

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

PROGRAMA DE POSGRADO EN BIOPROCESOS

INTEGRACIÓN DEL PROCESO DE NANOFILTRACIÓN Y SECADO
POR ASPERSIÓN PARA LA OBTENCIÓN DE FRUCTANOS EN POLVO
DE *Agave salmiana*

Opción de titulación:

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS EN BIOPROCESOS

PRESENTA:

I.A. HÉCTOR REYNOSO PONCE

DR. MIGUEL ÁNGEL RUIZ CABRERA

DIRECTOR

DRA. ALICIA GRAJALES LAGUNES

ASESORA

DR. MARIO MOSCOSA SANTILLÁN

ASESOR

DR. RAUL GONZÁLEZ GARCÍA

ASESOR

PROYECTO REALIZADO EN:

Laboratorio de Ingeniería en Alimentos-CIEP de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. San Luis Potosí, México.

AGRADECIMIENTOS:

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico otorgado a través de la beca número 454631/275687 brindada para la realización de mis estudios de maestría.

El programa de Maestría o Doctorado en Ciencia en Bioprocesos de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACyT, registro 000590, en el Nivel Consolidado. Número de registro de la beca otorgada por CONACyT: 275687.

Agradecimientos Académicos

A mi director de tesis, el Dr. Miguel Angel Ruiz Cabrera por depositar en mí la confianza para llevar a cabo este proyecto, por el tiempo y las atenciones brindadas, por toda la paciencia, consejos y apoyo incondicional, por compartir sus conocimientos y transmitirme el gusto e interés por este proyecto y de manera especial por ayudarme a crecer profesionalmente y como persona.

A mi asesora, la Dra. Alicia Grajales Lagunes por estar al pendiente en todo momento, por brindarme su tiempo y apoyo incondicional, por motivarme y siempre tener un comentario positivo, por compartir sus experiencias y darme buenas críticas y consejos.

A mi asesor, el Dr. Mario Moscosa Santillán por el tiempo y la confianza para realizar la parte experimental en su equipo de secado, por todo el apoyo y el conocimiento que me compartió durante mi tiempo en la maestría.

A mi asesor, el Dr. Raul González García por sus valiosas aportaciones y atenciones para el enriquecimiento del proyecto.

A los doctores David Pérez, Jorge Ramírez, Alejandro Rocha, Claudia Álvarez y Fidel Martínez por su apoyo y consejos durante mi tiempo en la universidad y el posgrado.

A la UASLP, mi *alma mater* por el orgullo de pertenecer a una institución con una excelente formación académica y humana.

Agradecimientos Personales

A mi mamá Yolanda, a mi hermano Alban, mi ahijada Luna y mi cuñada Selene; por creer y confiar en mí, por ser el motor de mi vida y mi más grande motivación para seguir creciendo profesionalmente y como persona, por el apoyo incondicional, paciencia y por todas sus enseñanzas a lo largo de este proceso. Tienen toda mi admiración, respeto y amor.

A mi familia, por estar en todo momento y confiar en mí, por todo el cariño y motivación que me han dado y de manera muy especial a mi tía Cindy por apoyarme y siempre darme las mejores palabras, consejos y apoyo.

A mis amigos: Tapia, Erika, Alejandra, Salvador, Gaby, Miriam, Paola, Cristian, Paulina, Valeria, Gisell, Carlos, Esther, Nallely, Avilés, Mayra, Fernanda, Isamar, Lily, Mauricio, Julissa, Estefy, Martha, Jonathan, Areli, Caro, Liz, Victor y Dalhia, por todo el cariño, apoyo y confianza que me han dado. Porque nunca me han dejado solo y por los buenos momentos.

A mis compañeros y amigos de la maestría, Cecy, Lily, Salvador, Alejandra y Janin, por todo el apoyo en esta etapa de mi vida, por sus comentarios y aportaciones y por todos los buenos momentos que compartimos. De manera especial a Amneris, por su paciencia, amistad y apoyo en toda mi tesis, lo logramos amiga.

A las maestras y maestros de planta piloto: Alicia, Cuquis, Lorena, Andrés, Harold y Gloria, por la oportunidad que me dieron de formar parte de su equipo de trabajo, por su paciencia y apoyo todo el tiempo que requerí para la finalización de este proyecto.

A mis alumnos, de quienes he aprendido mucho, quienes me han dado la confianza y la oportunidad de compartir mis pocos conocimientos y me han permitido crecer profesionalmente.

A mis amigos de Canadá: Jeanne, Sara, Jean-Yan, Chad, Katy, Chlowiie, Hiroki, Ahmed, Kanako, Mariel, Cecy, Karo, Shanty, Pavel, Yuji, Bouba, Karine, Yoko, Lidia, Asuka y Alida. Por mostrarme que grandes personas pueden encontrarse en todo el mundo.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS	I
ÍNDICE DE FIGURAS	III
RESUMEN	VI
ABSTRACT	VII
1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	1
1.1. Fructanos	1
1.1.1. Clasificación y estructura	1
1.1.2. Propiedades y aplicaciones de fructanos	3
1.2. Fuentes de obtención	5
1.2.1. Nuevas fuentes de aprovechamiento en la obtención de fructanos	5
1.2.2. <i>Agave salmiana</i>	6
1.3. Métodos para la obtención de fructanos	7
1.3.1. Extracción de fructanos en plantas de agave	8
1.3.2. Obtención de fructanos en polvo	9
1.3.2.1. Estado amorfo o vítreo	9
1.3.2.2. Temperatura de transición vítrea	11
1.3.2.3. Caracterización de la transición vítrea mediante DSC	12
1.3.2.4. Aplicación del concepto de estado vítreo en el desarrollo de alimentos en polvo	15
1.3.3. Secado convencional	16
1.3.4. Liofilización	16
1.3.5. Secado por aspersion	17
1.3.5.1. Problemáticas durante el secado de fructanos	18
1.3.5.2. Agentes acarreadores	19
1.3.5.3. Métodos para la reducción de la pegajosidad en secado por aspersion	19

1.4. Nanofiltración (NF)	20
1.4.1. Comparativa de NF con otros métodos de filtrado	22
1.4.2. Membranas y diseño de procesos	23
1.4.2.1. Saturación de la membrana	23
1.4.2.2. Aplicación frontal de la presión en NF	24
1.4.2.3. Aplicación tangencial de la presión en NF	25
1.4.3. Modos de operación en nanofiltración	26
1.4.3.1. NF en modo recirculación	26
1.4.3.2. NF en modo concentración	27
1.4.3.3. NF en modo diafiltración	28
1.4.4. Aplicación de la nanofiltración en jugo de agave	29
1.5. Justificación del presente estudio	31
1.6. Hipótesis	31
2. OBJETIVOS	32
2.1. Objetivo general	32
2.2. Objetivos particulares	32
3. MATERIALES Y MÉTODOS	33
3.1. Materia Prima	33
3.2. Experimentos de nanofiltración	33
3.3. Experimentos de secado por aspersión	35
3.3.1. Rendimiento del polvo durante el proceso	37
3.3.2. Evaluación del contenido de humedad en polvo	38
3.4. Determinación del grado de pureza de fructanos en polvo	38
3.5. Determinación de temperatura de transición vítrea (Tg) en muestras anhidras	39
3.6. Análisis de datos	40
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
4.1. Nanofiltración de jugo de <i>Agave salmiana</i>	42
4.2. Obtención de fructanos en polvo mediante secado por aspersión	43
4.2.1. Rendimiento del proceso de secado	44

4.2.2. Rendimiento global de fructanos en polvo	47
4.2.3. Contenido de humedad	51
4.3. Grado de pureza de fructanos nanofiltrados en polvo	54
4.4. T _g de fructanos de <i>Agave salmiana</i>	59
5. CONCLUSIONES	65
6. REFERENCIAS	67

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1.	Propiedades funcionales de la inulina y sus derivados.	4
Tabla 1.2.	Contenido de fructanos en base seca de diferentes vegetales.	5
Tabla 1.3.	Importancia relativa de los fenómenos de transporte que se producen en la filtración tangencial para los diferentes tipos de filtrado.	26
Tabla 3.1.	Valores del factor de dilución (n) para cada modo de nanofiltración.	35
Tabla 3.2.	Diseño experimental rotatable para el secado de fructanos de <i>Agave salmiana</i> .	37
Tabla 4.1.	Resultados experimentales (Rendimiento de proceso, rendimiento global, % humedad, % pureza y temperatura de transición vítrea (T_g)) obtenidos en las muestras de polvo de fructanos de jugo de <i>Agave salmiana</i> nanofiltrado y secado por aspersión.	41
Tabla 4.2.	Análisis de varianza (ANOVA) y coeficientes de regresión del modelo estadístico para recuperación de polvo de fructanos en el proceso de secado por aspersión.	46
Tabla 4.3.	Análisis de varianza (ANOVA) y coeficientes de regresión del modelo estadístico para rendimiento global de fructanos por litro de jugo de <i>Agave salmiana</i> procesado.	49

Tabla 4.4.	Análisis de varianza (ANOVA) y coeficientes de regresión del modelo estadístico para % de humedad de fructanos en polvo nanofiltrados de <i>Agave salmiana</i> .	52
Tabla 4.5.	Análisis de varianza (ANOVA) y coeficientes de regresión del modelo estadístico para pureza de fructanos en polvo nanofiltrados de <i>Agave salmiana</i> .	57
Tabla 4.6	Análisis de varianza (ANOVA) y coeficientes de regresión del modelo estadístico para temperatura de transición vítrea de enfriamiento (T_{gC}) de fructanos en estado anhidro de <i>Agave salmiana</i> .	62
Tabla 4.7.	Análisis de varianza (ANOVA) y coeficientes de regresión del modelo estadístico para temperatura de transición vítrea de calentamiento (T_{gH}) de fructanos en estado anhidro de <i>Agave salmiana</i> .	63

ÍNDICE DE FIGURAS

1.1.	Estructura de fructanos presentes en la naturaleza. a) Fructano tipo inulina, b) Fructano tipo inulina neo-serie c) Fructanos tipo levano d) Fructano tipo graminano.	2
1.2.	Fructanos presentes en <i>Agave tequilana</i> Weber var. Azul a) Fructanos tipo graminano, b) Fructano tipo agavina.	3
1.3.	Agave mezcalero potosino (<i>Agave salmiana</i>).	7
1.4.	Perfil de carbohidratos en diferentes fracciones de <i>Agave salmiana</i> (cuantificación mediante HPLC).	8
1.5.	Representación esquemática de una estructura cristalina, gaseosa y amorfa. De acuerdo con algunos modelos, un sólido amorfo tiene distintas regiones (α y β) los cuales tienen diferentes densidades y diferentes comportamientos de relajación estructural.	10
1.6.	Representación esquemática de un termograma obtenido por calorimetría diferencial de barrido (DSC).	14
1.7.	Comparativa de distintos métodos de filtrado en función de su capacidad de separación.	22
1.8.	Diagrama de proceso de nanofiltración en modo recirculación.	26
1.9.	Diagrama de proceso de nanofiltración en modo concentración.	27
1.10.	Diagrama de proceso de nanofiltración en modo diafiltración.	28

3.1	Diagrama esquemático del sistema de nanofiltración: (1) compresor de aire, (2) válvula de presión, (3) sensor de presión, (4) célula de agitación, (5) membrana de separación, (6) placa de agitación magnética, (7) colector de permeado, (8) balanza electrónica.	34
3.2	Representación esquemática del proceso de secado por aspersion. 1) Entrada de aire, 2) Calefacción eléctrica, 3) Tobera de dos componentes con sistema de depresión, 4) Cámara de secado, 5) Ciclón de separación, 6) Colector de polvos, 7) Filtro de salida, 8) Aspirador de la corriente de aire húmedo.	36
3.3.	Protocolo calorimétrico para la formación de estructuras amorfas a partir de fructanos de <i>Agave salmiana</i> en polvo y determinación de T_g .	39
4.1.	Variación en la retención de fructanos en jugo de agave nanofiltrado en función del factor de dilución.	42
4.2.	Formación de residuos sobre la membrana de nanofiltrado en distintos modos de operación A) NF a $n = -2$ (VRF = 4); B) NF a $n = 2$ (VDF = 4).	43
4.3.	Polvo de fructanos obtenido en secado por aspersion y NF de jugo de <i>Agave salmiana</i> operado con: A) $n = 2$ (VDF = 4); B) $n = 0$ (VDF = 1); y C) $n = -2$ (VRF = 4).	44
4.4.	Variación del rendimiento de proceso en función de la temperatura de secado y el factor de dilución en nanofiltración para el secado de jugo de <i>Agave salmiana</i> .	47

4.5.	Variación del rendimiento global de fructanos en polvo en función de la temperatura de secado y el factor de dilución en nanofiltración para el secado de jugo de <i>Agave salmiana</i> .	50
4.6.	Variación del contenido de humedad de fructanos en polvo en función de la temperatura de secado y el factor de dilución en nanofiltración para el secado de jugo de <i>Agave salmiana</i> .	53
4.7.	Tiempos de retención de azúcares presentes en jugo de <i>Agave salmiana</i> (FOS=Fructooligosacáridos, S=Sacarosa, U=desconocido, G=Glucosa, F=Fructosa).	54
4.8.	Cromatogramas para la determinación cualitativa y cuantitativa de fructanos de <i>Agave salmiana</i> A) jugo de agave crudo, B) fructanos de agave obtenido en NF-diafiltración (n = 2, T _{secado} = 170 °C), B) fructanos de agave obtenido en NF-concentración (n = -2, T _{secado} = 170 °C).	55
4.9.	Variación del porcentaje de pureza de fructanos en polvo en función de la temperatura de secado y el factor de dilución en nanofiltración para el secado de jugo de <i>Agave salmiana</i> .	58
4.10.	Termogramas para la determinación de T _g en fructanos de <i>Agave salmiana</i> nanofiltrados A) n = -2(VRF = 4), B) n = 0 (VDF = 1), B) n = 2 (VDF = 4).	60
4.11.	Temperatura de transición vítrea de fructanos de <i>Agave salmiana</i> en función de la temperatura de secado y el factor de dilución en nanofiltración.	64

RESUMEN

Los fructanos extraídos del agave son de interés en la industria alimentaria debido a sus características nutricionales y funcionales comparables a los fructanos de achicoria; por ello, existe una tendencia creciente en el uso del agave como materia prima para la obtención de fructanos purificados. En nuestro laboratorio, fue obtenido jugo de *Agave salmiana* crudo a partir del tallo de la planta utilizando un molino y equipo expeller seguido de procesos de clarificación y secado por aspersión para obtener fructanos en polvo. Fue encontrado que las impurezas en el jugo de *Agave salmiana* (principalmente sacarosa, fructosa y glucosa) causaron adherencia a las paredes del secador por aspersión y bajos rendimientos. La nanofiltración (NF) es una tecnología propuesta para eliminar las impurezas a fin de disminuir el problema de pegajosidad en el secado evitando el uso de agentes acarreadores y aumentando la pureza de los fructanos. En este estudio, fue seleccionada una combinación de NF y secado por aspersión para la obtención de fructanos purificados a partir de *Agave salmiana*. Los experimentos de NF fueron realizados con una presión constante de 0.35 MPa operados en modo NF-concentración y modo NF-diafiltración utilizando un modelo matemático para ajustar ambas modalidades a una variable única denominada factor de dilución (n) que varió desde -2 (factor de reducción de volumen inicial ó VRF = 4) hasta 2 (factor de dilución del volumen inicial ó VDF = 4). El retentado obtenido fue secado por aspersión en un equipo Büchi mini spray dryer B-290 con una presión de aire de 0.15 MPa, alimentación de 7.5 mL/min y aire de entrada de 160 a 180°C. Los resultados mostraron que el contenido de fructanos en el polvo fue en la mayoría de los casos mayor al 90% con una pureza máxima de 99.1%, todos los polvos mostraron bajas humedades (< 5.67%) y el más alto rendimiento en polvo (75.1%) fue alcanzado con jugo tratado en NF-diafiltración. También fue establecido mediante el modelo matemático ajustado que la mayor obtención de fructanos en polvo ($87.07 \text{ g}_{\text{fructanos}}/\text{L}_{\text{jugo agave crudo}}$) se logró con $n = 0.86$ (VDF = 1.82) y $T_{\text{secado}} = 168.4 \text{ }^{\circ}\text{C}$, teniendo en estas condiciones una pureza del 91.9%. Los valores promedio de T_g anhidra para las muestras de fructanos de *Agave salmiana* se encontraron entre 128.8 °C y 131.4 °C, sin diferencia estadísticamente significativa entre la T_g de los distintos polvos, estos valores son consistentes con los reportados para inulina de achicoria (120 °C) y fructanos de *Agave tequilana* (entre 119.8 y 131.3 °C).

ABSTRACT

Fructans extracted from agave plants, have received considerable interest as ingredients in the food industry because their nutritional and functional characteristics are comparable to the chicory fructans. So, there is an increasing interest in the large-scale processing of agave plants as a raw material for obtaining purified fructans. In our laboratory, the crude juice production from crushed *Agave salmiana* stem using mill and expeller equipment followed by clarification and spray drying processes was proposed to obtain powdered fructans. It was found that impurities in the clarified and microfiltered *Agave salmiana* juice (sucrose, fructose, and glucose) causing stickiness to the walls of the spray dryer and low yields. Therefore, nanofiltration (NF) is a technology proposed to remove these low molecular weight sugars in order to diminish the problem of sticking in spray drying avoiding the use of carrier agents and increase the purity of the fructans. For this study, a combination of NF and spray drying was selected for obtaining purified fructans from *Agave salmiana*. NF experiments were performed a constant pressure of 0.35 MP operated in NF-concentration mode and NF-diafiltration mode using a mathematical model to adjust both modalities to a single variable called dilution factor (n) which ranged from -2 (reduction factor of the initial volume or VRF = 4) to 2 (dilution factor of the initial volume or VDF = 4). The retentate obtained was dried in a Büchi mini spray dryer B-290 equipment with an air pressure of 0.15 MPa, feed flow rate of 7.5 mL/min and inlet air temperature of 160 to 180°C. The results showed that fructan content of powder in most cases was higher than 90% with a highest purity of 99.1%, all powders showed low humidity (< 5.67%) and the highest powder yield (75.1%) were reached with juice treated in NF-diafiltration mode. Also, it was established by the adjusted mathematical model that most fructan poder obtaining ($87.07 \text{ g}_{\text{fructans}}/\text{L}_{\text{agave raw juice}}$) is achieved with $n = 0.86$ ($\text{VDF} = 1.82$) y $T_{\text{drying}} = 168.4 \text{ }^\circ\text{C}$, having under this conditions a purity of 91.9%. The average values of T_g in the anhydrous *Agave salmiana* fructans samples were between 128.8 °C and 131.4 °C, without statistically significant difference between the T_g of the different powders, these values are consistent with those reported for chicory inulin (120 °C) and *Agave tequilana* fructans (between 119.8 and 131.3 °C).

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1. Fructanos

Los fructanos son polímeros de fructosa unidos estructuralmente por enlaces glicosídicos fructosa-fructosa que generalmente poseen una glucosa terminal en sus cadenas o incluso glucosas intermediarias dentro de las mismas. Cuando estos presentan en su estructura de 2 a 10 moléculas de fructosa (grado de polimerización ó DP 2 a 10), son denominados fructooligosacáridos (FOS), mientras que estructuras con DP superiores a 10 moléculas se conocen simplemente como fructanos [Olvera *et al.*, 2007]. Estos polímeros (fructanos y FOS), son parte de la reserva de energía de una amplia variedad de plantas como la cebolla, el ajo, la achicoria, la alcachofa, la dalia y plantas de agave. Ha sido establecido que alrededor del 15% de especies de angiospermas almacenan fructanos, por lo que constituyen el segundo polisacárido de reserva más abundante después del almidón. Las familias con especies que almacenan algún tipo de fructano son: *Liliaceae*, *Asteraceae*, *Poaceae*, *Agavaceae* y *Amaryllidaceae*. Se sabe que las cadenas de fructanos derivados de plantas no suelen exceder las 150 unidades monoméricas (DP < 150), mientras que fructanos derivados de fuentes microbianas pueden llegar a DP alrededor de 100 000 unidades [Arkel *et al.*, 2010].

1.1.1. Clasificación y estructura

Debido a que los fructanos son uno de los polisacáridos más abundantes en la naturaleza, estos pueden presentar diversas estructuras. En la literatura, los fructanos han sido clasificados en función del tipo de enlaces que poseen y la posición de glucosas presentes en su composición. Existen 6 grupos diferentes de fructanos, denominados inulina, inulina neo-serie, levanos, levanos neo-serie, graminanos y agavinas [López *et al.*, 2003; Marcilla-Margalli & López, 2006; González Díaz *et al.*, 2006]. Cada tipo de fructano es obtenido de diversas fuentes y presentan estructuras y características diferentes entre sí (Figura 1.1).

