, una relación 10.56:1 (v/w) de solvente-sólidos, y agitación mediante ultrasonido, pudo extraerse más del 83% de la inulina de las raíces de esta especie.

Tanto el método empleado como la cantidad máxima extraíble, así como la concentración total y las propiedades de la inulina obtenida dependen de la especie o variedad vegetal y de su estado fisiológico, de la edad de las raíces y del modo en que fueron cultivadas (Stevens et al., 2001). En el caso de la dalia, los estudios relacionados con estos aspectos son sumamente escasos y su divulgación ha sido muy limitada. Arenas et al. (2011) evaluaron cuatro niveles de fósforo y cuatro densidades de plantación con el fin de alcanzar la mayor cantidad de materia seca radical (345 g/m^2), lo cual está directamente relacionado con la cantidad de inulina. Los objetivos del presente trabajo fueron (1) proponer un método simple de extracción de inulinas de la raíz de dalia, y (2) evaluar el efecto del cultivo controlado de dalias silvestres sobre su contenido de inulina, fructanos, fructosa y glucosa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Condiciones de extracción de inulina de la raíz de dalia.

El material vegetal utilizado consistió en raíces de dalias cultivadas durante el ciclo agrícola primavera-verano 2013, en Zinacantepec, México, ubicado a $19^\circ 17' \text{ N}$ y $99^\circ 44' \text{ O}$. El sitio tiene una altitud de 2750 m.s.n.m. El clima es templado subhúmedo, y la temperatura media anual es de aproximadamente 12° C . La precipitación media anual es de 1225 mm, y las lluvias se concentran en los meses de mayo a octubre. Las raíces obtenidas se lavaron con agua a presión para eliminar cualquier residuo de tierra que pudieran contener, descartando las partes que presentaron algún deterioro. Dichas raíces se secaron en una estufa a 60° C durante 72 h para su posterior molienda en un molino de cuchillas (Ika-Werke modelo M20) y tamizado a través de una malla No. 20 (0,850 mm de apertura).

La inulina se extrajo de acuerdo a la metodología reportada por Leite Toneli et al. (2007) con algunas modificaciones según la siguiente descripción, ilustrada en la Figura 1. Se realizó una suspensión del producto seco y molido en agua destilada a un pH de 7,0 con una proporción agua:raíz de 10:1, con agitación continua, a las temperaturas experimentales propuestas de $20, 60$ y $80 \pm 1^\circ \text{ C}$ durante 30, 45 y 60 min. Se agregó 0,2% de tierra de diatomeas para mejorar el proceso de filtración. Una vez transcurridos los períodos de extracción, la mezcla se filtró a través de papel Whatman número 2 con la ayuda de una bomba de vacío. El líquido filtrado se llevó a congelación a una temperatura de -20° C durante un periodo de 24 h, seguido de una descongelación a temperatura ambiente ($18-20^\circ \text{ C}$ aproximadamente) procurando no agitar la suspensión durante este proceso. Finalmente, la suspensión obtenida se centrifugó en tubos de 50 ml a una velocidad de 3000 rpm durante 15 min y una temperatura de 4° C , mediante el uso de una centrifuga SOLBAT modelo C-600. El precipitado se deshidrató a 60° C durante 24 h. Al líquido sobrenadante se le agregó etanol absoluto (99,5% v/v) hasta lograr una concen-

tración de etanol de 70% (esto implica 237,29 g de etanol absoluto por cada 100 g de sobrenadante) para precipitar algunas partículas de inulina dispersas. Posteriormente se sometió a centrifugación y secado empleando los criterios antes descritos. El diseño experimental fue completamente al azar con arreglo bi-factorial, en el que el factor 1 fue la temperatura, y el factor 2 el tiempo, ambos con los tres niveles descritos arriba y tres repeticiones.

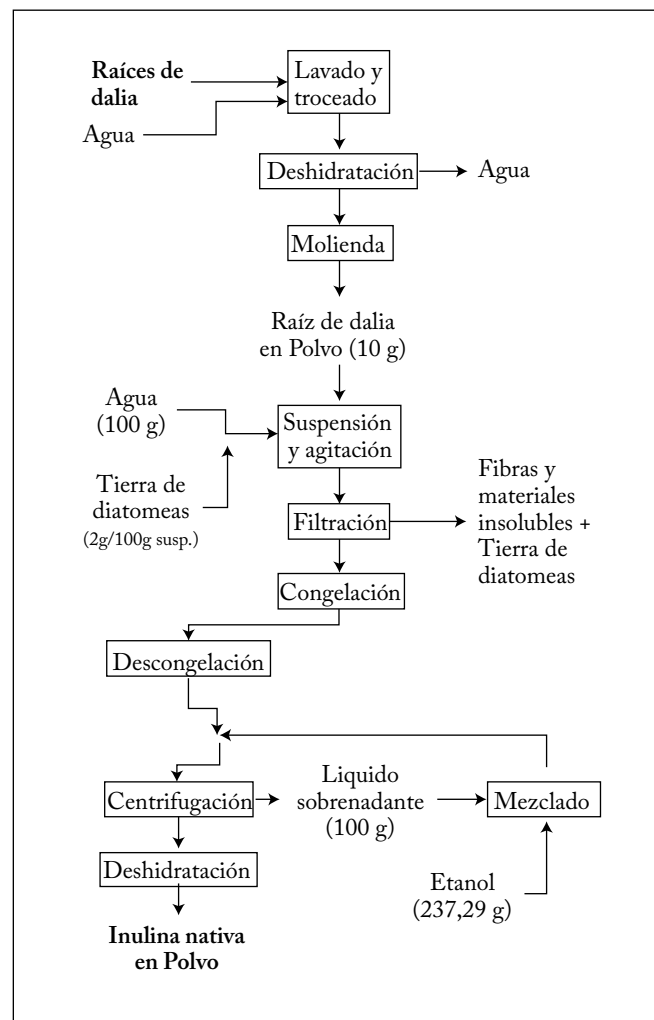


Fig. 1. Diagrama general del proceso de extracción de inulina de las raíces de Dalia.

Fig. 1. Flowsheet of the inulin extraction process from Dahlia roots.

Con la temperatura y tiempo que permitieron la mayor extracción de inulina nativa, se llevaron a cabo extracciones utilizando una metodología igual a la descrita en el párrafo anterior, ajustando el pH de la suspensión a valores de 8, 9 y 10 mediante una disolución de NaOH 1,0 N.

Efecto del cultivo de dalias silvestres sobre el contenido de inulina. Las muestras de raíces silvestres se colectaron el 22 y 23 de noviembre de 2013 en 6 localidades de 3 municipios del Estado de México, en México: Temascaltepec (Mesas de Arriba, Mina y Temascaltepec Centro) localizado a 1700 m.s.n.m., Atlacomulco (Cerro de la Campana y San Martín de los Manantiales) situado a 2550 m.s.n.m., y Acambay (San Pedro de los Metates) localizado a 2600 m.s.n.m. Las colectas se realizaron durante las primeras horas de la mañana, colectándose aproximadamente cinco kilogramos de raíz por ubicación. Una vez colectadas las raíces, se procedió inmediatamente al lavado de las mismas con agua corriente y jabón neutro para eliminar los restos de tierra, y se secaron con tela de algodón. Una parte de las muestras colectadas fue deshidratada en una estufa de secado a 60 °C durante 72 horas para su posterior molido y tamizado en una malla No. 20 (0,850 mm de apertura). La otra parte se refrigeró a 4 °C dentro de bolsas de papel hasta el momento de su análisis (no más de 4 días después). Durante la colecta de las raíces nativas, se obtuvieron también las semillas que fueron utilizadas para evaluar el efecto del cultivo.

Las raíces colectadas se transportaron a las instalaciones de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma del Estado de México, situada en el Campus Universitario "El Cerrillo", ubicado en El Cerrillo Piedras Blancas municipio de Toluca, México. Las condiciones de esta ubicación son 99° 42" O y 19° 14" N con una altitud de 2640 msnm, presentando lluvias en verano y escasa precipitación pluvial en invierno (alrededor del 5%), poca oscilación térmica, temperatura media anual de 12,8 °C y precipitación promedio anual de 900 mm.