Los fructanos tipo inulina consisten en cadenas lineales de fructosa (F) unidas a través de enlaces β -(2→1), presentando una molécula de glucosa (G) terminal en su estructura.

Además, las inulinas neo-serie se caracterizan por poseer glucosas intermediarias en la estructura del fructano enlazadas mediante el carbono 1 de la fructosa y el carbono 6 de la glucosa. La molécula de inulina más pequeña es un trisacárido conocido como 1-kestosa (G-F-F), si la estructura muestra un orden de tipo fructosa-glucosa-fructosa (F-G-F) se considera una inulina neo-serie denominada neokestosa.

Los levanos tienen una estructura lineal en la cual las unidades de fructosa presentan enlaces β -(2 \rightarrow 6) y tienen una molécula de glucosa terminal como las inulinas. Los levanos neo-serie son caracterizados por poseer moléculas de glucosa intermediarias a la estructura de fructosas. Finalmente, los fructanos tipo graminano presentan en su estructura una molécula de glucosa terminal y enlaces tipo β -(2 \rightarrow 1) y β -(2 \rightarrow 6) entre las unidades de fructosa conformando una configuración de tipo ramificada, la unidad más pequeña de graminano se denomina 1-6-kestotetraosa o bifrucosa (G-F-F-F).

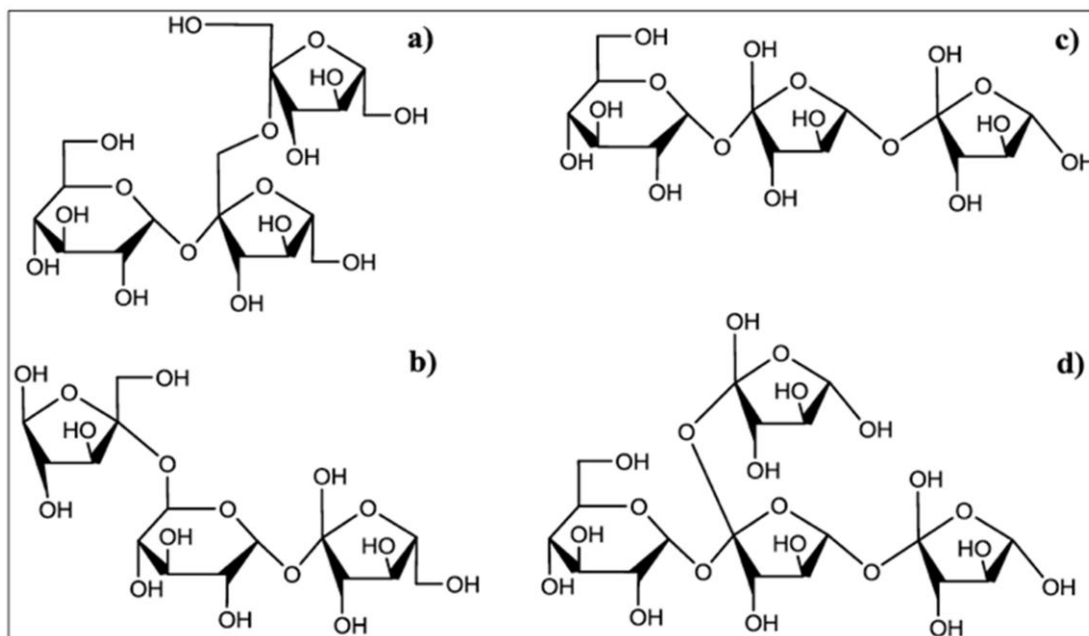


Figura 1.1. Estructura de fructanos presentes en la naturaleza. a) Fructano tipo inulina, b) Fructano tipo inulina neo-serie c) Fructanos tipo levano d) Fructano tipo graminano [Huazano, 2009].

En el caso de las especies de agave, se observan diferencias estructurales en sus fructanos. Estudios recientes indican que el uso de técnicas como la cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas (GC-MS), así como el uso de espectrometría de masas con

láser a desorción/ionización, asistida por una matriz acoplada a un detector de iones por tiempo de vuelo (MALDI-TOF-MS), han demostrado que los fructanos presentes en *Agave tequilana* Weber var. Azul están compuestos por una estructura compleja de tipo graminano y graminano neo-serie. Estos fructanos de agave han sido denominados de manera general como *Agavinas*, los graminanos y las agavinas tienen enlaces β -(2 \rightarrow 1) y β -(2 \rightarrow 6), con un alto nivel de ramificación como se observa en la Figura 1.2 [López *et al.*, 2005; Marcilla-Margalli & López, 2006; Huazano, 2006]. En lo que respecta al *Agave salmiana*, no existen aún estudios científicos que caractericen estructuralmente los fructanos presentes en esta planta.

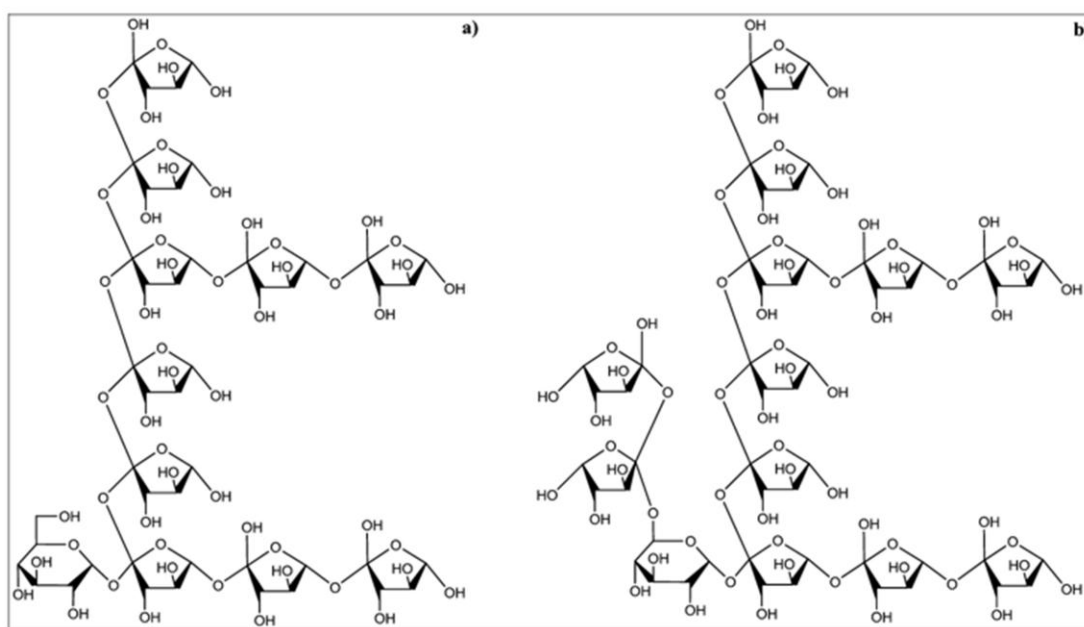


Figura 1.2. Fructanos presentes en *Agave tequilana* Weber var. Azul a) Fructanos tipo graminano, b) Fructano tipo agavina [Huazano, 2006].

1.1.2. Propiedades y aplicaciones de fructanos

Los fructanos poseen diversas propiedades de interés; son solubles en agua y de carácter no reductor. Se destaca además que son carbohidratos naturales no digeribles que afectan beneficiosamente la salud del consumidor mediante la estimulación selectiva del crecimiento y/o actividad de bacterias benéficas en el colon (bacterias probióticas), como son el género *Bifidobacteria* y *Lactobacillus* [Gibson & Roberfroid, 1995; Huebner *et al.*, 2007]. Estos polisacáridos presentan además un valor calórico bajo situado entre 1.60 y 2.71 kcal/g [Cousement, 1999; Ninness, 1999; Deis, 2001; Murphy, 2001] y actúa como

fibra dietética con un índice glucémico estimado en cero para la inulina [Niness, 1999; Deis, 2001; Tunland & Meyer, 2002]. Los fructanos han sido asociados a la disminución de glucosa en la sangre, efecto antioxidante, regulación química de lípidos y ofrecen efectos inmunomodulatorios, esto deriva de la metabolización de ácidos grasos de cadena corta producidos durante la fermentación de fructanos en el colon. [Davidson & Maki, 1999; Waltz *et al.*, 2005; Dahech *et al.*, 2013].

De manera adicional, la inulina y sus derivados ofrecen muchos usos como ingredientes en la formulación de diversos productos (Tabla 1.1). Los fructanos tiene propiedades similares a las del almidón, mientras que los FOS tienen propiedades similares a la sacarosa [Roberfroid, 2002]. La inulina mejora la aceptabilidad de yogurt hecho con leche descremada, impartiendo mayor cremosidad; también actúa como un agente espesante y estabilización de geles acuosos [Kip *et al.*, 2006]. Permite la formación de geles mediante efecto mecánico o térmico. Los geles obtenidos mediante el segundo método presentan mejoras en la textura y firmeza del alimento [Kim *et al.*, 2001]. La capacidad de formación de geles de estos compuestos es crítico para su uso como sustituto de grasa en productos lácteos, pastas para untar, aderezos, salsas y otros productos en los que las propiedades funcionales que da la grasa son esenciales para lograr los efectos sensoriales deseados por los consumidores en alimentos de tipo cárnico o lácteo [Niness, 1999; Hennelly *et al.*, 2006; Ávila-Fernández *et al.*, 2011].

Tabla 1.1. Propiedades funcionales de la inulina y sus derivados [Franck, 2002].

Aplicación	Funcionalidad
Productos lácteos	Cuerpo y palatabilidad, habilidad de formar geles, emulsificante, sustituto de grasas y azúcares, sinergia con edulcorantes.
Postres congelados	Textura, disminución del punto de congelación, sustituto de grasas y azúcares, sinergismo con edulcorantes.
Productos untables	Estabilidad de la emulsión, textura y sustituto de grasas.
Productos horneados	Disminución en la actividad de agua (a_w), sustituto de azúcares.
Cereales para el desayuno	Crocancia, capacidad de expansión.
Preparado con frutas (no cítricos)	Cuerpo y palatabilidad, habilidad para formación de geles, estabilidad de la emulsión, sustituto de grasas y azúcares, sinergia con edulcorantes.
Aderezos para ensaladas	Cuerpo y palatabilidad en boca, sustituto de grasas.
Productos cárnicos	Textura, estabilidad de la emulsión, sustituto de grasas.

1.2. Fuentes de obtención

En plantas, alrededor del 15% de las especies contienen fructanos, estos polímeros son parte de la reserva energética y facilitan la estabilidad de los organismos ante cambios bruscos de temperatura. Diversos vegetales, como la cebolla, el ajo y el agave poseen un alto contenido de estos polisacáridos (Tabla 1.2); la achicoria (*Cichorium intybus*), la patata (*Helianthus tuberosus*) y los tubérculos de dalia (*Dahlia variabilis*) son las fuentes de fructanos tipo inulina más explotados en la industria alimentaria, donde son aprovechadas sus propiedades funcionales y sus beneficios a la salud [Marcilla-Margalli & López, 2006].

Tabla 1.2. Contenido de fructanos en base seca de diferentes vegetales [Bautista-Justo et. al., 2001].

Fuente	Contenido fructanos (g/100g Base seca)
Patata (<i>Helianthus tuberosus</i>)	89
Achicoria (<i>Chichorium intybus</i>)	79
Tubérculos de Dalia (<i>Dahlia spp.</i>)	59
Cebolla (<i>Allium cepa</i>)	48
Ajo (<i>Allium sativum</i>)	29
Yacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i>)	27
Maguey tequilero (<i>Agave tequilana</i>)	73
Maguey mezcalero (<i>Agave salmiana</i>)	69

1.2.1. Nuevas fuentes de aprovechamiento en la obtención de fructanos

Como se ha indicado, los fructanos tipo inulina de la achicoria y tubérculos de dalia han sido los más desarrollados y utilizados en una diversa variedad de productos, particularmente como fibra dietética [Roberfroid, 2000; Roberfroid, 2005; Wack & Blaschek, 2006]. Sin embargo, ha sido propuesto el uso de nuevas fuentes de aprovechamiento de estos compuestos a fin de minimizar la sobreexplotación de productos agrícolas con capacidad limitada de crecimiento; así mismo, se ha planteado el uso de plantas endógenas a zonas desérticas que pueden ser fuentes potenciales para la obtención de fructanos de diversos tipos.

Una nueva fuente para el aprovechamiento de los fructanos son las plantas del género *Agave*, este género incluye alrededor de 200 especies, 75% de ellas distribuidas en México. En las plantas de *Agave*, los fructanos representan más del 60% de los hidratos de carbono solubles totales que son sintetizados y almacenados en la cabeza y tallo de la planta [Kip *et al.*, 2006; Ávila-Fernández *et al.*, 2011; Wang & Nobel, 1998]. Los fructanos de *Agave* fungen como reservas de carbohidratos, con diversas implicaciones fisiológicas dentro de la planta, como osmo-protección durante periodos de sequía o frío extremo [Ritsema & Smeekensm, 2003; Olvera *et al.*, 2015]. La presencia de fructanos en agave fue reportada desde el siglo XIX, donde se han detectado estructuras de graminanos y *Agavinas* [López *et al.*, 2005]. El uso principal de los fructanos de *Agave* ha sido la obtención de azúcares fermentables para la fabricación de bebidas alcohólicas. Actualmente, la especie de agave más conocida y de importancia económica en México es *Agave tequilana* Weber azul, especie utilizada para la producción de tequila en el estado de Jalisco [Iñiguez-Covarrubias *et al.*, 2001]. En la región central del país, específicamente en el altiplano de San Luis Potosí y Zacatecas se distribuye en forma cultivada y silvestre el *Agave salmiana*, el cual es principalmente utilizado para la producción de mezcal [Aguirre *et al.*, 2001].

1.2.2. *Agave salmiana*

En este contexto, existe un interés creciente en el procesamiento a gran escala del agave como materia prima para la obtención de fructanos purificados. El maguey mezcalero potosino (*A. salmiana*) (Figura 1.3), es un recurso natural renovable distribuido en el altiplano de los estados de San Luis Potosí y Zacatecas.

Este maguey se encuentra de manera silvestre y su recolección y aprovechamiento actual se destina principalmente para la producción de mezcal y forraje [Carrillo, 2007; Gómez *et al.*, 2009]. En el estado de San Luis Potosí, el *Agave salmiana* se encuentra entre los 1000 a 2250 metros sobre el nivel del mar (msnm), en climas que van de semisecos a secos, con precipitación de 320-720 mm y temperaturas medias anuales de 16 a 22 °C. El sustrato óptimo para su desarrollo es de origen ígneo, somero o moderadamente profundo. Puede encontrarse en el matorral desértico micrófilo, matorral desértico crasicaule y pastizales [Aguirre *et al.*, 2001].



Figura 1.3. Agave mezcalero potosino (*Agave salmiana*)

1.3. Métodos para la obtención de fructanos

El procedimiento convencional para obtener los fructanos de vegetales tales como achicoria y la alcachofa de Jerusalén implica la extracción mediante agua hirviendo seguido por filtración y procesos de secado [Niness, 1999; Ritsema & Smeekensm, 2003]. La extracción de inulina a partir de las raíces de achicoria, debe ser seguida por la purificación convencionalmente incluyendo la depuración y refinado (es decir tratamiento que involucra intercambiadores iónicos, tratamiento con carbón activado y filtración), opcionalmente seguido por el fraccionamiento y aislamiento en forma de partículas de la inulina obtenida, esto constituye el método de fabricación más importante de inulina a escala industrial. El rendimiento del producto obtenido depende de la disponibilidad de las raíces de achicoria, el contenido de inulina en las raíces y la adaptabilidad de las raíces para el procesamiento a gran escala. Las técnicas de fabricación comúnmente usadas dan buenos rendimientos y productos con purezas en fructanos de alrededor del 80% w/w [Zuleta & Sambucetti, 2001].

La extracción de fructanos de agave triturado con agua caliente (70-80 °C) a nivel de laboratorio ha sido propuesta en la literatura [Hennelly *et al.*, 2006; García-Mendoza, 2007]. Sin embargo, las condiciones de extracción acuosa, tales como alta temperatura,

bajo pH (5.3) y un tiempo prolongado de proceso (superiores a 1 h) podría ser muy favorable para la hidrólisis térmica de los fructanos [Kip *et al.*, 2006]. Por otro lado, el proceso anterior es adecuado para pequeñas cantidades de materia prima, mientras que las cabezas de agave generalmente se cosechan cuando han alcanzado su plena madurez alrededor de 7-9 años de edad y poseen pesos entre 25-45 kilogramos, siendo su procesamiento difícil mediante este método [Kip *et al.*, 2006; Wang & Nobel, 1998].

1.3.1. Extracción de fructanos en plantas de agave

Para la extracción de los fructanos en estas plantas, ha sido propuesto el procesamiento de las distintas fracciones de la planta de agave. Los magueyes suelen dividirse en tres fracciones (tallo, piña y base de la hoja de la planta) extrayéndose el jugo de cada uno de estas secciones por separado utilizando un molino y equipo expeller a fin de obtener la mayor cantidad de producto. Estudios previos indican que el mayor contenido de fructanos en plantas de agave se da en el tallo de la planta (18.74 ± 2.48 g/100 mL) Mientras que el menor contenido puede encontrarse en la base de las hojas (8.61 ± 3.09 g/100 mL) todos ellos con contenidos residuales de fructosa, glucosa y sacarosa (Figura 1.4) [Moreno-Vilet *et. al.*, 2010].

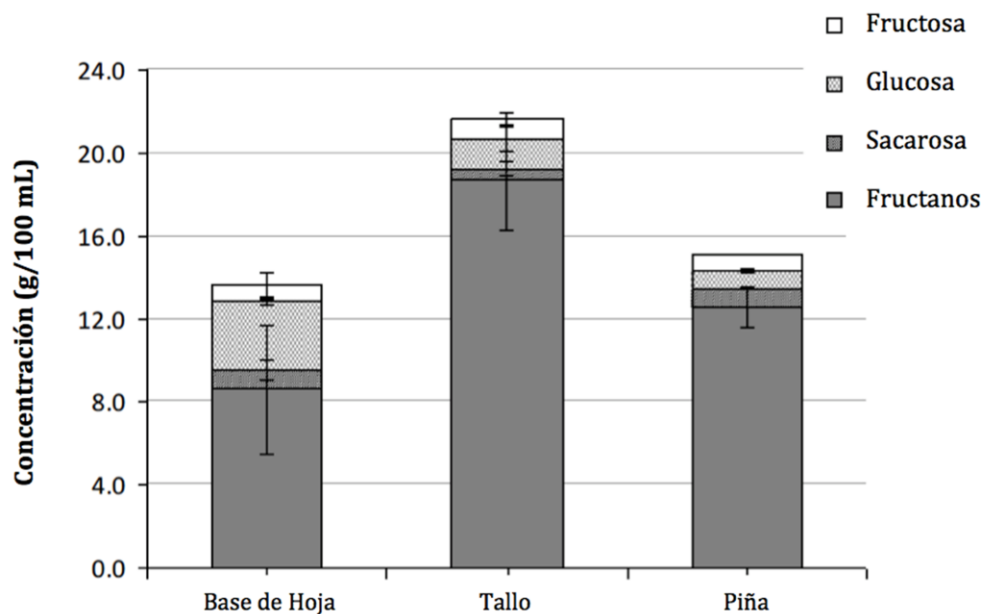


Figura 1.4. Perfil de carbohidratos en diferentes fracciones de *Agave salmiana* (cuantificación mediante HPLC) [Moreno-Vilet *et. al.*, 2010].

El zumo obtenido debe ser filtrado varias veces para eliminar fibras y otros residuos a fin de lograr muestras con alto contenido de fructanos. Las filtraciones se llevan a cabo por medio de un filtro prensa y papel filtro de celulosa blanqueada con diámetros de poro que van de las 22 a las 4 micras mezclando el jugo con tierra de diatomeas 1% (*Celite*) como ayuda filtro. Además, debido a que el jugo de agave contiene glúcidos de esteroides conocidos como saponinas, componentes indeseados debido a su potencial toxicidad, el jugo debe tratarse con calor a 50 °C durante 60 min en un baño de agua con agitación continua, esto permite la inactivación de las saponinas al romper los anillos esterolémicos que las componen y se obtiene jugo de agave rico en fructanos [Herrera *et al.*, 2007].