La siembra de las semillas colectadas se inició a fines del mes de abril de 2013 en bandejas de germinación de 200 cavidades, utilizando como sustrato *Peat Moss* y *Agrolita* (1:1). El riego se realizó a intervalos de 12 horas (inicio y final del día) mediante un nebulizador. Las bandejas permanecieron durante un mes en invernadero donde las plántulas fueron seleccionadas para que tuvieran el mismo tiempo de germinación. Una vez transcurrido dicho tiempo, el número de semillas germinadas de la colecta de la localidad Mina fue escaso (3%), por lo que se decidió eliminarla del experimento. Una vez que las plántulas alcanzaron 10 cm de altura y contaron con cuatro hojas verdaderas, éstas fueron reubicadas y etiquetadas individualmente en bolsas de polietileno negro de 4 L, las cuales contenían una mezcla de tierra (30%), *Agrolita* (35%) y lombricomposta (35%) como sustrato.

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

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

La cosecha se llevó a cabo de forma manual 90 días después del trasplante, cuando las plantas tenían en promedio 55 cm de altura y se iniciaba la floración de las mismas. Inmediatamente después de la cosecha, se separaron las raíces del resto de la planta, que se lavaron con agua corriente para eliminar el excedente de tierra e impurezas.

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

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Extracción de inulina nativa. La Figura 2 muestra el efecto de la temperatura y el tiempo de maceración de las raíces de dalia deshidratadas y pulverizadas sobre la eficiencia en la extracción de inulina nativa. En esta gráfica se observa que a medida que ambos factores aumentan, la cantidad de inulina recuperada fue significativamente mayor. Esto se confirma con el análisis de varianza reportado en la Tabla 1: la temperatura y, en menor medida, el tiempo producen un efecto significativo sobre dicha extracción ($P < 0,05$), pero no la interacción temperatura-tiempo ($P > 0,05$). De acuerdo con estos resultados, la mayor cantidad de este prebiótico se obtuvo a una temperatura de 80 °C, durante 60 min de agitación. A esta temperatura y tiempo de maceración se evaluó el efecto del pH de la solución acuosa. Lingyun et al. (2006) evaluaron el efecto de la temperatura y tiempo de maceración en la extracción de inulina de alcachofa de Jerusalén obteniendo los mejores resultados (82,2% de extracción) a una temperatura de 75 °C y 20 minutos. El efecto del pH en este reporte no fue significativo (Fig. 3). No se encontraron otros reportes que mostraran el efecto del pH en la extracción de inulina de algún otro origen. Los resultados del presente estudio indican que el pH no ejerce una diferencia significativa en la extrac-

ción, lo que concuerda con los resultados de Lingyun et al. (2006). Dado lo anterior, se utilizó una temperatura de 80 °C durante 60 min en soluciones acuosas a pH igual a 9,0 para la extracción de inulina de las raíces silvestres y cultivadas.

Contenido de inulina de dalias silvestres y cultivadas. En la Tabla 2 se reporta el contenido de inulina nativa, fructanos (F_m), glucosa y fructosa en raíces de dalia silvestre y cultivada obtenidas de diferentes localidades. En las colectas silvestres se encontró un contenido de inulina y F_m que varió de 23,9 a 42,5 y 19,6 a 27,9 g/100 g M.S., respectivamente. Cuando estas colectas se sometieron a cultivo, ambos polímeros aumentaron significativamente su contenido con una variación de 38,0 a 73,1 y 25,7 a 45,2 g/100 g M.S., respectivamente (la materia seca varió de 18 a 33 g/100 g de raíz fresca).

Después de determinar la cantidad de glucosa y fructosa que componen la inulina y los fructanos de las raíces de dalia (Tabla 2), se obtuvo una relación fructosa/glucosa como un indicador del grado de polimerización (GP) de estos compuestos, de tal manera que un valor elevado de esta relación indica una inulina formada por una cadena de monómeros

más larga y viceversa. Madrigal y Sangronis (2007) reportaron, en este sentido, que las cadenas de fructosa de la inulina tienen la particularidad de terminar en una molécula de glucosa unida por un enlace α -(1,2) (residuo -Dglucopiranosil), tal como en la sacarosa. Con fines comparativos y de validación de los resultados experimentales, se obtuvo el GP de inulina comercial de achicoria y de dalia a través de la determinación de su concentración de glucosa y fructosa y su consecuente relación fructosa/glucosa (Tabla 2). En el caso de la inulina de achicoria se obtuvo un grado de polimerización de alrededor de 21 (cerca a la especificación del fabricante) y en la inulina de dalia éste fue de 11. Beirao-Da-Costa et al. (2005) obtuvieron inulina de achicoria con un grado de polimerización de 24 a partir de una relación 96/4 de fructosa/glucosa (inulina no comercial). No obstante, también Madrigal y Sangronis (2007) reportaron que la inulina de achicoria presenta un grado de polimerización que va de 2 a 60. En el caso de la dalia, Mitchell y Mitchell (1995) mencionan la importancia del grado de polimerización e indican que en el caso particular de este cultivo, un grado de polimerización entre 16-40 es el óptimo para evitar hidrólisis a nivel gástrico facilitando, a

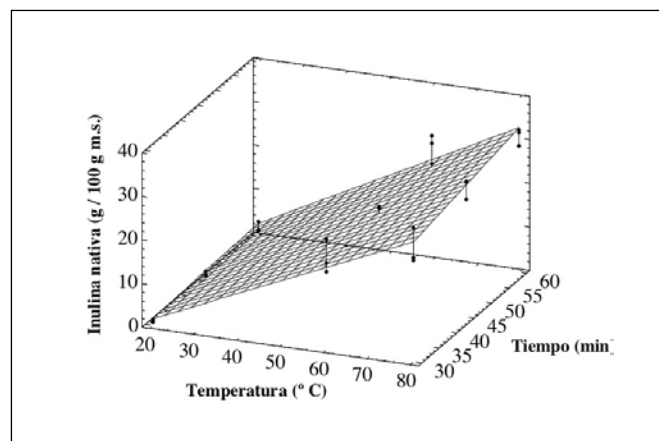


Fig. 2. Efecto de la temperatura y el tiempo sobre la cantidad de inulina nativa extraída de las raíces de Dalia.

Fig. 2. Effect of temperature and time on the amount of native inulin extracted from Dahlia roots.

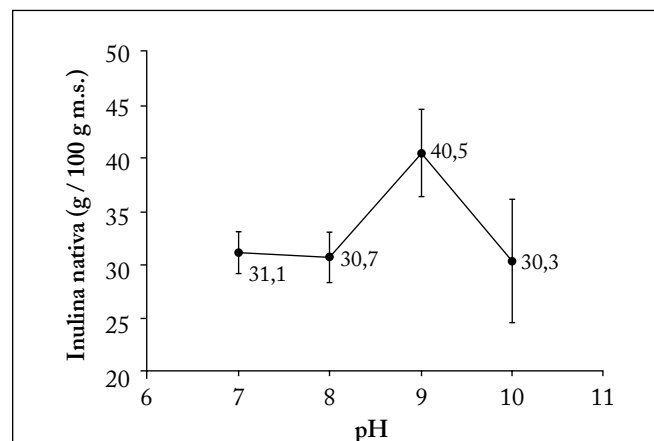


Fig. 3. Efecto del pH de la solución acuosa sobre la extracción de inulina nativa de raíces de Dalia.

Fig. 3. Effect of the aqueous solution's pH on the amount of native inulin extracted from Dahlia roots.

Tabla 1. Análisis de varianza del efecto de la temperatura y el tiempo sobre la extracción de inulina nativa de las raíces de Dalia.

Table 1. Analysis of variance of the effect of temperature and time on the extraction of native inulin from the Dahlia roots.

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	F calculado	P
Temperatura (A)	3745,106	2	1872,553	310,969	0,000
Tiempo (B)	59,781	2	29,890	4,964	0,019
A * B	20,073	4	5,018	0,833	0,521
Error experimental	108,390	18	6,022		
Total	3933,350	26			

Tabla 2. Contenido de fructanos (F_m), inulina nativa, glucosa y fructosa en raíces de dalia silvestre y cultivada de diferentes localidades.
Table 2. Fructan (F_m), native inulin, glucose and fructose content of wild and cultivated dahlia roots from different locations.