1.3.2. Obtención de fructanos en polvo

Para el mayor aprovechamiento de los fructanos de agave, ha sido propuesto el desarrollo de productos en polvo. La producción de bases en polvo con alto contenido de fructanos puede plantear una alternativa hacia un mejor uso del agave, creando así una nueva gama de productos. Los fructanos en forma de polvo pueden generar ventajas importantes tales como fácil aplicación, mezclado, transporte y un aumento en la vida útil del producto [Iñiguez-Covarrubias *et al.*, 2001; Carrillo, 2007; Moreno-Vilet *et al.*, 2010]. Por sus características poliméricas, los fructanos en polvo suelen considerarse como matrices en estado amorfo o vítreo; no obstante, debido a que los productos en polvo poseen un bajo contenido de agua, deben ser tratados en función del estado físico en que se encuentran y su potencial estabilidad ante cambios de temperatura y humedad. Los procesos de secado utilizados para la obtención de estos polvos pueden afectar el estado y las propiedades del producto final.

1.3.2.1. Estado amorfo o vítreo

El término “estado amorfo o vítreo” es utilizado para describir a una clase de materiales que exhiben fragilidad, alta resistencia física, son transparentes y presentan baja movilidad molecular. Los materiales vítreos tuvieron su auge en la ciencia de los materiales principalmente en el manejo de polímeros orgánicos e inorgánicos. Muchos productos industriales existen como sólidos amorfos, algunos ejemplos son las cerámicas, metales,

materiales ópticos (vidrios y fibras), alimentos y productos farmacéuticos [Yu, 2001].

Los primeros intentos en describir el fenómeno de vitrificación concluyeron que un material vítreo es un líquido o líquido subenfriado que ha perdido su habilidad para fluir y presenta una viscosidad que se encuentra entre 10^{12} y 10^{14} Pa.s; comportándose como un sólido con la habilidad de soportar su propio peso contra un flujo debido a la gravedad [Kasapis, 2006]. Un material con una viscosidad de 10^{14} Pa.s, podría fluir alrededor de 30 μm en un siglo, o a una velocidad de 10^{-14} m/s comparado contra una velocidad de 10 m/s a la que fluye un fluido típico newtoniano a condiciones ambientales (25 °C a 1 Atm). Lo anterior ha sido evidenciado en ventanas de vidrio muy antiguas, en donde se ha encontrado que el espesor de su base es más grueso que la parte superior debido al flujo por gravedad a la que ha estado expuesto el vidrio durante los años [Angell, 1988; Rhaman, 2010].

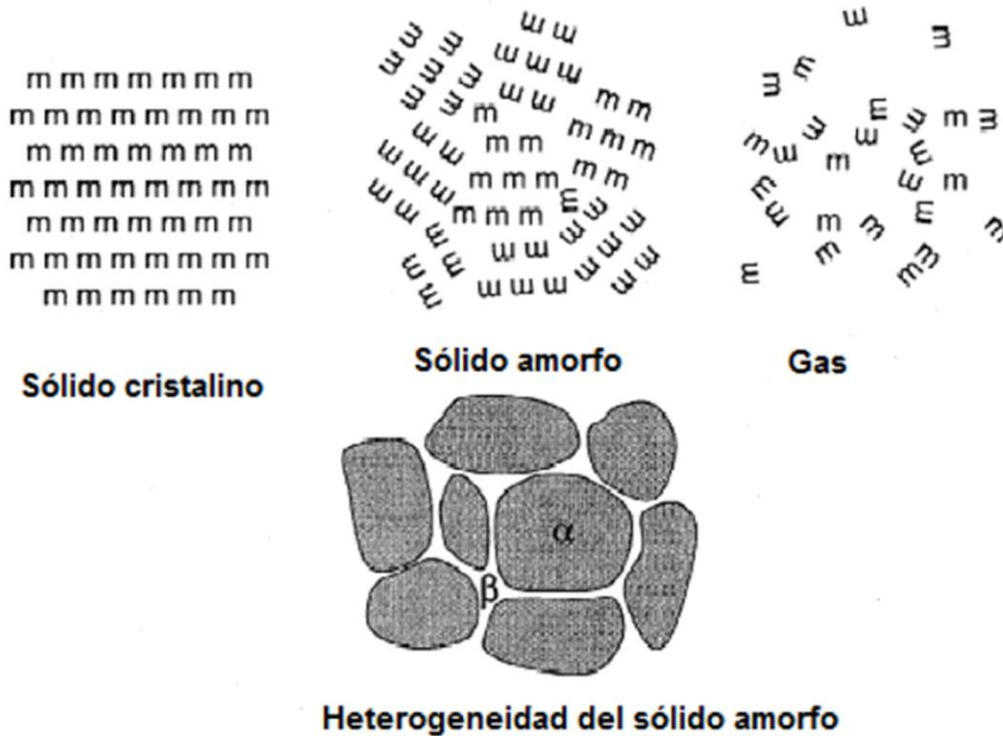


Figura 1.5. Representación esquemática de una estructura cristalina, gaseosa y amorfa. De acuerdo con algunos modelos, un sólido amorfo tiene distintas regiones (α y β) los cuales tienen diferentes densidades y diferentes comportamientos de relajación estructural [Yu, 2001].

El estado vítreo también es referido como un estado metaestable cuyas moléculas tienen una estructura desordenada y cuyo volumen del sistema es más grande que el sistema cristalino aún con la misma composición química [Roos, 1995; Slade & Levine, 1994]. La estructura de un sólido vítreo es usualmente descrita tomando como referencia la estructura de un sólido cristalino, el cual tiene un arreglo molecular bien organizado [Schenz, 1995]. A pesar de que el arreglo estructural en el sólido amorfo es desordenado en algunas zonas puede tener orden molecular de rango corto similar al de una estructura cristalina; sin embargo, el orden similar solamente se da en dimensiones moleculares y del orden de los angstroms [Liu *et al.*, 2006]. Un sólido amorfo puede tener regiones diferentes y por lo tanto microheterogeneidad con regiones de alta densidad (α) y regiones de baja densidad (β) con propiedades físicas muy distintas (Figura 1.5) las cuales han sido caracterizadas con estudios dieléctricos [Rhaman, 2010; Schenz, 1995; Liu *et al.*, 2006].

Existen varias teorías como la teoría del volumen libre, teoría cinética y teoría termodinámica para tratar de describir el estado vítreo y la transición vítrea [Genin & René, 1995; Roos, 2010]. La teoría del volumen libre ha sido la más aceptada. En esta teoría, el estado líquido puede ser asimilado desde un punto de vista microscópico como un conjunto de moléculas ligadas por enlaces energéticos débiles susceptibles de romperse a cada instante y formarse nuevamente en nuevas configuraciones. Se considera que cada molécula está enclaustrada dentro de una jaula, donde el volumen de la jaula está compuesto por el volumen propio de la molécula y por un volumen alrededor de la molécula relacionado a la geometría de la jaula, este último se denomina volumen libre. A medida que un líquido es enfriado, se observa una disminución de este volumen. Debido a que el volumen propio de la molécula es constante, es el volumen libre el que disminuye. En consecuencia, los fenómenos de difusión (rotación y traslación) disminuyen hasta ser casi inexistente cuando el volumen libre es inferior al volumen ocupado por los componentes que difunden. A partir de ese momento, se dice que se ha alcanzado el estado vítreo.

1.3.2.2. Temperatura de transición vítrea

La temperatura de transición vítrea (T_g) es el parámetro más importante de un material

amorfo. La transición vítrea es considerada como una transición de segundo orden dependiente del tiempo y temperatura entre el estado sólido-caucho y el estado sólido-vítreo (o inversamente) exhibida por una sustancia debido a un cambio de temperatura o un cambio de humedad [Rhaman, 2010; Sablani *et al.*, 2010]. La temperatura a la cual el sistema experimenta esta transición se le conoce como temperatura de transición vítrea o T_g . Sin embargo, debido a la naturaleza de no equilibrio del sistema amorfo y puesto que el proceso de vitrificación puede ocurrir en un intervalo amplio de temperaturas; a la transición vítrea preferentemente se le conoce como una transición de estado, en vez de transición de fase [Kasapis, 2006; Rhaman, 2010; Liu *et al.*, 2006].

La teoría termodinámica asume que la transición vítrea es una transición de segundo orden basado en cambios observados en la capacidad calorífica y coeficientes de expansión térmica los cuales toman lugar sobre el estado vítreo. De acuerdo con esta teoría, una transición termodinámica alcanza el equilibrio cuando la entropía conformacional del sistema se hace cero a una temperatura alrededor de 50 °C por debajo de una T_g determinada experimentalmente. [Sablani *et al.*, 2010; Roos, 2010; Abiad *et al.*, 2009].

Para alimentos en estado amorfo o vítreo, las moléculas no pueden desplazarse y los fenómenos de difusión, reacciones químicas y bioquímicas están de cierta manera bloqueados. Sin embargo, en el transcurso de una transición vítrea, el material cambia a un estado denominado “caucho”, donde los fenómenos de difusión se reanudan con una velocidad elevada, provocando una degradación rápida de la calidad nutricional y organoléptica de los productos. Por lo que, a fin de asegurar la mejor calidad posible del alimento, es necesario la obtención de una matriz amorfa asegurando que la transformación será adecuada y se mantendrá el estado amorfo durante el transcurso del almacenamiento [Saavedra-Leos, 2011].

1.3.2.3. Caracterización de la transición vítrea mediante DSC

Como se ha visto, la transición vítrea es un cambio de estado asociado con un cambio considerable en la movilidad molecular y tiempo de relajación en los sólidos amorfos y la determinación de la temperatura de transición vítrea (T_g) se basa en observaciones de los

cambios en propiedades térmicas, mecánicas, dieléctricas, volumétricas y movilidad molecular [Rhaman *et al.*, 2007].

La calorimetría diferencial de barrido (DSC por sus siglas en inglés) ha sido extensivamente utilizada para la caracterización de materiales en una amplia variedad de áreas de investigación, incluyendo ciencia de alimentos, farmacología, ciencia de materiales, bioquímica, etc. esto debido a un gran número de ventajas tales como la facilidad en la preparación de la muestra, la rapidez del método, la aplicabilidad en alimentos con bajo y alto contenido de humedad y su uso en un rango amplio de temperatura [Genin & René, 1995; Lee *et al.*, 2011]. Debido a todas estas ventajas, la DSC es la técnica térmica más utilizada, representando probablemente el 70% de todas las mediciones de análisis térmico [Lee *et al.*, 2011].

La técnica DSC proporciona información cuantitativa y cualitativa de las propiedades térmicas y físicas de los materiales, como transiciones de fase, transición vítrea, entalpías de fusión/cristalización, calor específico, calor latente, polimorfismo, pureza, etc. Por ejemplo, la DSC ha sido utilizada para el estudio de la gelatinización del almidón, cristalización y fusión de polisacáridos y lípidos y para determinar la cantidad de agua no congelada en los alimentos. En DSC, tanto la muestra como la celdilla de referencia son sometidas a un flujo de calor constante, con la finalidad de mantenerlas a una misma temperatura, obteniéndose diagramas de flujo de calor en función de la temperatura denominados termogramas (Figura 1.6). Por ejemplo, el primer cambio de izquierda a derecha mostrado en la Figura 1.6 corresponde a la transición vítrea, esta se presenta como una discontinuidad en la pendiente de la curva. Conforme la muestra aumenta su temperatura, esta gana suficiente energía como para adoptar un estado ordenado cristalino y permite determinar la temperatura de cristalización (T_c). Si se continúa calentando el sistema más allá de su temperatura de cristalización, absorberá la energía necesaria para finalmente alcanzar la temperatura de fusión (T_m).

Durante un análisis DSC, el fenómeno de transición vítrea aparece como un cambio en el flujo de calor que resulta del aumento en la capacidad calorífica cuando un material se calienta por encima de su temperatura de transición vítrea. Componentes de bajo peso

molecular como el agua y azúcares simples, exhiben una transición vítrea sobre un rango de temperatura relativamente estrecho (10-20 °C), mientras que los componentes alimentarios de alto peso molecular como las proteínas y el almidón, pueden presentar un rango de temperatura superior a los 50 °C [Forsell *et al.*, 1997; Fitzpatric *et al.*, 2007]. Por otro lado, muchos alimentos son sistemas de tipo multifásico y por lo tanto no exhiben una transición vítrea global a menos de que exista una buena miscibilidad entre los componentes [Katekawa & Silva, 2007].

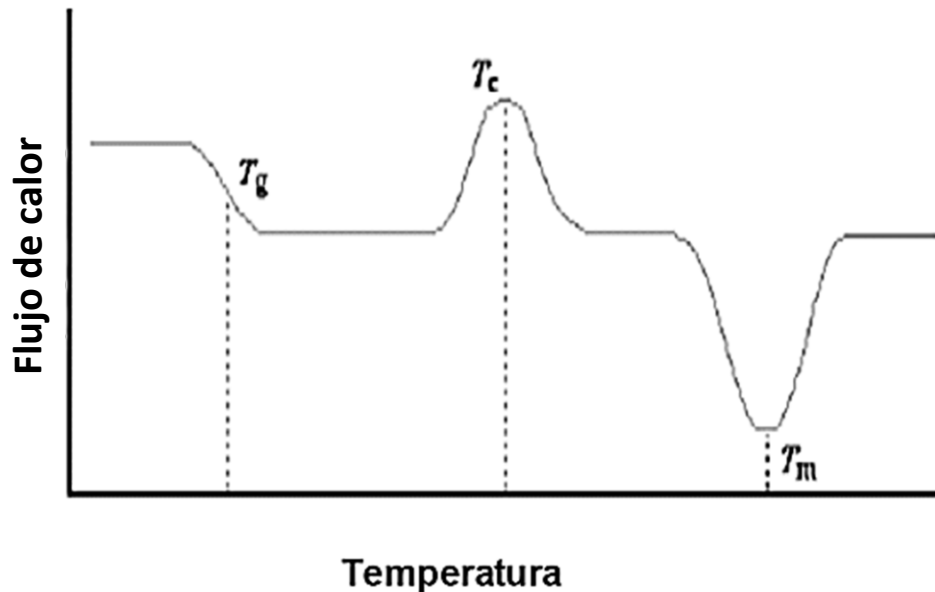


Figura 1.6. Representación esquemática de un termograma obtenido por calorimetría diferencial de barrido (DSC) [Martínez-Navarrete *et al.*, 1999].

La calorimetría diferencial de barrido modulada (MDSC) es una extensión del DSC convencional y se utiliza principalmente para la caracterización térmica de biopolímeros con eventos térmicos complejos [Sablani *et al.*, 2010; Verdonck *et al.*, 1999]. A menudo es difícil de interpretar el flujo de calor en un experimento DSC si procesos térmicos múltiples en un material multicomponente están involucrados en el mismo rango de temperatura. Puede darse el caso de que diferentes tipos de transiciones puedan traslaparse en un material de un solo componente como la fusión y re-cristalización en un material semicristalino [Verdonck *et al.*, 1999]. De esta manera el MDSC es más sensible en la detección de T_g que el DSC convencional debido a la velocidad de calentamiento producido por modulación de onda sinusoidal.

La medición de T_g en carbohidratos con DSC o MDSC, usualmente involucra su fusión seguido de un enfriamiento rápido para inducir la formación de una matriz amorfa en la cual la temperatura de transición vítrea se determina a través de un recalentamiento de la matriz amorfa creada [Roos, 1993; Liu *et al.*, 2006; Roos, 2010; Vanhal & Blond, 1999; Wungtanagorn & Schmidt, 2001; Jiang *et al.*, 2008]. Sin embargo, los valores de T_g publicados por diversos autores varían considerablemente para el mismo carbohidrato debido a un número de factores en las que se incluyen la pureza del cristal, contenido de agua residual, tiempo y método de medición, historial térmico, ocurrencia de caramelización o descomposición térmica durante la determinación de la T_g [Vanhal & Blond, 1999; Jiang *et al.*, 2008].

1.3.2.4. Aplicación del concepto de estado vítreo en el desarrollo de alimentos en polvo

El uso de conceptos aplicables a polímeros es conveniente para el estudio de procesos en la industria de los alimentos. Los conceptos de estado vítreo y transición vítrea han sido de gran importancia para explicar numerosos fenómenos como la re-cristalización de productos congelados en función del tiempo, el fenómeno de colapso durante un proceso de liofilización [Santivarangkna *et al.*, 2011] y pegado durante el almacenamiento de polvos [Foster *et al.*, 2006]. Otros fenómenos como la aglomeración, apelmazamiento, pérdida de componentes volátiles (aromáticos) y pérdida del carácter crujiente en algunos alimentos durante el almacenamiento, han sido directamente relacionados con el fenómeno de la transición vítrea [Aguilera *et al.*, 1995; Labuza & Hyman, 1998; Roudaut *et al.*, 2004]. Así también ha sido utilizado para la comprensión de algunos procesos en donde interviene un cambio del estado del agua como el secado, liofilización, congelación, etc. [Rhaman, 2010; Genin & René, 1995; Roos, 2010; Rahman, 2006; Bhandari & Howes, 1999].

En los fructanos en polvo, debe considerarse que los cambios físicos que ocurren son extremadamente lentos y usualmente son referidos como envejecimiento físico. El desarrollo de una estructura amorfa para los fructanos de agave puede resultar de un proceso de fusión, desnaturalización, gelatinización, tratamiento mecánico, remoción rápida del solvente y despolimerización de estructuras complejas. Como método convencional hacia el desarrollo de un estado amorfo se tienen los procesos de secado con aire caliente;

procesos de congelación- evaporación como el liofilizado y el secado por aspersión. En principio, el jugo de *Agave salmiana* puede ser convertido en una matriz amorfa si la velocidad de secado es lo suficientemente rápida y el material no cristaliza durante el enfriamiento.

1.3.3. Secado convencional

Los fructanos y fructooligosacáridos en polvo de la achicoria generalmente se obtienen después de ejecutar un secado cuyas condiciones óptimas son un pH inicial de 6.5 así como una temperatura no superior a 140 °C aplicada por un tiempo menor a los 50 minutos [Manrique *et al.*, 2005]. No obstante, se estima que la cantidad de fructanos en el polvo se ve significativamente disminuida por el tratamiento térmico dada su conversión a fructosa; así mismo, las condiciones y los tiempos de secado tienden a fomentar la cristalización de las matrices sólidas del producto obtenido, lo cual se considera inconveniente para la estabilidad y el manejo del producto final [Carvalho *et al.*, 2004]; por lo cual es más recomendable el uso de otras técnicas alternativas de secado o de procesamiento.

1.3.4. Liofilización

La liofilización es un proceso de secado que se aplica a una diversa gama de productos biológicos y alimentarios. En este, el producto se congela y posteriormente se introduce en una cámara de vacío para realizar la separación del agua mediante sublimación. De esta manera se elimina el agua desde el estado sólido al gaseoso sin pasar por el estado líquido sin necesidad de aplicación de calor en el alimento. Para acelerar el proceso, se utilizan ciclos de congelación-sublimación con los que se consigue eliminar prácticamente la totalidad del agua libre contenida en el producto original, pero preservando la estructura molecular del producto tratado [Perry & Green, 2003].

Estudios previos han mostrado que la recuperación de sólidos de fructanos obtenidos mediante liofilización es superior al 95%; sin embargo, debe ser considerado el tiempo de proceso que puede rondar en horas o días para la obtención de muestras con características convenientes. Actualmente, no existen estudios completos que indiquen el efecto del proceso de liofilizado en fructanos obtenidos de diversas fuentes.

1.3.5. Secado por aspersión

El secado por aspersión es una de las técnicas más utilizadas a nivel industrial para la producción de alimentos en forma de polvo, gránulos o aglomerados y se han aplicado con éxito en el secado de leche, café, té, huevo, proteínas de suero, enzimas y microorganismos. Este proceso se define como una operación unitaria utilizada para producir polvos, donde un líquido o una suspensión se atomizan en una corriente de aire caliente provocando la deshidratación instantánea del mismo. Una ventaja del método de secado por pulverización es que el tiempo de residencia del producto a altas temperaturas es muy corto (< 2 segundos), minimizando la posibilidad de daño o degradación del alimento y manteniendo sus propiedades físicas y organolépticas tales como sabor, color u olor intactas y los nutrientes presentes no sufren cambios significativos [**Masters, 1991; Barbosa & Vega, 2000; Edward *et al.*, 1991**].

El secado por aspersión transforma a un alimento fluido y bombeable en un producto seco a través de una simple operación. Esto es alcanzado mediante la atomización del alimento dentro de una cámara de secado, donde gotas del líquido pasan a través de una corriente de aire caliente [**Barbosa & Vega, 2000; Masters, 1991**]. En un secador por aspersión típico la solución, suspensión o emulsión es bombeada hacia un atomizador colocado en la parte superior de la cámara de secado. El atomizador, ya sea de rodete centrífugo, tobera a presión o tobera de doble fluido, asperja el líquido en forma de gotas hacia una corriente de aire caliente. Por ejemplo, en la tobera a presión, la alimentación es forzada a pasar a través de un pequeño orificio, lo que ocasiona que se forme una cortina de diminutas gotas de forma cónica dentro de la cámara de secado. Conforme las gotas pasan a través del flujo de aire caliente, la humedad se evapora rápidamente. La transferencia de calor y masa durante este tipo de deshidratado, ocurre entre el aire y una capa de vapor formada alrededor de las gotas. Esta capa protectora de vapor mantiene a la gota a la temperatura de saturación (bulbo húmedo) y el proceso de evaporación ocurre precisamente a ésta temperatura. Esta técnica de secado, consecuentemente es aplicable para productos termosensibles [**Mermelstein, 2001**] y ampliamente utilizada para producir a gran escala leche y huevo en polvo, café instantáneo, polvos de frutas, así como también para el encapsulamiento de componentes activos [**Masters, 1991**].