Localidad	Colecta	F _m ^a	Inulina nativa ^a	Fructosa ^b	Glucosa ^b
Acambay	Silvestre	26,5 ± 0,5	40,7 ± 0,9	89,5 ± 1,1	9,9 ± 1,1
El Cerro	Silvestre	27,9 ± 0,6	42,5 ± 0,8	79,6 ± 4,0	19,1 ± 4,1
San Martín	Silvestre	22,4 ± 1,2	34,4 ± 2,0	82,5 ± 0,7	17,0 ± 0,7
Las Mesas	Silvestre	19,6 ± 0,6	32,0 ± 2,5	90,4 ± 0,6	9,3 ± 0,3
Temascaltepec	Silvestre	23,2 ± 1,3	33,7 ± 0,6	93,5 ± 0,9	6,3 ± 0,8
La Mina	Silvestre	-	37,2 ± 1,5	91,6 ± 1,1	8,4 ± 1,1
El Cerrillo	Cultivada	-	23,9 ± 1,4	86,3 ± 0,6	11,8 ± 1,5
Acambay	Cultivada	33,3 ± 2,5	52,1 ± 0,4	66,8 ± 0,6	33,0 ± 0,4
El Cerro	Cultivada	31,1 ± 0,8	45,8 ± 1,0	68,8 ± 0,0	31,0 ± 0,3
San Martín	Cultivada	25,7 ± 5,3	40,5 ± 7,6	71,2 ± 0,3	28,4 ± 0,4
Las Mesas	Cultivada	45,2 ± 3,5	73,1 ± 5,1	61,5 ± 1,1	38,3 ± 1,0
Temascaltepec	Cultivada	28,2 ± 0,9	38,0 ± 0,4	83,5 ± 1,2	15,8 ± 1,2
Inulina Achicoria	Comercial	0,0	100	94,8 ± 1,0	4,6 ± 1,0
Inulina Dalia	Comercial	0,0	100	90,9 ± 0,2	8,6 ± 0,9

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

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

su vez, la asimilación por parte de bacterias intestinales. Los resultados obtenidos en el presente estudio sugieren que es posible controlar el grado de polimerización de la inulina de dalia mediante la modulación de las condiciones ecofisiológicas del cultivo, logrando polímeros con un largo de cadena que se ajuste a aplicaciones específicas.

La Figura 4 muestra el contenido de inulina nativa y su relación fructosa/glucosa en raíces de dalias silvestres confirmando la variabilidad observada, y previamente discutida, según la localidad en donde se recolectaron. Como se puede observar en esta figura, las líneas horizontal y vertical indican la variabilidad encontrada en una localidad determinada en cuanto a la concentración de inulina nativa y su grado de polimerización. Así, en los ejemplares de algunas colectas se encontraron concentraciones elevadas de inulina nativa, como en el caso de las provenientes de la localidad “El Cerro” o “Acambay” o un alto grado de polimerización como en el caso de “La Mina”. Los ejemplares de la localidad de “Temascaltepec” presentaron poca variabilidad tanto en la concentración de inulina nativa como en su grado de polimerización, contrariamente a aquellas de “La Mina” y “El Cerrillo”. Por su parte, “San Martín” y “Las Mesas” presentaron alta variabilidad sólo en el contenido de inulinanativa. En todos los casos, las condiciones de desarrollo de las plantas de dalia (edad, variaciones climáticas, disponibilidad de agua, etc.) y su consecuente síntesis de inulina en la raíz resultan desconocidas puesto que se recolectaron en su ambiente natural. La Figura 4 demuestra, entonces, la existencia de variabilidad en cuanto a la concentración y polimerización de la inulina, la cual se infiere que

depende de factores tanto genéticos como fisiológicos y ambientales. Meijer et al. (1993) estudiaron estos aspectos en variedades de alcachofa de Jerusalén y achicoria y reportaron

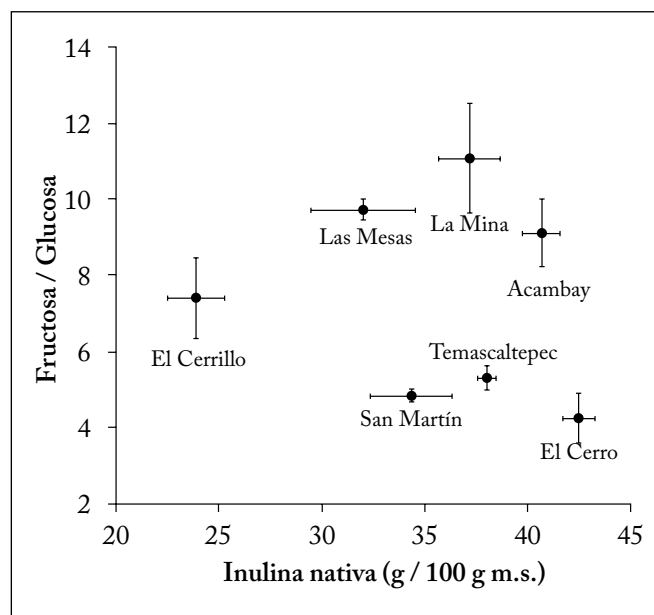


Fig. 4. Contenido de inulina nativa y su relación Fructosa/Glucosa en raíces de dalias silvestres (valores promedio ± 1 σ , representada por las barras horizontal y vertical).