Aunque existen otros métodos de secado para la obtención de alimentos en polvo (ejemplo, aire caliente y lecho fluidizado, liofilización, secado rápido [flash drying], etc.), el secado por aspersión ha sido preferido, debido a que ofrece tiempos de residencia muy cortas, permitiendo que algunas propiedades del alimento como: el sabor, color, olor, nutrientes, se retengan en alto porcentaje [Mermelstein, 2001; Mujumdar, 1998; Shiga *et al.*, 2001; Kuts & Samsonyuk, 1989].

Actualmente, la inulina comercial en polvo que se extrae de la raíz de achicoria se obtiene mediante secado por aspersión, este proceso ofrece la ventaja de bajo costo de producción en comparación con otras técnicas de secado (por ejemplo, liofilización). Sin embargo, la tecnología de secado por aspersión no ha sido aplicada a otras fuentes de obtención de fructanos debido principalmente a que las pruebas para implementar la técnica son complicadas y costosas en escala industrial. Por esta razón, suele utilizarse el secado por aspersión a escala piloto a fin de investigar la influencia de las propiedades de la alimentación y los parámetros de proceso secado sobre las propiedades físicas de los fructanos en polvo. [Ronkart *et al.*, 2007].

1.3.5.1. Problemáticas durante el secado de fructanos

Uno de los mayores problemas encontrados durante la aplicación del secado por aspersión en la industria alimentaria, es el pegado (adherencia) y deposición de los materiales sobre la superficie del secador. Esto trae como consecuencia una reducción en las cualidades sensoriales del producto debido a la degradación térmica, bajos rendimientos del producto así como requerimientos frecuentes de limpieza y problemas de seguridad como explosiones [Adhikari *et al.*, 2001]. El problema de pegado se remarca más para los alimentos que presentan en su composición química un alto contenido de azúcares como el caso de los jugos de frutas.

Los jugos derivados de plantas con alto contenido de fructanos, como el jugo de agave, también presentan dificultades en la aplicación del secado por aspersión debido a la presencia de azúcares de bajo peso molecular (fructosa, glucosa, maltosa y sacarosa), ácidos orgánicos (ácido cítrico) y elevado contenido de agua [Jaya & Das, 2004; Foster *et*

al., 2006]. Estos sistemas (jugos de con azúcares simples) se caracterizan por tener temperaturas de transición vítrea (T_g) muy bajas. Cuando los jugos están en contacto con el aire caliente a una temperatura de bulbo húmedo por encima de su T_g , pueden tender a la relajación estructural de los componentes del material a secar y el producto procesado muestra un comportamiento similar a un jarabe, derivando en adhesión a las paredes del secador y bajos rendimiento, problemas de operación y defectos en la calidad del producto final [**Zuleta & Sambucetti, 2001**; **Moreno-Vilet *et al.*, 2010**; **Jaya & Das, 2004**; **Foster *et al.*, 2006**; **Mani *et al.*, 2002**].

1.3.5.2. Agentes acarreadores

Para reducir las problemáticas expuestas anteriormente, se han utilizado algunos métodos prácticos como la refrigeración y raspado de las paredes del secador. Así mismo, ha sido de mucha utilidad el uso de algunos aditivos tales como almidón, goma arábiga y maltodextrinas como agentes acarreadores que aumenten la T_g de la mezcla. La cantidad a utilizar de estos agentes depende de los componentes de los alimentos y los intervalos de concentración de sólidos descritos en la literatura [**Ruiz-Cabrera *et al.*, 2009**] que van de 20% a 60% (w/v). Sin embargo, la cantidad de aditivo añadido está limitada por la calidad sensorial del producto final y se llevan a cabo a menudo por ensayo y error. La combinación de maltodextrinas y azúcares tales como lactosa, que presenta un alto valor de T_g , han permitido la reducción de sólidos adheridos en el secador [**Ruiz-Cabrera *et al.*, 2009**; **Bhandari & Hartel, 2005**]. Se han sugerido otras formas de controlar el proceso de secado por pulverización, como la caracterización de los materiales procesados utilizando un diagrama de estado (T_g vs a_w), ayudando a establecer las mejores condiciones de temperatura, con el fin de reducir los problemas de pegajosidad durante el proceso.

1.3.5.3. Métodos para la reducción de la pegajosidad en secado por aspersión

En los últimos años, han sido realizadas diversas investigaciones enfocadas en el problema de la pegajosidad en secado por aspersión de productos ricos en azúcares simples. Se ha propuesto mantener las paredes de la cámara de secado a una temperatura más baja que la T_g del producto a procesar. Se ha reportado que la adherencia de las partículas de polvo se disminuye por efecto de enfriamiento del cono inferior del secador con aire atmosférico, sin

embargo, esto puede provocar aumentos en la humedad del polvo hasta en 0.5% - 0.8% [**Lazar *et al.*, 1956**].

También han sido considerados sistemas de raspado de aire rotativos acoplados al secador por aspersión, estos sistemas pueden estar provistos de boquillas y/o ranuras largas con aire dirigidos contra la pared de la cámara. Estos sistemas facilitan la producción continua de polvo y eliminan la manipulación manual, evitando la contaminación en el producto final. Las cámaras con raspado de aire a baja velocidad, presentan también un enfriamiento de las paredes del secador minimizando la adherencia de los polvos. El uso de aire frío deshumidificado permite tener resultados adecuados en productos con azúcares termoplásticos como lactosa y sacarosa [**Masters, 1991; Papadakis & Babu, 1992**].

Estas técnicas propuestas pueden considerarse adecuadas para el procesamiento de alimentos ricos en azúcares sin necesidad de comprometer la pureza del producto final, no obstante, estos métodos solamente minimizan el efecto de la pegajosidad y no mejoran la efectividad del secado por aspersión a escala industrial y durante un procesamiento continuo. Por esta razón, se ha considerado la remoción de los azúcares de bajo peso molecular en los jugos de agave con alto contenido en fructanos, a fin de permitir la obtención eficiente de estos componentes y el mejor aprovechamiento de sus propiedades benéficas. La temperatura de transición vítrea de fructanos tipo inulina ha sido reportado en 120 °C [**Zimeri & Kokini, 2003**], por lo que jugos de agave con alto contenido de fructanos y reducidos en su contenido de azúcar podrían ser procesados de manera efectiva obteniendo altos rendimientos y un producto con una pureza elevada.

1.4. Nanofiltración (NF)

La nanofiltración (NF) es un proceso de separación por membrana bajo efecto de la presión, situado entre la ósmosis inversa (RO) y la ultrafiltración (UF) ofrece amplia gama de aplicaciones en procesamiento de alimentos (productos lácteos, azúcar y la industria de jugos de frutas) [**Aydogan *et al.*, 2009; Cuartas-Uribe *et al.*, 2009; Yorguna *et al.*, 2008**]. Comparado con métodos de separación convencionales, tales como la evaporación y la cromatografía, la separación por membrana se basa en criterios físicos como la carga iónica y el tamaño molecular. Además, es posible operar estos procesos a temperatura ambiente

sin cambio de fase; su funcionamiento es simple, requiriendo un bajo consumo de energía [Pinelo *et al.*, 2009; Sun *et al.*, 2011]. En el caso de moléculas neutras como los carbohidratos, la separación se basa principalmente en las diferencia de tamaños moleculares y difusividad [Van der Bruggen *et al.*, 2008; Goulas *et al.*, 2002; Sjöman *et al.*, 2007]. A diferencia de la ósmosis inversa, la nanofiltración utiliza membranas de estructura más flexibles con cortes de peso molecular (MWCO) de 300 a 1000 Da; obteniendo así flujos más altos a menor presión transmembranal (PTM) y reduciendo el costo de operación significativamente [Adhikari *et al.*, 2001; Pinelo *et al.*, 2009; Sun *et al.*, 2011].

Existen investigaciones que han estudiado la aplicación de NF para la purificación, separación o concentración de mono y oligosacáridos de diferentes materias primas [Kamada *et al.*, 2002; Aimar *et al.*, 2009; Feng *et al.*, 2009]. Ha sido observado en varios estudios que los parámetros cruciales de los procesos de separación por membranas, tales como el flujo de permeado y la retención de soluto, están influenciados por diversos factores, incluyendo el tipo de membrana, la presión transmembranal, la temperatura y la concentración de la solución de alimentación. En general, el flujo de permeado y la retención de azúcares muestran un incremento conforme se tiene un aumento de la presión, sin embargo, el efecto opuesto se ha encontrado cuando se presenta un aumento en la concentración de sólidos en la solución de alimentación. Por otra parte, la reducción de la viscosidad en la solución de alimentación derivado de un incremento en la temperatura conduce a flujos de permeado más altos, pero con una disminución significativa en la retención de solutos [Noghabi *et al.*, 2011].

Para el análisis de pequeños volúmenes de muestra, suelen utilizarse comúnmente dispositivos cerrados con agitación (celdas de nanofiltración), aunque este tipo de equipos no son adecuados para el trabajo a escala piloto o industrial. Sin embargo, los estudios a escala laboratorio son importantes con el fin de caracterizar el comportamiento de la separación y para evaluar la sensibilidad de los cambios en el proceso bajo ciertas condiciones de operación [Cojocarú & Zakrzewska-Trsnadel, 2007].

1.4.1. Comparativa de NF con otros métodos de filtrado

La historia de nanofiltración (NF) se remonta a la década de 1970, cuando se comenzaron a desarrollar membranas de ósmosis inversa (RO) con un flujo de agua razonable a presiones relativamente bajas. Las altas presiones utilizadas en ósmosis inversa dieron como resultado un coste de energía considerable, pero por otro lado, la calidad del permeado obtenido era muy buena bajo consideraciones de purificación. Sin embargo, también fueron desarrolladas membranas con menor rechazo o retención de componentes disueltos, que operaban a baja presión. Tales membranas de ósmosis inversa de baja presión se conocían como membranas de nanofiltración (Figura 1.7). En la década de 1980, la nanofiltración comenzó a ser aplicada para la separación de solutos de interés [Eriksson, 1988; Conlon & McClellan 1989].

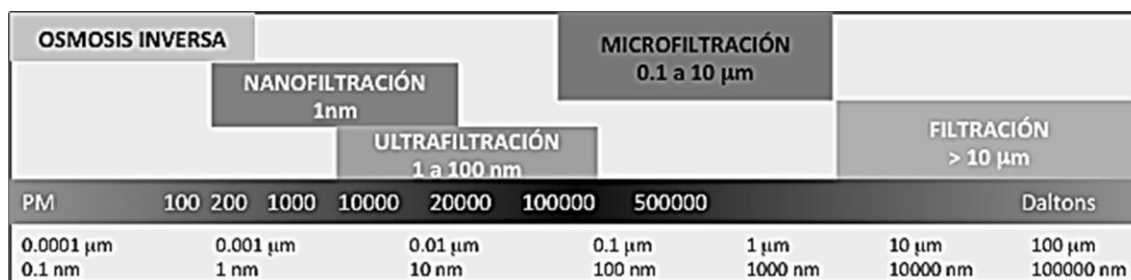


Figura 1.7. Comparativa de distintos métodos de filtrado en función de su capacidad de separación [Eriksson, 1988].

En comparación con la ultrafiltración (UF) y la ósmosis inversa, la nanofiltración (NF) es un proceso difícil de definir y describir debido a las diversas variables que intervienen en el proceso. Las membranas de NF son en algunos aspectos similares a las membranas de RO, sin embargo, las características específicas de las membranas de NF implica muy altos rechazos de iones multivalentes (0 - 99%) y bajo a moderado rechazo de iones monovalentes (0 - 70%), además de un alto rechazo (0 - 90%) para compuestos orgánicos con pesos moleculares encima del corte medio de la membrana, que es generalmente en el rango de 150-1000 Da. El entendimiento del proceso de nanofiltración es todavía una zona gris en términos de interacciones fisicoquímicas y mecanismos de transporte; una zona de transición con características tanto de UF y RO, pero con sus propias características particulares también. La comprensión de estos fenómenos es una desafío para investigadores y desarrolladores de productos [Van Der Bruggen, & Jeens, 2001].

1.4.2. Membranas y diseño de procesos

Los materiales tradicionales utilizados para membranas de NF son polímeros de tipo orgánico. Elaborados mediante inversión de fase o polimerización interfacial, las membranas de inversión de fase son homogéneas y asimétricas a menudo hechas de etilcelulosa o poli (éter) sulfona. Las membranas hechas por polimerización interfacial son heterogéneas. Se componen de una película delgada en la parte superior de una capa del sustrato que fomenta la transferencia de masa; los materiales más comunes utilizados en su elaboración son poliamidas aromáticas, (amida piperazina); polisulfona y poli (éter) sulfona. La producción de membranas de NF de cerámica también es posible, pero hasta la fecha el tamaño de poro de la mayoría de las membranas de cerámica sigue siendo relativamente alto [Vankelecom *et al.*, 2005].

Las tendencias recientes son el uso de polímeros altamente ramificados con el fin de obtener una mayor estabilidad de la membrana a diferentes pH's, alta temperatura o en solventes orgánicos. Por lo general, las membranas de NF poseen un pH de neutro a ácido, con un punto isoeléctrico alrededor de pH 3 - 4, esto permite que el corte de peso molecular retenga alrededor del 90% de moléculas con pesos por encima de 500 Da [Siewert *et al.*, 2000; Voigt *et al.*, 2001]. La mayoría de las membranas de NF empaquetadas en modo espiral, tubular, medio hueco y módulos de lámina plana o placa-marco. Las membranas espirales y tubulares con diámetro de alrededor de 1 mm, son útiles para el control del ensuciamiento durante el proceso [Verberk *et al.*, 2002].

1.4.2.1. Saturación de la membrana

Durante la nanofiltración, el material retenido por la membrana se acumula en su superficie para formar depósitos, cuya estructura depende del tipo de fluido de proceso y la membrana. En todos los casos, estos residuos ofrecen una resistencia a la transferencia de permeado, adicional a la resistencia de la membrana provocando una disminución gradual de la densidad de flujo de permeado y un aumento de la deposición de sólidos sobre la membrana. Existen diversos modelos que describen los mecanismos implicados en la saturación y la obstrucción de las membranas [Aimar *et al.*, 2009]. Sin embargo, estos modelos son dependientes de la forma de manejo que sea utilizada para el proceso de NF.

1.4.2.2. Aplicación frontal de la presión en NF

Durante el proceso de filtrado, la aplicación de la presión, así como el flujo de líquido a través de la membrana, puede ser aplicado de manera directa sobre la superficie de la membrana de manera continua; a este tipo de proceso se le conoce como filtración frontal. En este proceso, debe ser considerado el contenido de sólidos que se depositan sobre la membrana por unidad de tiempo y área de membrana ($\text{kg/m}^2 \cdot \text{s}$). Esta cantidad de material puede entonces participar en la obstrucción de los poros de la membrana por diferentes tipos de mecanismos basados en los siguientes supuestos [Aimar *et al.*, 2009]:

- Bloqueo completo: Todas las partículas que llegan a la superficie de la membrana participan en el bloqueo de los poros. El área bloqueada es proporcional al volumen de líquido permeado.
- Bloqueo intermediario: Deriva solo de las partículas que llegan a la superficie de la membrana y tienen contacto con un poro contribuyendo a la obstrucción del mismo.
- Bloqueo estándar: Las partículas se depositan en la pared interior de los poros. La sección de paso en los poros disminuye en proporción volumen filtrado.
- Torta-Filtro: Las partículas acumuladas constituyen una torta que ayuda a crear una resistencia adicional para la transferencia transmembranal.

Los modelos que pueden ser utilizados para describir la evolución de los flujos transmembranales a través del tiempo (para la filtración frontal a presión constante) consideran parámetros de los estatutos bloqueo completo (K_b), estándar (K_s), intermediario (K_i) y modelado de la torta (K_g). En general, mediante el uso adecuado de estos parámetros considerando las diversas resistencias formadas en la filtración frontal, es posible describir de manera adecuada el cambio en el flujo a través del tiempo. Sin embargo, el comienzo del proceso de filtrado no puede ser descrito correctamente por este método debido a que aún no existen resistencias dominantes en la obstrucción de los poros de la membrana. Consecutivamente, se presenta un depósito de soluto con un espesor definido el cual evoluciona mediante el agregado de más depósitos alrededor y sobre él provocando la obstrucción bajo diversos efectos de la membrana. Modelos de filtración convencionales se

utilizan a menudo para representar el comportamiento del flujo en función del crecimiento de los agregados, estas reglas se basan en una serie de supuestos:

- Las partículas se encuentran en suspensión diluida.
- Los depósitos formados no son compresibles.
- Existen mecanismos independientes para la formación de depósitos que pueden ocurrir simultáneamente y su importancia relativa puede cambiar durante la filtración.

En general, las reglas de la filtración frontal con desarrollo de depósitos pueden ser aplicables para procesos de tiempo elevado. Muy a menudo, estas reglas no son suficientemente representativas de todos los fenómenos involucrados en el proceso pero permiten modelos predictivos o diseño [Aimar *et. al.*, 2009].

1.4.2.3. Aplicación tangencial de la presión en NF

En el caso de filtración tangencial, donde la presión es aplicada en dirección inclinada sobre la membrana provocando variaciones en la presión transmembranal, es más difícil definir los parámetros que provocan la obstrucción debido a que es necesario incluir el efecto de reducción tangencial al paso de material transmembranal en función de la altura de la membrana. Por lo tanto, la cantidad de material alimentado a la superficie de la membrana ya no es directamente proporcional al flujo de permeado, implicando varios fenómenos que intervienen en la transferencia de materia:

- Difusividad
- Interacciones de superficie dependientes de la carga superficial del depósito (ζ)
- Fenómenos hidrodinámicos que dependen esencialmente del esfuerzo cortante (τ)

Los diferentes fenómenos de transporte y cómo estos intervienen para describir la penetración del material por la membrana se resumen en la Tabla 1.3, según el papel desempeñado por los diferentes mecanismos por las especies que se pueden filtrar.

Tabla 1.3. Importancia relativa de los fenómenos de transporte que se producen en la filtración tangencial para los diferentes tipos de filtrado [Aimar *et. al.*, 2009].

Solutos o Partículas	Tipo de filtrado	Difusividad	ζ	τ
Ion/Molécula	RO - NF	Importante	Poco importante	Poco importante
Macromolécula	UF	Importante	Importante	Poco importante
Coloide	UF - MF	Poco importante	Importante	No importante
Suspensión	MF	Sin importancia	Poco importante	Importante

1.4.3. Modos de operación en nanofiltración

1.4.3.1. NF en modo recirculación

La NF en modo recirculación consiste en realizar el proceso de filtrado a través de la membrana a una presión constante, con la consecuente recuperación del flujo permeado para ser reprocesado nuevamente. Este tipo de proceso mantiene de manera constante los volúmenes de retención y la concentración de sólidos sin recuperación de un producto de proceso. La modalidad es útil para establecer los parámetros básicos de proceso como presión transmembranal y flujo de permeado; así mismo permite inferir los factores presentes en la formación de la capa de ensuciamiento en la membrana (Figura 1.8).

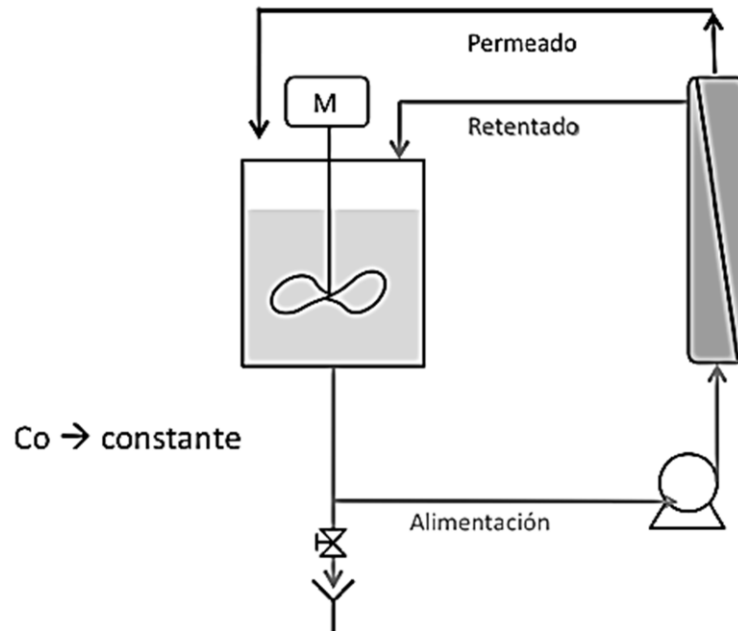


Figura 1.8. Diagrama de proceso de nanofiltración en modo recirculación (C_o = Concentración inicial, M = motor de agitación).

1.4.3.2. NF en modo concentración

La operación de nanofiltración puede considerarse de manera básica como una concentración de un soluto retenido, este modo de operación se conoce de manera convencional como NF-concentración. El modo de concentración se lleva a cabo mediante el almacenamiento de un volumen determinado de la solución de interés, a la cual es aplicado un gradiente de presión que fuerza el paso de líquido a través de la membrana. En este modo de operación es conveniente realizar la evaluación de los volúmenes de permeado y de líquido retenido por la membrana (Figura 1.9). La relación entre el volumen inicial y el volumen que se retiene por la membrana se conoce como factor de retención de volumen (VRF):

$$VRF = \frac{\text{Volumen inicial}}{\text{Volumen retenido}} \quad \text{Ec. 1.1}$$

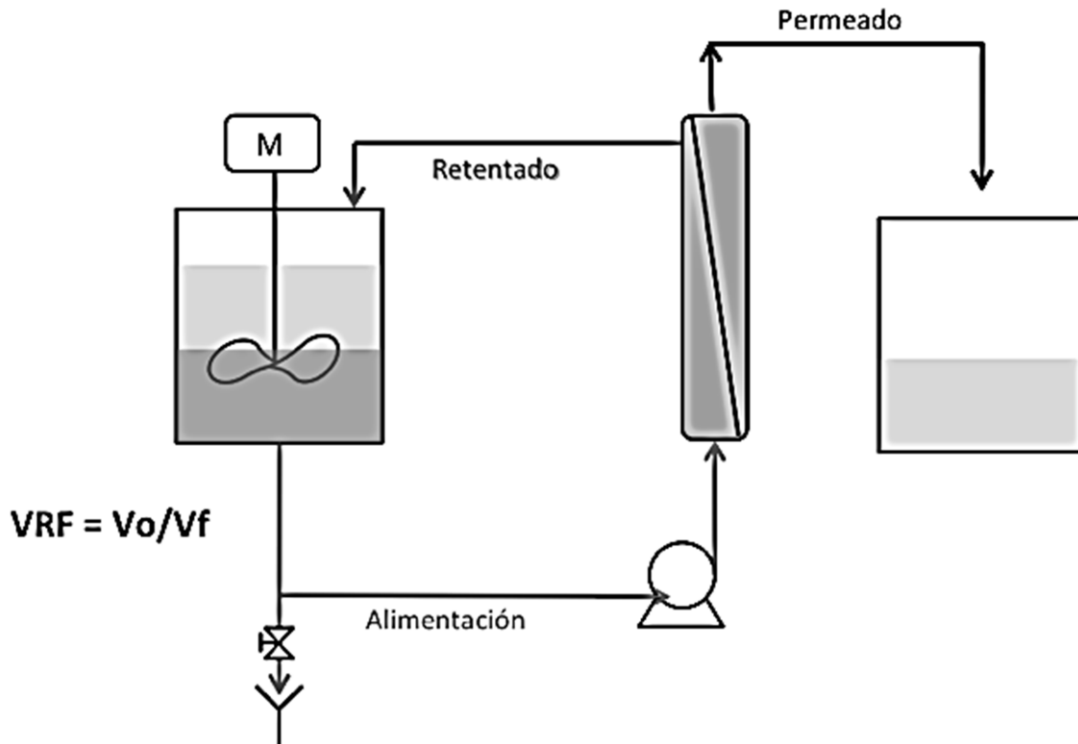


Figura 1.9. Diagrama de proceso de nanofiltración en modo concentración (M = motor de agitación, V_0 = Volumen inicial, V_F = Volumen retenido, VRF = Factor de retención de volumen).

Sin embargo, ha sido observado que el modo de operación en concentración genera una capa de polarización en la superficie de la membrana, la cual además aumenta con respecto a la presión transmembranal que se utilice en la nanofiltración y reduciendo de manera drástica el efecto de separación durante el proceso [Cuartas-Uribe *et al.*, 2009, Mohammad & Takriff, 2003].

1.4.3.3. NF en modo diafiltración

Como se ha mencionado, el rendimiento de separación en membranas es fuertemente dependiente del modo de operación que se utilice, así como las propiedades de los solutos y de la membrana. La NF-diafiltración es una técnica utilizada para el logro de altas tasas de purificación de macro y microsolutos con un flujo de permeado aceptable (Figura 1.10).

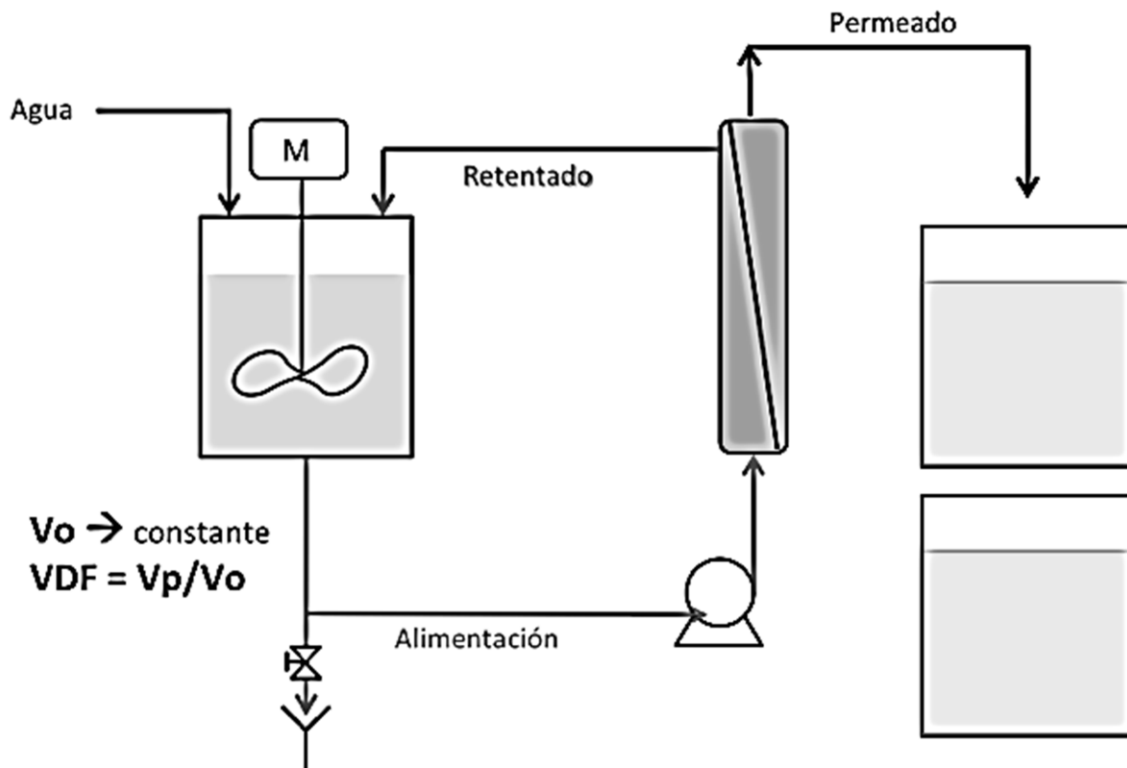


Figura 1.10. Diagrama de proceso de nanofiltración en modo diafiltración (M = motor de agitación, V_0 = Volumen inicial, V_p = Volumen permeado, VDF = Factor de dilución de volumen)

Trabajos previos han informado que el rendimiento de la etapa de diafiltración es significativamente mayor para membranas hidrófilas pues fomentan el paso de soluciones acuosas [Cuartas-Uribe *et al.*, 2009; Dutre & Trægårdh, 1994]. El modo de diafiltración continua se lleva a cabo con la adición de agua a la misma tasa de flujo que el caudal de permeado. Por lo tanto, el volumen inicial es constante durante el proceso. El factor de dilución de volumen (VDF) se determina como la relación entre el volumen de permeado y el volumen inicial de alimentación:

$$VDF = \frac{\text{Volumen permeado}}{\text{Volumen inicial}} \quad \text{Ec. 1.2}$$

Ha sido establecido que el modo de diafiltración reduce de manera consistente la formación de sedimentos por efecto de la polarización a través de la membrana, donde se ha reportado además una mejor efectividad en la separación de sólidos con respecto al modo de concentración [Dutre & Trægårdh, 1994].

1.4.4. Aplicación de la nanofiltración en jugo de agave

La nanofiltración (NF), ha sido propuesta por diferentes autores como un método potencial a escala industrial para la purificación y concentración de fructanos y azúcares naturales en mezcla [Pinelo *et al.*, 2009; Sun *et al.*, 2011; Goulas *et al.*, 2002]. La nanofiltración ofrece la posibilidad de una separación parcial de mono, di-sacáridos y fructooligosacáridos mediante la aplicación de presión transmembranal (TMP). El flujo de permeado (J_V) es generalmente expresado en $L/(h.m^2)$. Así mismo; la solución restante que contiene el soluto retenido (Q_R) se expresa en L/h [Aimar *et al.*, 2009]. La selectividad de la membrana se mide normalmente por un término denominado retención de soluto (R):

$$R(\%) = \frac{C_0 - C_P}{C_0} \times 100 \quad \text{Ec. 1.3}$$

Donde C_0 y C_P representan la concentración en la solución de alimentación y permeado respectivamente. Valores de R oscilan generalmente entre 0 y 100%, suponiendo que una membrana de nanofiltración ideal tendría un valor R de 100% para componentes con alto peso molecular (APM) como la inulina y cero para componentes de bajo peso molecular

(BPM) tales como glucosa, fructosa y sacarosa. Otro parámetro importante para evaluar la eficiencia de la membrana es el factor de separación (FS) que puede definirse como la relación entre el rechazo de los componentes de alto peso molecular y los de bajo peso molecular:

$$FS = \frac{R_{APM}}{R_{BPM}} \quad \text{Ec. 1.4}$$

Un valor de FS mayor a uno, indica que el retentado se enriquece con el componente de alto peso molecular (inulina). Ha habido muchos informes que muestran que el flujo de permeado, retentado, así como factor de separación están influenciados por varios parámetros incluyendo el tipo de membrana, la presión, la temperatura y la concentración de la alimentación del jugo rico en fructanos [Sun *et al.*, 2011; Goulas *et al.*, 2002; Feng *et al.*, 2009; Noghabi *et al.*, 2011].

En el caso de jugo de agave, la concentración de sólidos totales (expresado como °Brix) es altamente variable ya que fluctúa en función de las especies de plantas, región, edad de la planta y temporada de cosecha, para jugo de diversas especies de *Agave* valores de concentración entre 12 y 25 °Brix han sido reportados en la literatura [Michel-Cuello *et al.*, 2008; Arrizon *et al.*, 2010; Sánchez-Marroquín, 1979]. Debido a la falta de información sobre la influencia de la concentración de la alimentación para la nanofiltración de jugo de agave, se han realizado estudios con soluciones modelo que contienen sacarosa, glucosa, fructosa y la inulina a concentraciones análogas de jugo de agave natural [Moreno-Vilet *et al.*, 2014]. Se ha caracterizado el efecto de la presión y concentración de la alimentación en el rendimiento de nanofiltración, tales como flujo de permeado y la fracción de soluto retenido. Además, se han realizado estudios con el jugo de *Agave salmiana* para modelar el comportamiento en la separación de azúcares.

1.5. Justificación del presente estudio

Debido al alto contenido de fructanos en plantas de *Agave salmiana*, ha sido propuesto el secado por aspersión como una técnica conveniente para el desarrollo de productos en polvo, permitiendo el mejor aprovechamiento de estos componentes. Sin embargo, la presencia de azúcares simples (glucosa (G), fructosa (F), sacarosa (S)) en los jugos de agave obtenidos, dificulta el procesamiento de estos productos al provocar pegajosidad, bajos rendimientos y bajo contenido de pureza en los polvos desarrollados. El presente trabajo, se centra en el estudio del proceso de NF-concentración y NF-diafiltración como medio de purificación del jugo de *Agave salmiana*, evaluando la retención de fructanos y la separación de azúcares simples. Además, se analizará el efecto de ambos modos de NF en el rendimiento de polvo y el grado de pureza de fructanos obtenido durante el secado por aspersión.

1.6. Hipotesis

Se propone que la aplicación del proceso de nanofiltración en jugo de *Agave salmiana* contribuirá en la reducción de los azúcares simples presentes. Integrando la NF al proceso de secado por aspersión, será posible obtener polvos de fructanos con alta pureza sin el uso de agentes acarreadores. Adicionalmente, las muestras de polvo deben presentar temperaturas de transición vítrea (T_g) elevadas (> 120 °C), correspondientes a los valores reportados para estos componentes cuando se tienen purezas de fructanos elevadas.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Obtener fructanos en polvo mediante secado por aspersión a partir de jugo nanofiltrado de *Agave salmiana*. Así mismo, determinar el grado de pureza (concentración de fructanos) y los valores de T_g para los fructanos en polvo obtenidos.

2.2. Objetivos particulares

1. Caracterizar el proceso de nanofiltración en dos modos de operación (NF-concentración y NF-diafiltración) para fructanos en el jugo de *Agave salmiana*.
2. Obtener fructanos en polvo mediante secado por aspersión de jugo de agave nanofiltrado evitando el uso de agentes acarreadores.
3. Evaluar el grado de pureza de los fructanos en polvo mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en función del efecto de nanofiltración y secado por aspersión.
4. Determinar la temperatura de transición vítrea (T_g) de fructanos en polvo obtenido mediante secado por aspersión.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materia prima

El jugo de *Agave salmiana* fue extraído de plantas recolectadas del Ejido de San Miguel en el Municipio de Charcas S.L.P. en el verano del año 2015 con una edad entre siete y nueve años con aproximadamente un año de castración. El tallo de la planta fue la porción utilizada para la extracción de jugo, mediante el uso de un molino y un equipo expeller realizando esta operación en el instituto de zonas desérticas de la UASLP. El jugo crudo fue filtrado 3 veces a fin de eliminar las fibras y lograr muestras con características convenientes para este estudio. A fin de recuperar la mayor cantidad de jugo de agave, el bagazo recuperado del molido y del filtrado previo fue sometido a prensado utilizando una prensa hidráulica trabajando a 45 Kg_f/cm². El jugo recuperado de los procesos de molido, filtrado y prensado fueron mezclados y homogenizados perfectamente. Para inactivar las saponinas presentes en el zumo, éste fue calentado a 50 °C durante 60 min en un baño de agua con agitación continua. Se obtuvieron tres lotes de jugo crudo y fueron almacenados a -14 °C para su uso posterior.

3.2. Experimentos de nanofiltración

Para el proceso de Nanofiltración (NF) fue utilizada una celda Millipore agitada (Modelo 8400, Millipore-Amicon Corporation, EE.UU.) con una capacidad máxima de volumen de 400 mL y un área de membrana efectiva de 4.18x10⁻³ m². La celda contiene un agitador magnético que mantiene el movimiento del fluido durante su operación, reduciendo así los efectos negativos de la polarización durante la concentración del jugo. Una membrana de celulosa hidrofílica de Millipore (número de catálogo PLAC07610) con un peso molecular de corte (MWCO) de 1000 Da fue utilizada en la celda y se operó con 100 mL de solución de alimentación (Figura 3.1). La presión se ajustó con aire comprimido y fue controlado por un sensor de presión a 0.35 MPa en todos los experimentos. Los experimentos de nanofiltración se realizaron a temperatura ambiente y se requirió de una placa de calentamiento junto con el agitador magnético para mantener la solución agitada a una velocidad constante de 100 rpm.

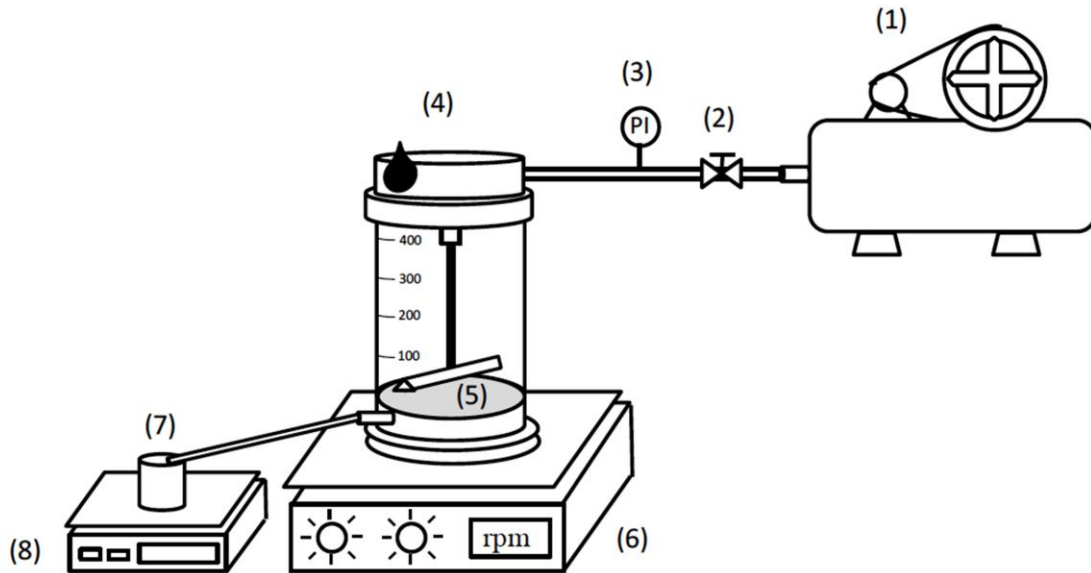


Figura 3.1. Diagrama esquemático del sistema de nanofiltración: (1) compresor de aire, (2) válvula de presión, (3) sensor de presión, (4) célula de agitación, (5) membrana de separación, (6) placa de agitación magnética, (7) colector de permeado, (8) balanza electrónica.

Para la operación de la celda de nanofiltración fueron utilizados dos modos de operación, NF-concentración y NF-diafiltración. Sin embargo, a fin de homologar ambos modos como un parámetro de análisis único, fue propuesto un modelo matemático de transformación para analizar el efecto del factor de volumen para cada modo de nanofiltración; este modelo se ajusta a la ecuación:

$$n = \text{Log}_2(VF^X) \quad \text{Ec. 2.1}$$

Donde:

n = Factor de dilución del proceso de nanofiltración.

VF = Factor de volumen (VDF en NF-diafiltración y VCF en NF-concentración).

X = Efecto de la dilución (+1 para NF-difiltración y -1 para NF-concentración).

De este modo, la nanofiltración de los jugos de agave fue manejada con valores del parametro n desde -2 hasta 2 permitiendo abarcar el proceso desde concentración a VRF = 4 hasta diafiltración a VDF = 4 (Tabla 3.1).

Tabla 3.1. Valores del factor de dilución (n) para cada modo de nanofiltración.

Tipo de modo	Efecto de la dilución	Factor de volumen		Factor de dilución (n)
		VRF	VDF	
Concentración	-1	4	-	-2.00
Concentración	-1	3	-	-1.58
Concentración	-1	2	-	-1.00
Diafiltración	1	-	1	0.00
Diafiltración	1	-	2	1.00
Diafiltración	1	-	3	1.58
Diafiltración	1	-	4	2.00

Para todos los experimentos de NF, la membrana fue lavada con agua desionizada y mantenida durante la noche en solución acuosa de alcohol metílico (10% v/v) a 4 °C entre ejecuciones sucesivas. Al comienzo de cada experimento de nanofiltración, se comprobó la permeabilidad de la membrana para asegurarse que el paso de agua permanecía constante. De este proceso, fueron obtenidas las soluciones de retentado y permeado para el jugo de agave, siendo el retentado el producto de mayor consideración pues en este se concentran los fructanos de interés para el estudio, mientras que el permeado fue descartado para posteriores experimentos.

3.3 Experimentos de secado por aspersión

Para la obtención de fructanos en polvo, fue utilizado un secador por aspersión B-290 Büchi, Switzerland (Figura 3.1), este equipo trabaja de forma co-corriente; es decir, que el producto alimentado y el aire caliente tienen la misma dirección de flujo. A través de una bomba peristáltica se bombea el retentado de jugo de agave hacia el atomizador, la bomba peristáltica fue ajustada a un 20% de su capacidad para establecer un flujo de alimentación del jugo retentado de 7.5 mL/min. La atomización del producto fue realizada a través de una tobera a presión de 0.15 MPa usando aire comprimido. El aire que se utilizó como flujo

de arrastre fue previamente filtrado y después calentado a través de resistencias eléctricas. Se utilizó un flujo volumétrico de aire caliente de 0.44 m³/min ajustando el aspirador a un 85% de su capacidad. El polvo obtenido fue recuperado y almacenado en frascos herméticos de color ámbar a fin de evitar que el producto captara humedad del ambiente y sufriera daño por efecto de la luz. El polvo se almacenó a condiciones estándar (25 °C, HR = 40%) para posteriores análisis.