Fig. 4. Native inulin content and its Fructose / Glucose relationship in the roots of wild dahlias (mean values ± 1 σ as represented by the horizontal and vertical bars).

que ambas especies son sensibles a la disponibilidad de agua: un suministro elevado de agua siempre induce un aumento en el rendimiento de raíces y tubérculos; sin embargo, esto afecta negativamente el rendimiento de azúcares debido a la reducción en la capacidad de acumulación en estos órganos de almacenamiento. Por otra parte, el rendimiento de tubérculos también está fuertemente afectado por la (1) senescencia de las hojas, (2) relación entre la materia seca del tallo y la inulina almacenada temporalmente en el mismo, (3) expansión prematura de las hojas y (4) relación entre el número de brotes y aquel de raíces, y (5) las bajas temperaturas durante la estación seca en regiones tropicales (Kocsis et al., 2007).

Cuando las dalias silvestres fueron cultivadas, en todos los casos se observó un mayor contenido de inulina, pero la relación Fructosa/Glucosa disminuyó significativamente (Fig. 5A). Esto sugiere que el proceso de cultivo genera en la raíz de la dalia un mayor contenido de compuestos prebióticos, pero de cadena más corta. La Figura 5B muestra el efecto del cultivo sobre el contenido de inulina nativa y la relación Fructosa/Glucosa de las raíces de las dalias recolectadas y demuestra que este efecto fue diferente según la localidad de origen de estas plantas. Así, por ejemplo, en el caso de las dalias originarias de la localidad "Las Mesas" se observó que el cultivo produjo la concentración más alta de inulina nativa, pero la longitud más corta de su cadena de fructosas, es decir el menor grado de polimerización. En el caso de los ejemplares provenientes de la localidad "El Cerro" el cultivo produjo los efectos menos drásticos: se obtuvieron los menores incrementos de inulina nativa y la menor disminución del grado de polimerización. Antecedentes similares han sido reportados para alcachofa de Jerusalem (Ben Chekroun et al., 1994), encontrando una máxima acumulación de carbohidratos polimerizados al término del crecimiento y antes de la floración. Otros factores agroclimáticos podrían ser determinantes en la producción de inulina y fructanos, como por ejemplo la temperatura del año de cultivo y el fotoperiodo. Respecto de estos últimos factores, Lachman et al. (2004) concluyeron, en el caso del yacón, que una alta temperatura en el año, así como una elevada cantidad de horas sol incrementaron la conversión de inulina en sacarosa. Legnani y Miller (2001) reportaron que fotoperiodos cortos promovieron la acumulación de fructanos en raíces de dalia. Los estudios sobre la producción de polímeros de fructosa, y particularmente de inulina de dalia, son objeto de estudio agronómico, los cuales pueden ser dirigidos para potenciar el uso de este polímero natural.

CONCLUSIONES

La temperatura y el tiempo de maceración de raíces tuberosas de dalia produjeron un efecto significativo sobre la extracción de inulina y fructanos, siendo 80 °C durante 60 minutos la combinación de extracción óptima. El pH no tuvo efectos significativos para este propósito. El cultivo de las da-