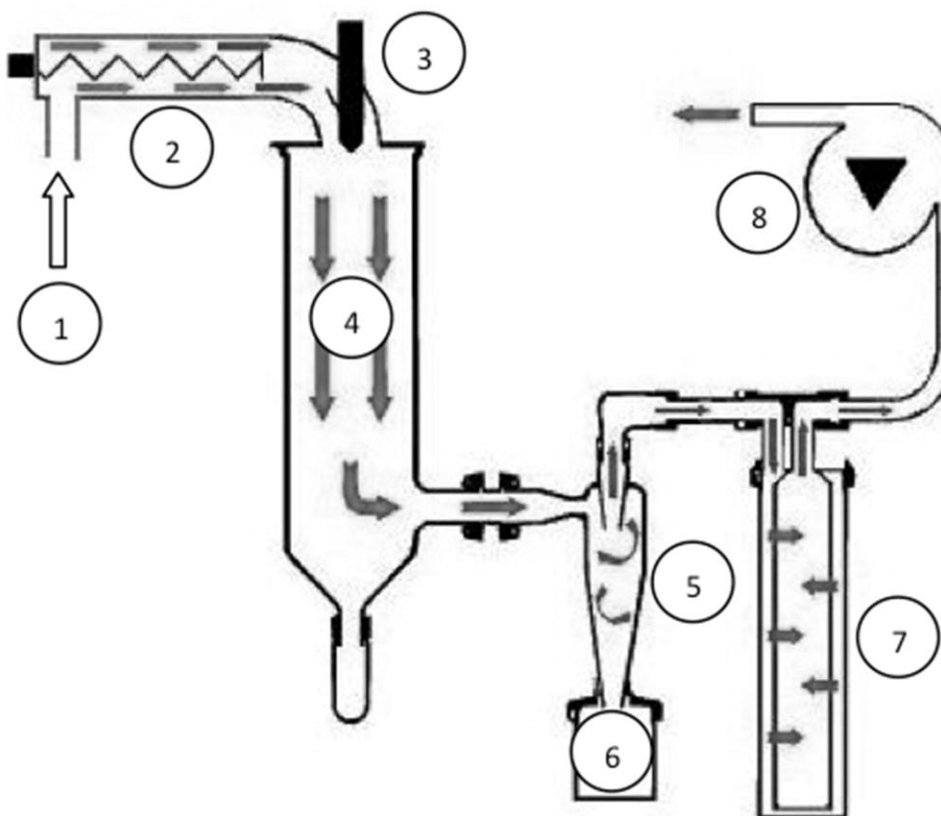


Figura 3.2. Representación esquemática del proceso de secado por aspersión. 1) Entrada de aire, 2) Calefacción eléctrica, 3) Tobera de dos componentes con sistema de depresión, 4) Cámara de secado, 5) Ciclón de separación, 6) Colector de polvos, 7) Filtro de salida, 8) Aspirador de la corriente de aire húmedo.

Un total de 13 experimentos fueron realizados (Tabla 3.2), en un diseño central compuesto de tipo rotatable cuyas variables de análisis fueron temperatura de secado del jugo (160 a 180 °C) y factor de dilución [n] (-2.0 a 2.0), para este diseño se tuvieron como condiciones del

punto central $T_{\text{secado}} = 170\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $n = 0$, este experimento fue realizado con 5 réplicas a fin de estimar el comportamiento y variabilidad del diseño en su totalidad.

Tabla 3.2. Diseño experimental rotatable para el secado de fructanos de *Agave salmiana*

Experimento	T(°C)	Factor de dilución (n)	Factor de Volumen	
			VRF	VDF
1	162.9	-1.41	2.66	-
2	177.1	-1.41	2.66	-
3	162.9	1.41	-	2.66
4	177.1	1.41	-	2.66
5	160.0	0.00	-	1.00
6	180.0	0.00	-	1.00
7	170.0	-2.00	4.00	-
8	170.0	2.00	-	4.00
9	170.0	0.00	-	1.00
10	170.0	0.00	-	1.00
11	170.0	0.00	-	1.00
12	170.0	0.00	-	1.00
13	170.0	0.00	-	1.00

3.3.1. Rendimiento de polvo durante el proceso

Para la determinación del rendimiento del proceso de secado por aspersión, se estimó la cantidad de polvo que se recuperó al final de cada experimento en el recipiente receptor. El rendimiento de polvo se determinó dividiendo el peso de sólidos recuperados entre la cantidad total de sólidos contenidos en el jugo retentado a secar expresado en porcentaje, esta relación está dada por la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{g de sólidos recuperados}}{\text{g de sólidos en jugo a secar}} * 100 \quad \text{Ec. 2.2}$$

Así mismo, se realizó la estimación del rendimiento global de polvo en función del jugo crudo utilizado para la preparación de la muestra nanofiltrada realizando la conversión de jugo retentado con respecto a jugo crudo.

Para NF-concentración:

$$\frac{g_{polvo}}{L_{jugo\ crudo}} = \frac{g\ de\ sólidos\ recuperados * 1000}{Volumen_{jugo\ retentado} * VRF} \quad Ec. 2.3$$

Para NF-diafiltración:

$$\frac{g_{polvo}}{L_{jugo\ crudo}} = \frac{g\ de\ sólidos\ recuperados * 1000}{Volumen_{jugo\ retentado}} \quad Ec. 2.4$$

3.3.2. Evaluación del contenido de humedad en polvo

El contenido de humedad fue determinado mediante el secado de los polvos a 50 °C y 18 mm Hg de presión de vacío, hasta un peso constante y expresando la humedad contenida en el polvo en términos de porcentaje en base húmeda.

3.4. Determinación del grado de pureza de fructanos en polvo

La determinación de los azúcares (glucosa, fructosa, sacarosa y fructanos) se llevó a cabo en un cromatógrafo Agilent HP serie 1100, (Waldbronn, Alemania), compuesta por un desgasificador, una bomba cuaternaria, un compartimento térmico para la columna y un indicador de índice de refracción.

Como fase estacionaria, fue utilizada una columna Aminex HPX-87C de intercambio iónico (7,8 mm d.i. x 300 mm, Bio-Rad, Hercules, CA), y agua de grado HPLC con un flujo de 0.6 mL/min fue utilizada como la fase móvil. El volumen de la muestra inyectada fue de 20 µL, la temperatura de la columna se mantuvo a 75 °C. El software de la estación Chem HP para Rev LC A. 09. 03 de Agilent (Palo Alto, CA) fue utilizado para el control del sistema y análisis de los resultados. Las referencias de azúcares (glucosa, sacarosa, fructosa) fueron suministrados por Sigma-Aldrich (carbohidratos kit CAR-11); una referencia de fructanos tipo inulina obtenidos a partir de achicoria fue proporcionado por Sigma-Aldrich (079F7105, Alemania) la cual fue utilizada para la construcción de la curva

estándar para la determinación de la concentración de fructanos utilizando los jugos de retentados obtenidos en la etapa de nanofiltración.

3.5. Determinación de temperatura de transición vítrea (T_g) en muestras anhidras

Los experimentos para la determinación de T_g anhidra en fructanos de *Agave salmiana* en polvo se llevaron a cabo utilizando un sistema DSC (DSC Q2000, TA Instruments, Lukens Drive, New Castle, DE), equipado con un sistema de refrigeración RCS90, que permite la operación del sistema DSC sobre la temperatura en un rango de -80 a 600 °C y el software Universal Analysis 2000 para la programación automática de la prueba. La precisión de la temperatura DSC y sensibilidad eran ± 0.18 °C y 0.2 mW, respectivamente. La calibración de la línea base fue realizada utilizando una celdilla de aluminio Tzero vacía (TA Instruments) usando indio (In) como referencia.

Los experimentos se llevaron a cabo por triplicado en una atmósfera inerte usando N_2 ultra puro (grado 5.0, pureza de 99.999%) a un flujo de 50 mL/min. Las muestras de alrededor de 6-8 mg se pesaron con precisión en celdillas de aluminio Tzero (TA Instruments) no herméticas, fue utilizada como referencia una celda de aluminio vacía, el programa calorimétrico utilizado para el análisis de las muestras se puede ver en la Figura 3.3.

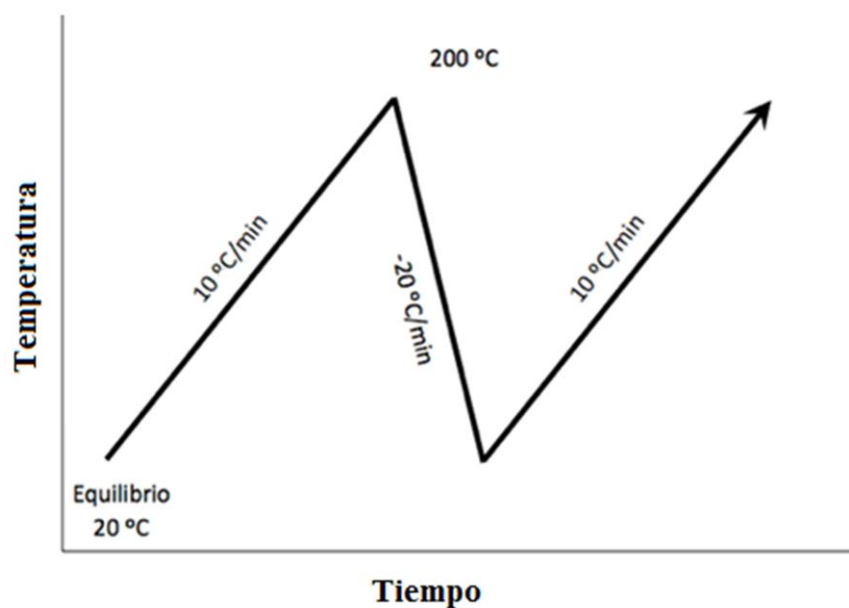


Figura 3.3. Protocolo calorimétrico para la formación de estructuras amorfas a partir de fructanos de *Agave salmiana* en polvo y determinación de T_g .

Las muestras se equilibraron en el DSC a 20 °C, posteriormente los fructanos se calentaron a 10 °C/min hasta 200 °C y después se realizó un enfriamiento a 20 °C/min hasta llegar a 20 °C con el fin de lograr el estado amorfo rápidamente y poder visualizar la transición vítrea en el enfriamiento (T_{gC}). Finalmente, los fructanos amorfos fueron recalentados a 10 °C/min hasta 200 °C para la determinación de la transición vítrea en el calentamiento (T_{gH}). Los valores de la temperatura de transición vítrea (T_g) fueron reconocidos como un cambio de paso del flujo de calor en el termograma DSC usando software Universal Analysis 2000, versión 4.4A.

3.6. Análisis de datos

Los datos experimentales fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) con el Design Expert 7.0.0. El método de regresión múltiple fue usado para ajustar los datos experimentales a un modelo polinomial con interacciones con un intervalo de confianza del 95% ($p < 0.05$) Ajustado a la ecuación:

$$y = \beta_0 + \beta_1 T + \beta_2 n + \beta_3 T \cdot n + \beta_4 T^2 + \beta_5 n^2 + \beta_6 T^2 \cdot n + \beta_7 T \cdot n^2 \quad \text{Ec. 3.5}$$

Donde y es la variable de respuesta (Rendimiento del secado, rendimiento global, % de humedad, % de pureza, T_{gC} y T_{gH}) y β_i ($i=0, 1, \dots, 7$) son los coeficientes de regresión del modelo, T es la temperatura de entrada durante el secado por aspersión y n es el factor de dilución ajustado de los factores de volumen de los modos de operación (NF-concentración y NF-diafiltración) durante el proceso de nanofiltración.

La ecuación 3.5 toma en cuenta todos los efectos e interacciones disponibles entre las variables temperatura de secado (T) y factor de dilución (n) de acuerdo al diseño de experimentos establecido. Sin embargo, en la mayoría de los casos, cuando se lleva a cabo el ANOVA, solo algunos factores resultan significativos; lo que repercute en la eliminación de los términos con efecto no significativo. De esta manera es posible obtener un modelo reducido y más simple al utilizar la técnica de depuración hacia atrás (backward) para cada modelo propuesto.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 4.1 se muestran los resultados experimentales obtenidos de acuerdo al diseño experimental propuesto para el secado de las muestras de jugo de *Agave salmiana*. En esta tabla es posible visualizar el rendimiento de polvo por proceso de secado, el rendimiento global por litro de jugo de agave, porcentaje de humedad en los polvos, grado de pureza en fructanos y temperatura de transición vítrea (T_g) del producto obtenido.

Tabla 4.1. Resultados experimentales (Rendimiento de proceso, rendimiento global, % humedad, % pureza y temperatura de transición vítrea (T_g)) obtenidos en las muestras de polvo de fructanos de jugo de *Agave salmiana* nanofiltrado y secado por aspersión.

No Exp.	T_{secado} (°C)	Factor de dilución (n)	Rendimiento		Humedad (%)	Pureza (%)	Temperatura de transición vítrea	
			Proceso (% recuperación)	Golbal $\text{g}_{\text{polvo}}/\text{L}_{\text{jugo}}$			T_g C (°C)	T_g H (°C)
1	162.9	-1.41	54.27	41.93	2.37 ±0.0	92.9 ±0.3	121.1 ±0.2	127.1 ±0.8
2	177.1	-1.41	52.53	40.33	1.58 ±0.3	92.3 ±0.3	122.5 ±0.1	125.2 ±1.2
3	162.9	1.41	68.11	78.78	3.95 ±0.1	90.6 ±1.8	128.1 ±3.4	131.8 ±4.0
4	177.1	1.41	60.61	70.71	2.23 ±0.2	90.7 ±2.5	136.2 ±0.4	137.8 ±0.4
5	160.0	0	55.80	71.79	5.67 ±0.8	88.7 ±4.9	133.7 ±0.1	135.4 ±0.0
6	180.0	0	54.27	71.81	0.93 ±0.2	87.3 ±1.7	132.7 ±0.0	134.6 ±0.8
7	170.0	-2	42.60	28.33	1.20 ±0.0	99.1 ±0.3	131.4 ±0.7	135.4 ±0.5
8	170.0	2	75.10	67.34	3.19 ±0.1	96.4 ±0.7	132.8 ±2.0	135.7 ±3.0
9	170.0	0	59.37	78.37	2.42 ±0.0	89.4 ±1.4	126.5 ±2.0	129.2 ±2.3
10	170.0	0	57.88	76.21	3.04 ±0.2	92.7 ±0.4	129.8 ±2.4	132.2 ±2.7
11	170.0	0	57.33	73.39	2.92 ±0.2	91.1 ±2.4	129.8 ±1.3	132.0 ±0.9
12	170.0	0	57.29	73.91	2.70 ±0.1	92.4 ±0.7	121.5 ±3.2	125.5 ±0.7
13	170.0	0	57.49	73.97	3.17 ±0.1	92.4 ±0.9	123.2 ±5.0	126.8 ±3.9

En esta tabla, se puede observar que el rendimiento del proceso de secado oscila entre el 42.60% y el 75.10% con humedades inferiores al 5.67%; característica adecuada para productos en polvo. Las purezas de la mayoría de los productos resultaron cercanas y superiores al 90% (máxima pureza del 99.15%) con valores de T_g superiores a 125.20°C.

4.1. Nanofiltración de jugo de *Agave salmiana*

La Figura 4.1 muestra que el proceso de NF en celda agitada puede ser utilizado para separar moléculas de interés para este estudio, lo cual permitió obtener un retentado con alto contenido de fructanos. Los valores de retención de fructanos varían desde 8.97 hasta 13.40 g/100 mL de jugo retentado cuando la celda de filtrado fue operada en modo NF-diafiltración y de 22.28 a 27.63 g/100 mL de jugo retentado cuando esta fue operado en el modo NF-concentración.

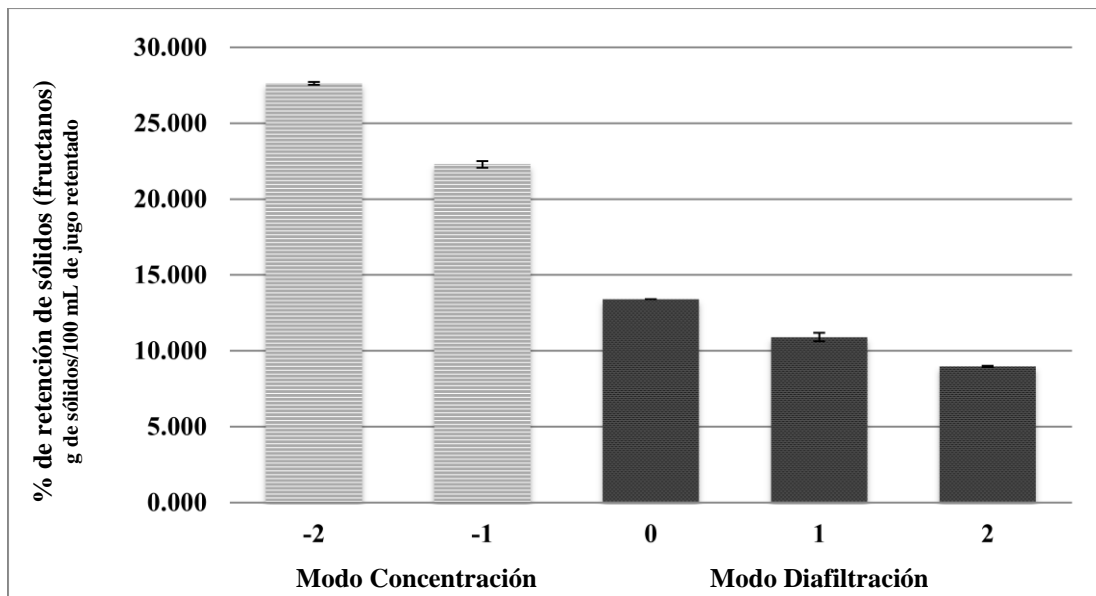


Figura 4.1. Variación en la retención de fructanos en jugo de agave nanofiltrado en función del factor de dilución

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre los modos de operación de la celda de nanofiltración así como en todos los niveles del factor de dilución. Fue determinado que para el modo de NF-concentración, cuanto menor es el nivel del factor de dilución mayor es la retención de fructanos, se observó que la máxima retención fue obtenida a $n = -2$ ($VRF = 4$), no obstante, no fue posible llevar los experimentos a niveles de dilución inferiores por cuestiones técnicas del proceso (la membrana de separación ya no permitió el paso de permeado), mientras que el efecto opuesto fue encontrado en el modo diafiltración con un aumento del factor de dilución hasta $n = 2$ ($VDF = 4$).

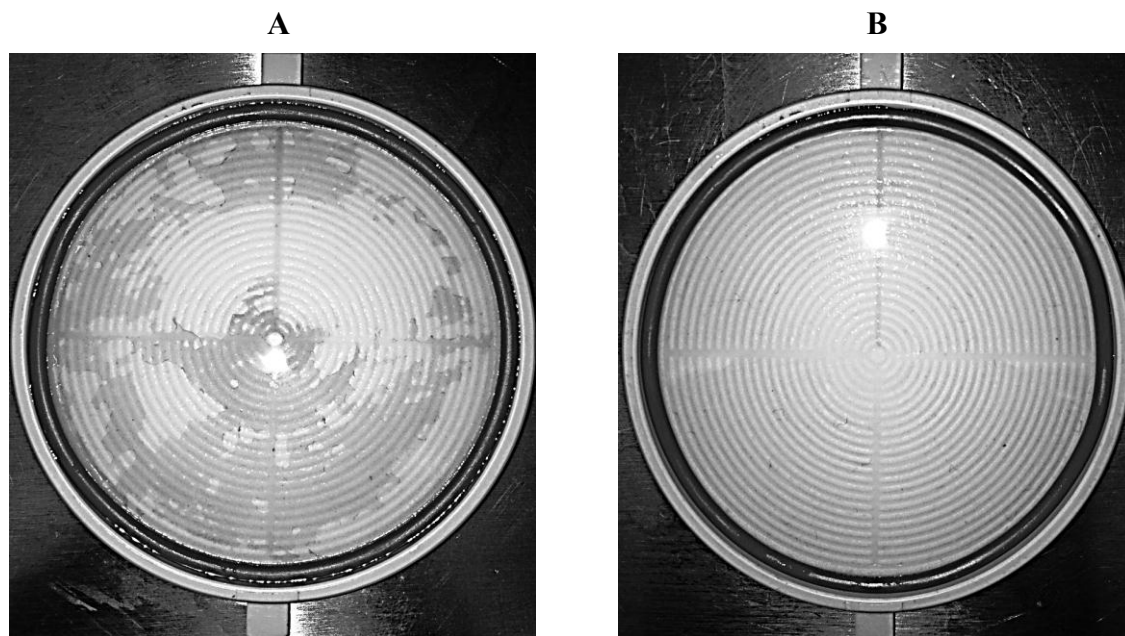


Figura 4.2. Formación de residuos sobre la membrana de nanofiltrado en distintos modos de operación A) NF a $n = -2$ ($VRF = 4$); B) NF a $n = 2$ ($VDF = 4$).

De modo complementario, fue observada diferencia entre los modos de nanofiltrado sobre la formación de capa de residuos o *fouling* (Figura 4.2). La capa presente en la membrana para el modo de NF-concentración representó el 8.04% de sólidos presentes en el jugo de agave crudo, mientras que para el modo NF-diafiltración esta capa representó solo el 0.69% de sólidos totales. La reducción de la capa *fouling* en diafiltración puede relacionarse directamente a la disminución en la concentración de sólidos en el jugo retentado, facilitando así el proceso de paso de permeado a través de la membrana.

4.2. Obtención de fructanos en polvo mediante secado por aspersión

Algunos ejemplos de los polvos de fructanos obtenidos en el proceso de secado por aspersión pueden ser observados en la Figura 4.3. Este producto puede ser descrito como un polvo blanco sin tonalidad café, característica común en polvos de fructanos obtenidos mediante el uso de agentes acarreadores. Es importante destacar que las propiedades de estos polvos fueron adecuadas para lo esperado en un producto obtenido mediante secado por aspersión.

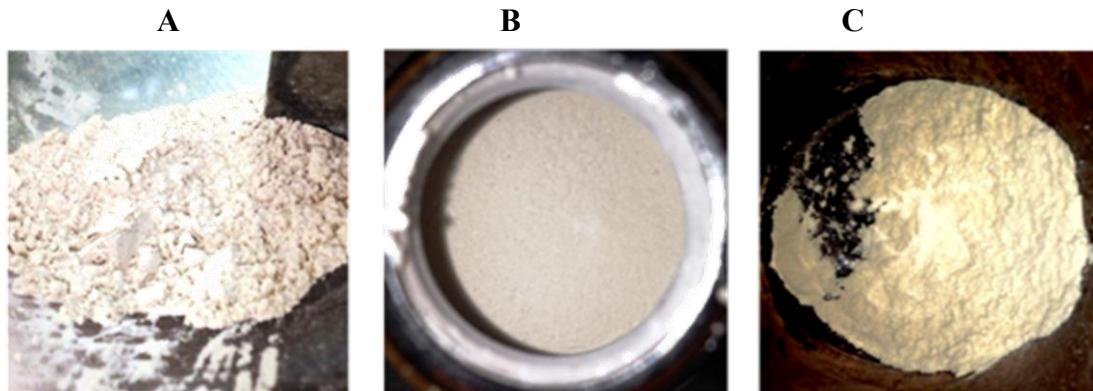


Figura 4.3. Polvo de fructanos obtenido en secado por aspersión y NF de jugo de *Agave salmiana* operado con: A) $n = 2$ (VDF = 4); B) $n = 0$ (VDF = 1); y C) $n = -2$ (VRF = 4).

En los procesos de secado por aspersión, principalmente en jugos de vegetales, se requiere del uso de agentes acarreadores o coadyuvantes para permitir la factibilidad del proceso y así mismo tener rendimientos adecuados para el proceso. Estudios previos como el de **Moreno-Vilet *et al.*, (2010)**, mostraron que el uso de maltodextrinas y goma arábica pueden hacer posible el secado de jugo de *Agave salmiana*. En el presente estudio, fue demostrada la factibilidad del secado de jugo sin el uso de aditivos que comprometan la calidad (pureza) del producto final. La aplicación de la nanofiltración y el secado por aspersión permitieron obtener productos en polvo con baja humedad, con un rendimiento máximo aceptable (alrededor del 75% de recuperación) en comparación con los rendimientos obtenidos utilizando coadyuvantes (alrededor del 70% de recuperación) y con purezas elevadas en el producto final.

4.2.1. Rendimiento del proceso de secado

El rendimiento del proceso fue determinado para cada experimento del plan experimental de secado por aspersión y nanofiltración de jugo de agave mostrado en la Tabla 3.2. El rendimiento de secado fue establecido como la relación de polvo recuperado en el colector de polvos con respecto a los sólidos totales que contenía la muestra a secar (jugo retentado de la NF), descartando todo el producto que pudiera quedarse en el ciclón o la cámara de secado durante el proceso.

Se encontró que la recuperación para el proceso varió desde 42.59 hasta 75.10%. Utilizando el modelo cuadrático propuesto mediante el análisis estadístico de los resultados para esta variable, se observa que los mejores rendimientos se obtuvieron con valores de n mayores a 0 (NF-diafiltración). Es posible apreciar la superficie de respuesta derivada de este modelo, donde se observan los efectos de la temperatura de secado y el factor de dilución (Figura 4.4) ajustados a la ecuación (coeficientes decodificados para todos los modelos):

$$\begin{aligned} \% \text{ Recuperación} = & - 470.3408 + 6.2909 T - 2424.7548 n + 28.7663 T \cdot n & \text{Ec. 4.1} \\ & - 0.0187 T^2 + 21.7423 n^2 - 0.08503 T^2 \cdot n - 0.1250 T \cdot n^2 \end{aligned}$$

Para la construcción de este modelo, se puede visualizar el efecto significativo de las variables en la Tabla 4.2; los efectos con mayor significancia para el modelo son el factor de dilución (n) y la interacción cuadrática de temperatura con factor de dilución ($T^2 \cdot n$); es decir, durante el proceso de secado de jugo de agave, la nanofiltración presenta un efecto lineal sobre el rendimiento de polvo recuperado, mientras que la temperatura muestra un efecto cuadrático dependiente de su interacción con la nanofiltración ($r^2 = 0.9850$).

Esto puede apreciarse en la Figura 4.4, donde los valores de rendimiento presentan una tendencia de aumento con respecto al factor de dilución, mostrando que valores de factor de dilución negativos (modo de NF-concentración) tienen un rendimiento inferior con respecto a valores de factor de dilución positivos (modo de NF-diafiltración). Esto puede estar relacionado directamente a la concentración de sólidos en el jugo a secar, ya que como puede observarse en la Figura 4.1, existe una relación inversamente proporcional entre el valor del factor de dilución (n) y el contenido de sólidos en el jugo de agave nanofiltrado, lo que repercute en una mayor eficiencia en el proceso de secado cuando la alimentación (jugo retentato) presenta una menor cantidad de sólidos.

Sin embargo, el efecto de la temperatura de secado muestra un comportamiento variable para los distintos modos de NF. Debido a la interacción $T^2 \cdot n$, se puede observar que el efecto de la temperatura para valores altos de n (NF-diafiltración) es cuadrático con un máximo rendimiento de proceso, mientras que para valores bajos de n (NF-concentración) la temperatura presenta un efecto cuadrático con un rendimiento mínimo.

Tabla 4.2. Análisis de varianza (ANOVA) y coeficientes de regresión del modelo estadístico para recuperación de polvo de fructanos en el proceso de secado por aspersión.

Fuente	Suma de Cuadrados	G.L.	Media de Cuadrados	Valor F	Valor de probabilidad
Modelo	694.0152	7	99.1450	47.0215	0.0003
T	1.1730	1	1.1730	0.5563	0.4893
n	528.4293	1	528.4293	250.6179	< 0.0001
Tn	8.3131	1	8.3131	3.9426	0.1038
T²	6.0997	1	6.0997	2.8929	0.1497
n²	6.5837	1	6.5837	3.1224	0.1375
T²n	72.3023	1	72.3023	34.2908	0.0021
Tn²	6.2535	1	6.2535	2.9658	0.1457
Residual	10.5425	5	2.1085		
Desajuste	7.5161	1	7.5161	9.9339	0.0345
Error	3.0265	4	0.7566		
Correlación	704.5577	12			

Factor	Estimación del coeficiente	G.L.	Error estandar	95% IC menor	95% IC mayor	FIV
Intercepción	57.8739	1	0.6494	56.2046	59.5432	
T	-0.5415	1	0.7260	-2.4079	1.3248	2
n	11.4938	1	0.7260	9.6275	13.3601	2
Tn	-1.4416	1	0.7260	-3.3080	0.4247	1
T²	-0.9364	1	0.5505	-2.3516	0.4788	1.0173
n²	0.9728	1	0.5505	-0.4424	2.3881	1.0173
T²n	-6.0126	1	1.0268	-8.6520	-3.3732	2
Tn²	-1.7683	1	1.0268	-4.4076	0.8711	2
Desv. Std.	1.4521		R²	0.9850		
Media	57.8963		R² ajustada	0.9641		

T = temperatura de secado; n = factor de dilución durante nanofiltrado; G.L. = grados de libertad; F = valor de Fisher. IC = intervalo de confianza; FIV = Factor de inflación de varianza.

NOTA: Los valores en negrita indican que el parámetro correspondiente tiene efecto significativo en la propiedad evaluada. Los valores en cursiva son términos que se presentan por orden de jerarquía en el modelo pero no tienen valor significativo.

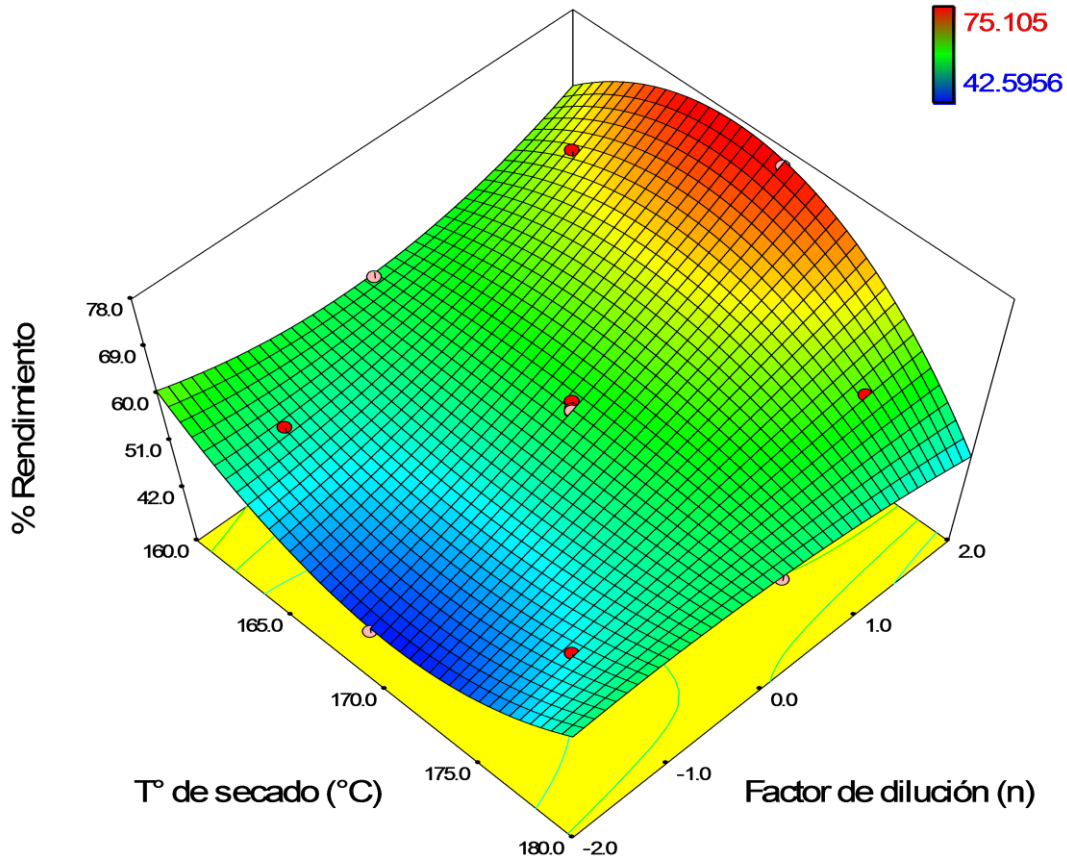


Figura 4.4. Variación del rendimiento de proceso (% de recuperación de polvo) en función de la temperatura de secado (T°) y el factor de dilución en nanofiltración (n) para el secado de jugo de *Agave salmiana*.

El máximo rendimiento que se puede obtener para jugo tratado mediante NF-diafiltración es de 77.06% a $n = 2$ ($VDF = 4$) y $T_{\text{secado}} = 167.71$ °C. Mientras que para jugo tratado con NF-concentración, los rendimientos pueden llegar a ser de hasta 61.58% a $n = -2$ ($VRF = 4$) y $T_{\text{secado}} = 160$ °C, con un mínimo del 43.43% a $n = -2$ ($VRF = 4$) y $T_{\text{secado}} = 170.95$ °C (Condiciones estimadas mediante uso del modelo).

4.2.2. Rendimiento global de fructanos en polvo

De manera adicional al rendimiento del proceso de secado, fue realizado un análisis del rendimiento global de los fructanos en polvo obtenidos, en función de la cantidad de jugo

utilizado para su elaboración, esto debido a que durante los procesos de nanofiltración los volúmenes de jugo retentado cambian para el modo NF-concentración. Por ello mismo, se realizó el ajuste de la cantidad de polvo obtenido durante cada secado en función del volumen de jugo crudo mediante las ecuaciones 2.3 y 2.4.

Los resultados muestran una variación significativa para el rendimiento global con respecto al la variación del factor de dilución (n) y la temperatura de secado (T). La cantidad de polvo de fructanos obtenida en el diseño experimental varió desde 28.33 hasta 78.78 $\text{g}_{\text{fructanos}}/\text{L}_{\text{jugo de agave crudo}}$. El modelo cuadrático propuesto se reajustó mediante el uso de una transformada del inverso cuadrado de los resultados ($r^2 = 0.9984$) como se muestra a continuación:

$$\frac{1}{\sqrt{\frac{\text{g}_{\text{fructanos}}}{\text{L}_{\text{jugo}}} + 1}} = \frac{1}{(0.7993 - 0.0081 T + 1.1915 n - 0.0143 T \cdot n + 0.000024 T^2 - 0.0178 n^2 + 0.000042 T^2 \cdot n + 0.00016 T \cdot n^2)^2 + 1} \quad \text{Ec. 4.2}$$

El modelo propuesto se ajustó a los datos eperimentales y se obtuvieron los coeficientes presentados en la Tabla 4.3; en ella se puede visualizar que el factor de dilución (n) presenta alta significancia en el rendimiento global, con efecto de tipo lineal y cuadrático sobre la superficie de respuesta (Figura 4.5). Así mismo, la interacción cuadrática de la temperatura con dependencia del factor de dilución ($T^2 \cdot n$) ofrece también efecto significativo en el modelo.

El modelo de rendimiento global de fructanos de agave, muestra que el contenido de polvo recuperado por litro de jugo disminuye cuando se trabaja en modo NF-concentración ($n < 0$). Para este modo de operación, la temperatura de secado presenta un mínimo efecto sobre el rendimiento que incluso puede ser despreciado. Se encontró en los resultados que la cantidad de polvo producido por litro de jugo de agave disminuye conforme aumenta el valor de VRF durante procesos de concentración. La máxima cantidad de polvo que puede obtenerse en este modo de operación es de aproximadamente 53 $\text{g}_{\text{fructanos}}/\text{L}_{\text{jugo agave crudo}}$ utilizando un factor de dilución $n = -1$ ($\text{VRF} = 2$).

Tabla 4.3. Análisis de varianza (ANOVA) y coeficientes de regresión del modelo estadístico para rendimiento global de fructanos por litro de jugo de *Agave salmiana* procesado.

Fuente	Suma de Cuadrados	G.L.	Media de Cuadrados	Valor F	Valor de probabilidad
Modelo	0.00610	7	0.0009	432.4413	< 0.0001
T	0.0000	1	0.0000	0.0001	0.9942
n	0.0020	1	0.0020	1006.9858	< 0.0001
Tn	0.0000	1	0.0000	1.2685	0.3112
T²	0.0000	1	0.0000	4.8431	0.0790
n²	0.0025	1	0.0025	1245.2112	< 0.0001
T²n	0.0000	1	0.0000	8.8597	0.0309
Tn²	0.0000	1	0.0000	5.1274	0.0730
Residual	0.0000	5	0.0000		
Desajuste	0.0000	1	0.0000	0.1679	0.7030
Error	0.0000	4	0.0000		
Correlación	0.0061	12			

Factor	Estimación del coeficiente	G.L.	Error estandar	95% IC menor	95% IC mayor	FIV
Intercepción	<i>0.1146</i>	1	<i>0.0006</i>	<i>0.1130</i>	<i>0.1162</i>	
T	-5.407E-06	1	0.0007	-0.0018	0.0018	2
n	-0.0225	1	0.0007	-0.0243	-0.0207	2
Tn	0.0008	1	0.0007	-0.0010	0.0026	1
T²	0.0012	1	0.0005	-0.0002	0.0026	1.0173
n²	0.0190	1	0.0005	0.0176	0.0204	1.0173
T²n	0.0030	1	0.0010	0.0004	0.0056	2
Tn²	0.0023	1	0.0010	-0.0003	0.0049	2

Desv. Std.	0.0014	R²	0.9984
Media	0.1270	R² ajustada	0.9960

T = temperatura de secado; n = factor de dilución durante nanofiltrado; G.L. = grados de libertad; F = valor de Fisher. IC = intervalo de confianza; FIV = Factor de inflación de varianza.

NOTA: Los valores en negrita indican que el parámetro correspondiente tiene efecto significativo en la propiedad evaluada. Los valores en cursiva son términos que se presentan por orden de jerarquía en el modelo pero no tienen valor significativo.

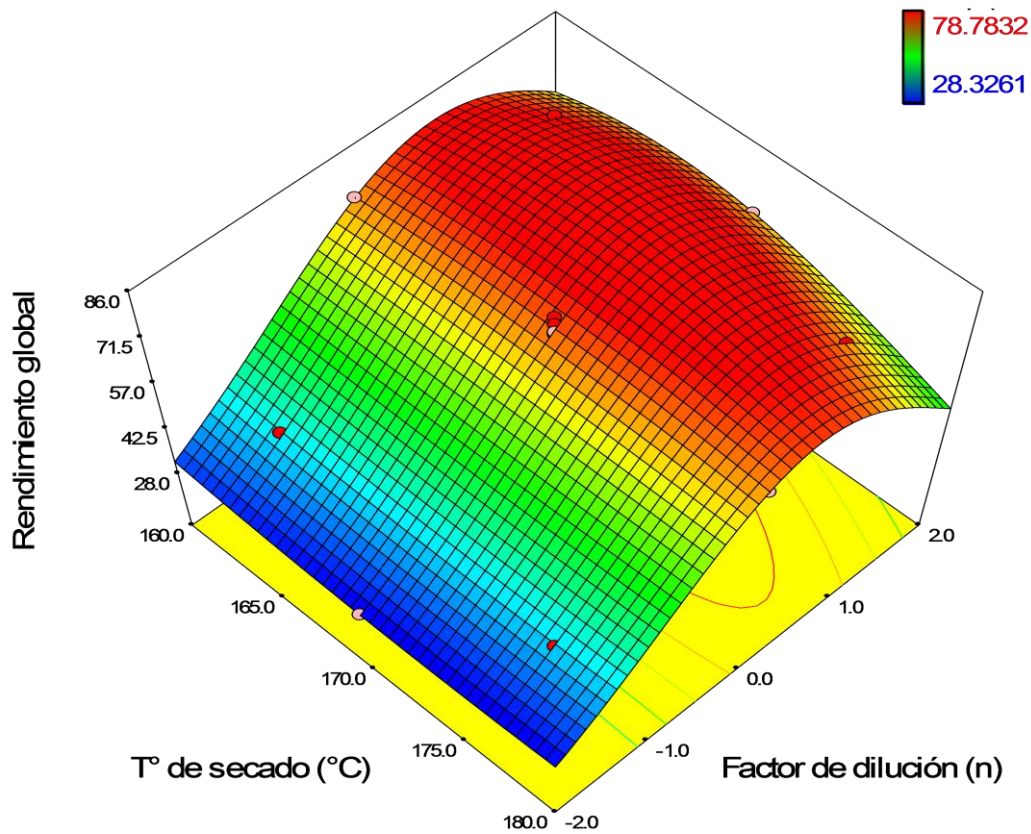


Figura 4.5. Variación del rendimiento global de fructanos en polvo (gramos de polvo por litro de jugo crudo de agave) en función de la temperatura de secado (T°) y el factor de dilución en nanofiltración (n) para el secado de jugo de *Agave salmiana*.