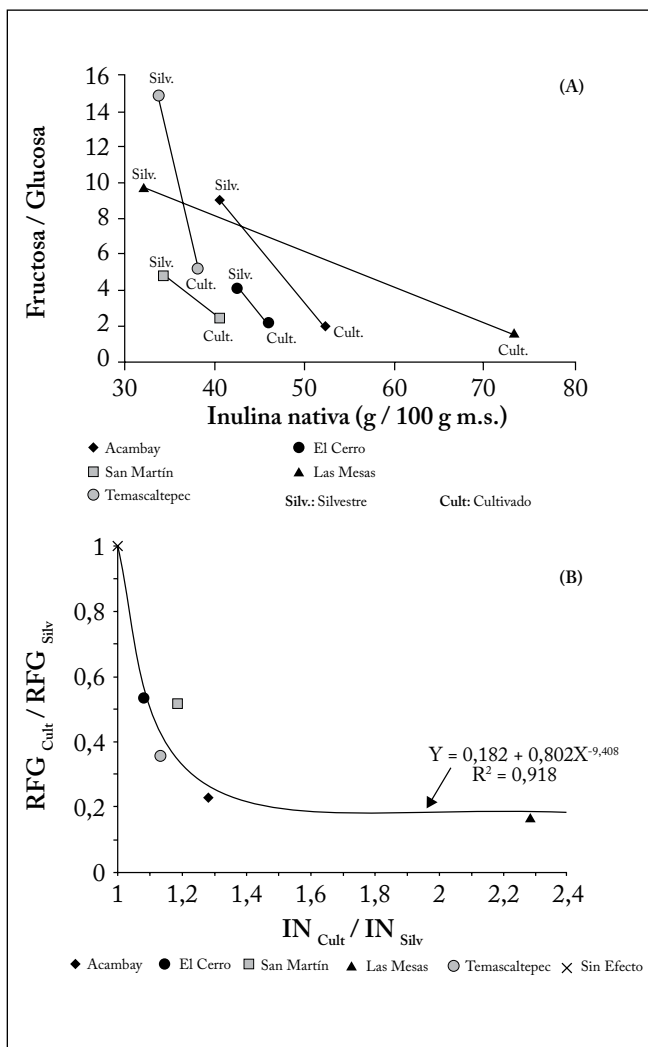


Fig. 5. (A) Efecto del cultivo sobre el contenido de inulina nativa y su relación Fructosa/Glucosa en raíces de dalias silvestres. (B) Contenido relativo de inulina nativa (IN_{Cult} / IN_{Silv}) vs Relación glucosa/fructosa relativa en raíces de dalia (RFG_{Cult} / RFG_{Silv}). Fig. 5. (A) Growing effect on the amount of native inulin and its Fructose / Glucose relationship in the roots of wild dahlias. (B) Relative content of native inulin vs Fructose / Glucose relationship in the roots of dahlias.

lias silvestres aumentó de manera significativa el contenido de inulina y fructanos de las raíces, aunque redujo la relación fructosa/glucosa, relacionada con el largo de la cadena polimérica. Si se asume que las raíces fueron más viejas en las plantas silvestres que en las cultivadas, nuestros resultados sugerirían que en la medida que las raíces van envejeciendo acumulan reservas bajo la forma de inulinas y fructanos de cadena más larga. Es necesario estudiar este aspecto de manera experimental. El conocimiento de las condiciones agroclimáticas sobre la producción y polimerización de los derivados de la sacarosa, fructanos e inulina en las raíces de dalia es necesario a fin de controlar el largo de la cadena polimérica. De esta ma-

nera, sería posible obtener fructanos e inulina con características particulares (con grados de polimerización controlados) decidiendo la época de cosecha y las condiciones del cultivo.

AGRADECIMIENTOS

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

REFERENCIAS

- Anan'ina, N.A., O.A. Andreeva, L.P. Mycots y E.T. Oganeyan (2009). Standardization of inulin extracted from *Dahlia* single tubers and some physicochemical properties of inulin. *Pharmaceutical Chemistry Journal* 43: 157-159.
- Arenas, J.Y.R., R. Delgado-Martinez, E.J. Morales-Rosales, A. Laguna-Cerda, O. Franco-Mora y E. Urbina-Sánchez (2011). Tuberos root yield of *Dahlia variabilis* Wild (Desf.) under different agronomic management practices. *Phyton-International Journal of Experimental Botany* 80: 107-112.
- Beirao-Da-Costa, M.L., M.I. Janeiro, F.M.S. Simao y A.E.B. Leitao (2005). Characterisation of inulin from chicory and salsifi cultivated in Portugal. *Alimentos e Nutrição, Araraquara* 16: 221-225.
- Ben Chekroun, M., J. Amzile, M. Yachoui, N.E. El Haloui y N.E. Prevost (1994). Qualitative and quantitative development of carbohydrate reserves during the biological cycle of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 22: 31-37.
- Bosscher, D. (2009). Fructan Prebiotics Derived from Inulin. En: Charalampopoulos, D. y Rastall, R.A. (eds). pp. 163-205. *Prebiotics and Probiotics Science and Technology*. Springer-Verlag New York. DOI: 10.1007/978-0-387-79058-9_6.
- Castro-Castro, A., A. Rodríguez, G. Vargas-Amado y M. Harker (2012). Diversidad del género *Dahlia* (Asteraceae: Coreopsidae) en Jalisco, México y descripción de una especie nueva. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 83: 347-358.
- Černý, I., V. Pačuta y M. Kovár (2008). Yield and quality of chicory (*Cichorium intybus* L.) in dependence on variety and foliar application of atonik and polybor 150. *Journal of Central European Agriculture* 9: 425-430.
- Gibson, G.R. y M.B. Roberfroid (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition* 125: 1401-1412.
- Gibson, G.R., E.R. Beatty y J. Cummings, (1995). Selective fermentation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology* 108: 975-982.
- Huebner, J., R.L. Wehling R.W. Hutkins (2007). Functional activity of commercial prebiotics. *International Dairy Journal* 17: 770-775.
- Kocsis, L., P. Liebhard y W. Praznik (2007). Effect of seasonal changes on content and profile of soluble carbohydrates in tubers of different varieties of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 9401-9408.
- Lachman, J., B. Havrland, E.C. Fernández y J. Dudjak (2004). Saccharides of yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] tubers and rhizomes and factors affecting their content. *Plant Soil Environment* 50: 383-390.
- Legnani, G. y B.W. Miller (2001). Short photoperiods induce fructan accumulation and tuberous root development in *Dahlia* seedlings. *New Phytologist* 149: 449-454.
- Leite Toneli, J.T.C., F.E.S. Mürr, P. Martinelli, I.M. Dal Fabbro y K.J. Park (2007). Optimization of a physical concentration process for inulin. *Journal of Food Engineering* 80: 832-838.
- Lingyun, W., W. Jianhua, Z. Xiaodong, T. Da, Y. Yalin, C. Chenggang, F. Tianhua y Z. Fan (2007). Studies on the extracting technical conditions of inulin from Jerusalem artichoke tubers. *Journal of Food Engineering* 79: 1087-1093.
- López-Molina, D., M.D. Navarro-Martínez, F. Rojas Melgarejo, A.N.P. Hiner, S. Chazarra y J.N. Rodríguez-López (2005). Molecular properties and prebiotic effect of inulin obtained from artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Phytochemistry* 66: 1476-1484.
- Madrigal, L. y E. Sangronis (2007). La inulina y derivados como ingredientes claves en alimentos funcionales. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 57: 387-396.
- Matías, J., J. González, J. Cabanillas y L. Royano (2013). Influence of NPK fertilisation and harvest date on agronomic performance of Jerusalem artichoke crop in the Guadiana Basin (Southwestern Spain). *Industrial Crops and Products* 48: 191-197.
- Meijer, W.J.M., E.W.J.M. Mathijssen y G.E.L. Borm (1993). Crop Characteristics and Inulin Production of Jerusalem Artichoke and Chicory. *Studies in Plant Science* 3: 29-38.
- Mera-Ovando, L.M. y R.B. Boettler (2006). La Dahlia una belleza originaria de México. *Revista Digital Universitaria* 7: 1-11. (<http://www.revista.unam.mx/vol.7/num11/art90/int90.htm>)
- Mitchell, Ch.R. y P.R. Mitchell (1995). Evaporative concentration to adjust degree of polymerization of pressed and assayed juice having cold water solubility and free from sesquiterpene lactones. Instant dried dahlia inulin juice and its method of production and usage. United States Patent Number: US5422346 A.
- Stevens, C.V., A. Meriggi y K. Booten (2001). Chemical Modification of Inulin, a Valuable Renewable Resource, and Its Industrial Applications. *Biomacromolecules* 2: 1-16.
- Sorensen, P.D (1970). Dahlia: An Early History. *Arnoldia* 30: 121-138.
- Widowati, S., T.C. Sunarti y D.A. Zaharani (2005). Ekstraksi, Karakterisasi, dan Kajian Potensi Prebiotik Inulin Dari Umbi Dahlia (*Dahlia pinnata* L.). Seminar Rutin Puslitbang Tanaman Pangan, Bogor, 16 Juni 2005.
- Zubaidah, E. y W. Akhadiana (2013). Comparative Study of Inulin Extracts from Dahlia, Yam, and Gembili Tubers as Prebiotic. *Food and Nutrition Sciences* 4: 8-12.