Para el modo de NF-diafiltración ($n \geq 0$) el mínimo rendimiento que se obtuvo en los experimentos fue de $52.332 \text{ g}_{\text{fructanos}}/\text{L}_{\text{jugo agave crudo}}$ utilizando $n = 2$ ($\text{VDF} = 4$) y $T_{\text{secado}} = 180$ °C, mientras que el mayor rendimiento se obtiene en un máximo local para el modelo propuesto con un valor de $87.072 \text{ g}_{\text{fructanos}}/\text{L}_{\text{jugo agave crudo}}$ con $n = 0.8625$ ($\text{VDF} = 1.818$) y $T_{\text{secado}} = 168.439$ °C. Este resultado es de importancia porque permite conocer el mayor rendimiento posible dentro de los límites de las condiciones impuestas para el tratamiento del jugo de agave. Esta información sin embargo; debe ser cotejada con los resultados de humedad, % de pureza y temperatura de transición vítrea del material, con el fin de conocer las características fisicoquímicas que puede presentar el polvo bajo las mejores condiciones de operación propuestas por el modelo de rendimiento global.

4.2.3. Contenido de humedad

Para los polvos obtenidos, fue observado que el contenido de humedad en el polvo varió experimentalmente desde 0.93 hasta 5.67%. En base a este parámetro, se consideró el producto obtenido como un alimento sólido seco (humedades inferiores al 10%). Como tendencia general, fue observado que los polvos con menor contenido de humedad se obtuvieron en los experimentos llevados a cabo en modo de NF-concentración ($n < 0$) y temperaturas de secado elevadas ($T_{\text{secado}} \approx 180$ °C).

La humedad en los productos alimentarios debe ser considerada debido a que el contenido de agua presente puede participar en diferentes reacciones deteriorativas y favorecer o disminuir el crecimiento microbiano, cambios en la estructura física de los alimentos y variaciones en sus propiedades químicas y organolépticas. De esta manera, los alimentos secos o deshidratados como los productos en polvo deben de tener un contenido de humedad inferior al 10% para que sean estables [Welti *et. al.*, 2002].

En la Tabla 4.4 se observa el análisis estadístico para el % de humedad, puede apreciarse un efecto significativo de la temperatura de secado, de la interacción lineal y cuadrática del factor de dilución (n), así como la interacción entre la temperatura de secado y el cuadrado del factor de dilución ($T \cdot n^2$); cabe destacar que el efecto que tuvo mayor repercusión es la temperatura de secado. El modelo propuesto con una correlación $r^2 = 0.9618$, se ajusta a la siguiente ecuación:

$$\begin{aligned} \% \text{ Humedad} = & 43.2591 - 0.2370 T + 4.3984 n - 0.0233 T \cdot n - 12.8037 n^2 \\ & + 0.0741 T \cdot n^2 \end{aligned} \quad \text{Ec. 4.3}$$

La temperatura de secado mostró un efecto lineal en la variación de la humedad con dependencia del efecto del factor de dilución. La humedad más baja propuesta por el modelo fue de 0.578% bajo las condiciones de $n = -0.1977$ (VRF = 1.1469) y $T_{\text{secado}} = 180$ °C. Se puede observar que los menores valores de humedad se presentan en los experimentos de NF-concentración, mientras que en el modo NF-diafiltración, se tuvo una variación significativa en los valores de contenido de agua en el polvo. Los valores de

humedad máxima para NF-diafiltración ($n \geq 0$) son de 5.461% de humedad y se presentan a $n = 0.3596$ ($VDF = 1.2831$) y $T_{\text{secado}} = 160$ °C.

Tabla 4.4. Análisis de varianza (ANOVA) y coeficientes de regresión del modelo estadístico para % de humedad de fructanos en polvo nanofiltrados de *Agave salmiana*.

Fuente	Suma de Cuadrados	G.L.	Media de Cuadrados	Valor F	Valor de probabilidad
Modelo	17.3583	5	3.4716	35.2232	< 0.0001
T	11.2338	1	11.2338	113.9769	< 0.0001
n	3.1806	1	3.1806	32.2700	0.0008
Tn	0.2162	1	0.2162	2.1938	<i>0.1821</i>
n²	1.1527	1	1.1527	11.6952	0.0111
Tn²	2.1980	1	2.1980	22.3011	0.0022
Residual	0.6899	7	0.0986		
Desajuste	0.3391	3	0.1130	1.2890	0.3925
Error	0.3508	4	0.0877		
Correlación	18.0483	12			

Factor	Estimación del coeficiente	G.L.	Error estandar	95% IC menor	95% IC mayor	FIV
Intercepción	2.9691	1	0.1134	2.7010	3.2372	
T	-1.6758	1	0.1570	-2.0470	-1.3047	2
n	0.6305	1	0.1110	0.3681	0.8930	1
Tn	-0.2325	1	0.1570	-0.6037	0.1387	1
n²	-0.4036	1	0.1180	-0.6826	-0.1245	1
Tn²	1.0483	1	0.2220	0.5234	1.5733	2
Desv. Std.	0.3139		R²	0.9618		
Media	2.7208		R² ajustada	0.9345		

T = temperatura de secado; n = factor de dilución durante nanofiltrado; G.L. = grados de libertad; F = valor de Fisher. IC = intervalo de confianza; FIV = Factor de inflación de varianza.

NOTA: Los valores en negrita indican que el parámetro correspondiente tiene efecto significativo en la propiedad evaluada. Los valores en cursiva son términos que se presentan por orden de jerarquía en el modelo pero no tienen valor significativo.

La presencia de mayor humedad en los polvos obtenidos mediante NF-diafiltración puede estar relacionada al contenido de sólidos y agua presentes en la solución a secar, como se ha expuesto anteriormente (Figura 4.1), el contenido de agua en los jugos nanofiltrados es mayor conforme existe un aumento en el factor de dilución. Se ha establecido que el tamaño de partícula para productos en polvo depende del flujo de alimentación y la presión del aire en la tobera de asperjado [Rodríguez-Labra, 2002].

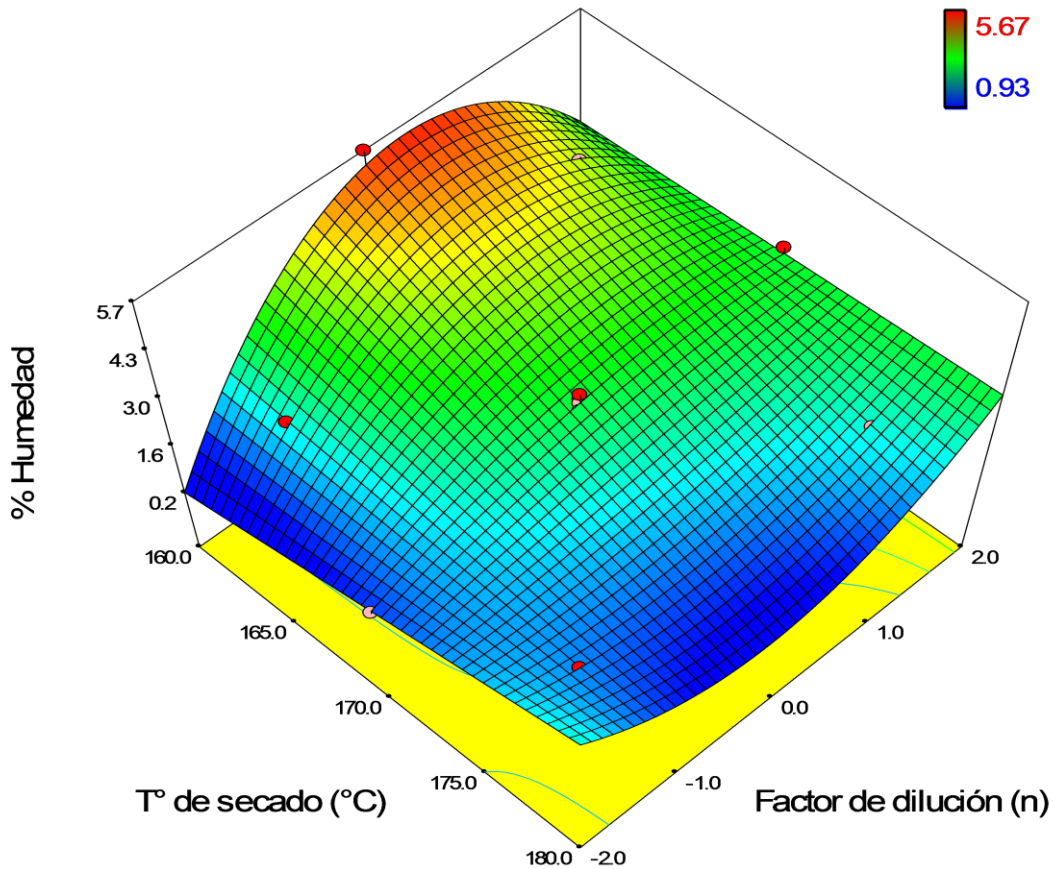


Figura 4.6. Variación del contenido de humedad de fructanos en polvo (gramos de agua por gramos de polvo) en función de la temperatura de secado (T°) y el factor de dilución en nanofiltración (n) para el secado de jugo de *Agave salmiana*.

En el presente estudio, estas condiciones se mantuvieron constantes y el diámetro de gota en el asperjado debió ser constante para todos los experimentos, por lo tanto; muestras con mayor porcentaje de agua inicial requirieron de más energía para que el agua presente

migrara completamente de interior al exterior de la gota, las muestras de NF-diafiltración, con porcentajes de agua entre el 86.6 y el 91.03% retuvieron una mayor cantidad de humedad cuando las temperaturas fueron inferiores. Sin embargo, se debe considerar que las humedades en todos los experimentos fueron inferiores al 6%, indicando que el proceso de secado fue adecuado en todos los casos.

4.3. Grado de pureza de fructanos nanofiltrados en polvo

La determinación del contenido de fructanos mediante HPLC en las muestras de polvo obtenidas, fue considerada de gran importancia para establecer la efectividad en la eliminación de azúcares simples en el proceso de nanofiltración y así mismo, comprender el efecto que tiene la temperatura de secado en los fructanos de *Agave salmiana*. Estudios previos han establecido tiempos de retención en cromatografía para fructanos tipo inulina, fructooligosacáridos, sacarosa, glucosa y fructosa. Esto permite realizar la adecuada cuantificación de estos azúcares al ser los de mayor presencia en jugo de agave (Figura 4.7). Durante el análisis cromatográfico del jugo de agave crudo, fue determinada la concentración de fructanos en $83.71 \pm 0.42\%$ de los azúcares presentes en la muestra; además de presentar residuos elevados de glucosa, fructosa, y sacarosa (Figura 4.8-A).

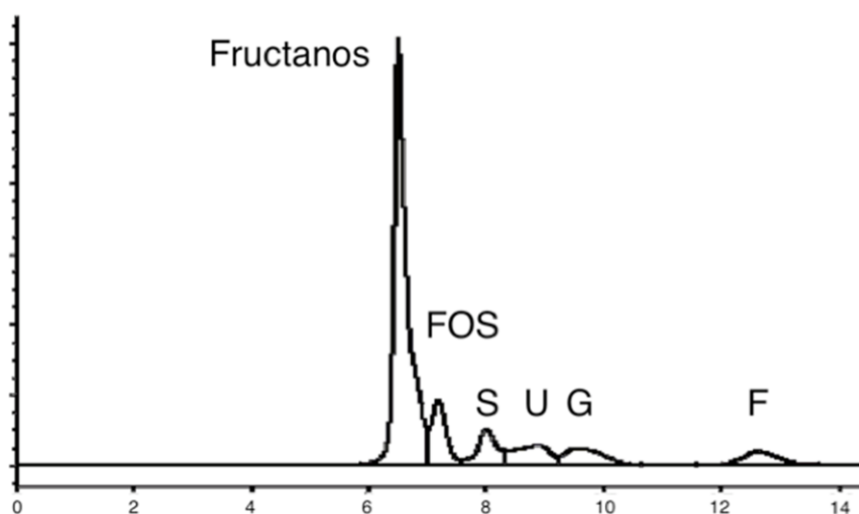
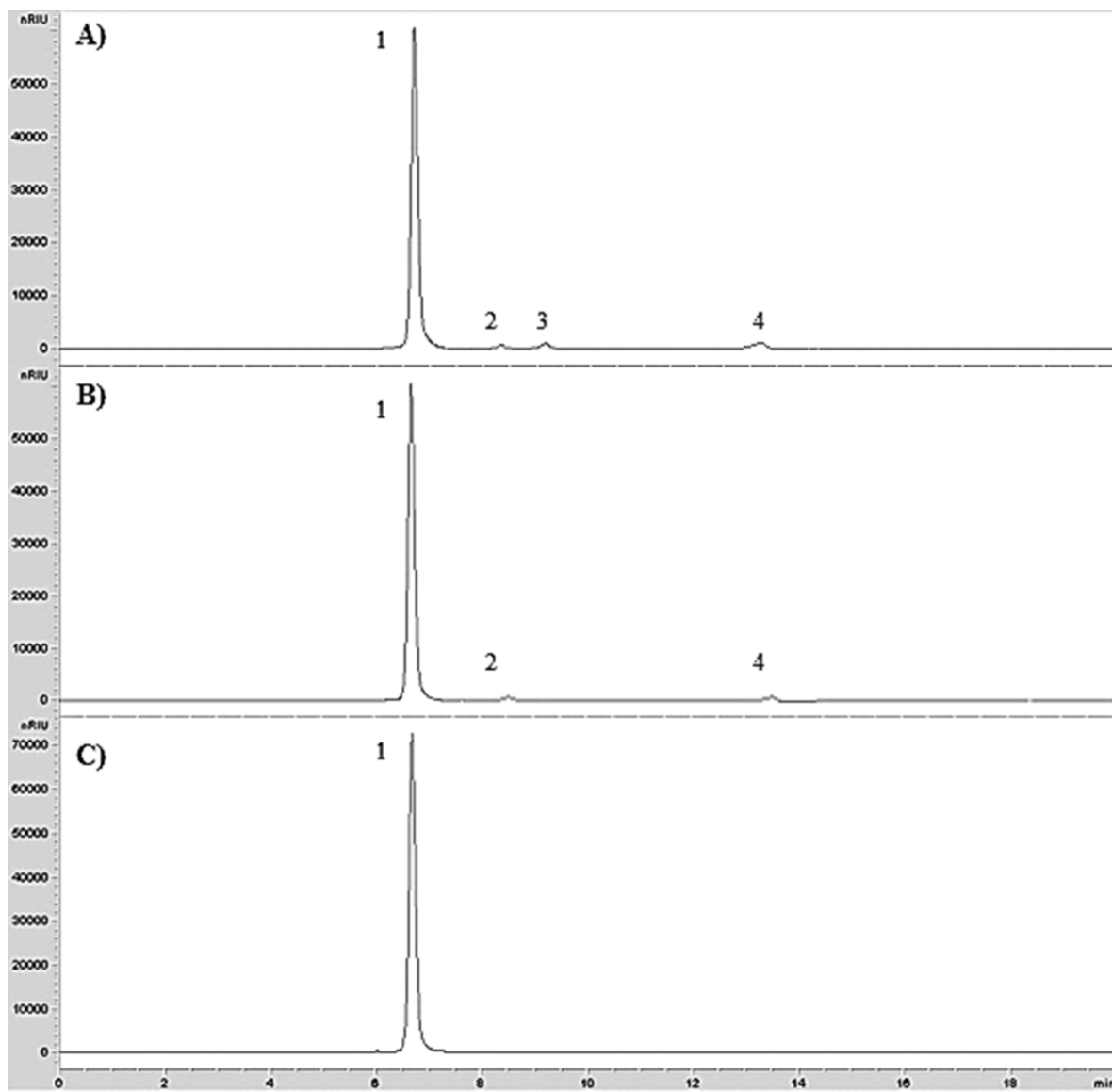


Figura 4.7. Tiempos de retención de azúcares presentes en jugo de *Agave salmiana* (FOS=Fructooligosacáridos, S=Sacarosa, U=desconocido, G=Glucosa, F=Fructosa) [Moreno-Vilet et al., 2010].

En el análisis de las muestras, la máxima pureza en fructanos fue de $99.15 \pm 0.34\%$ para el polvo obtenido mediante NF-concentración a un factor de dilución $n = -2$ (VRF = 4) y $T_{\text{secado}} = 170 \text{ }^\circ\text{C}$ (Figura 4.8-C). El alto grado de pureza indica que bajo estas condiciones se puede tener una separación prácticamente total de los azúcares simples presentes en el jugo de agave.



Identificación de picos: 1. Fructanos tipo inulina, 2. Sacarosa, 3. Glucosa, 4. Fructosa.

Figura 4.8. Cromatogramas para la determinación cualitativa y cuantitativa de fructanos de *Agave salmiana* A) jugo de agave crudo, B) fructanos de agave obtenido en NF-diafiltración ($n = 2$, $T_{\text{secado}} = 170 \text{ }^\circ\text{C}$), C) fructanos de agave obtenido en NF-concentración ($n = -2$, $T_{\text{secado}} = 170 \text{ }^\circ\text{C}$).

Así mismo, el menor grado de pureza en fructanos fue de $87.29 \pm 1.68\%$, para las muestras obtenidas mediante NF-diafiltración a un factor de dilución $n = 0$ ($VDF = 1$) y $T_{\text{secado}} = 180$ °C. Para NF-diafiltración el máximo nivel de separación fue de hasta el $96.38 \pm 0.68\%$ utilizando un factor de dilución $n = 2$ ($VDF = 4$) y $T_{\text{secado}} = 170$ °C; en la Figura 4.8-B es posible observar que durante este proceso aún quedan residuos de sacarosa y fructosa aunque en proporción mucho menores al jugo de agave crudo.

Utilizando el modelo cúbico propuesto mediante el análisis estadístico de los resultados para esta variable, se pueden observar los efectos de la temperatura de secado y el factor de dilución (Figura 4.9) ajustados a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Pureza} = -1070.2630 + 13.7117 T - 0.6892 n - 0.0405 T^2 + 1.4260 n^2 \quad \text{Ec. 4.4}$$

Para este modelo, la Tabla 4.5 indica que la temperatura de secado y el factor de dilución tienen efecto de orden cuadrático en el grado de pureza de los polvos ($r^2 = 0.9098$).

El efecto del factor de dilución (n) muestra un aumento sobre el grado de pureza de los polvos conforme el proceso se aleja del valor $n = 0$, (aumento de VRF y VDF con respecto a su respectivo modo de operación). Debe considerarse en este caso, que el grado de separación resulta más efectivo en el modo NF-concentración que en el modo NF-diafiltración. Es posible que durante la diafiltración, la disminución drástica en el contenido de sólidos de los jugos procesados pueda permitir el paso de fructanos de bajo peso molecular a través de la membrana, así mismo, **Cuartas-Uribe *et al.*, (2009)** han reportado que elevados tiempos de proceso en NF provoca la reticulación de las moléculas alrededor de los poros de la membrana de filtrado y su consecuente ensanchamiento, disminuyendo el grado de retención de diversos solutos de interés.

Por otro lado, la temperatura de secado muestra un comportamiento inverso al efecto del factor de dilución; donde un aumento o disminución de la temperatura con respecto al punto central ($T_{\text{secado}} = 170$ °C) presenta reducción en el grado de pureza de la muestra de fructanos. Esto indica que se puede tener una temperatura óptima de secado cercana a los 170 °C, donde una variación sobre este parámetro pueda provocar modificaciones en las

propiedades de los compuestos e incluso, daño térmico o degradación del componente de interés.

Tabla 4.5. Análisis de varianza (ANOVA) y coeficientes de regresión del modelo estadístico para pureza de fructanos en polvo nanofiltrados de *Agave salmiana*.

Fuente	Suma de Cuadrados	G.L.	Media de Cuadrados	Valor F	Valor de probabilidad
Model	105.57746	4	26.3944	20.1729	0.0003
T	0.8005	1	0.8005	0.6118	<i>0.4566</i>
n	7.5999	1	7.5999	5.8085	0.0425
T²	28.4698	1	28.4698	21.7591	0.0016
n²	56.5837	1	56.5837	43.2463	0.0002
Residual	10.4672	8	1.3084		
Desajuste	3.6943	4	0.9236	0.5455	0.7142
Error	6.7729	4	1.6932		
Correlación	116.0447	12			

Factor	Estimación del coeficiente	G.L.	Error estandar	95% IC menor	95% IC mayor	FIV
Intercepción	91.4260	1	0.5115	90.2464	92.6056	
T	-0.3163	1	0.4044	-1.2489	0.6163	1
n	-0.9747	1	0.4044	-1.9073	-0.0421	1
T²	-2.0230	1	0.4337	-3.0231	-1.0229	1.0173
n²	2.8520	1	0.4337	1.8519	3.8521	1
Desv. Std.	1.1439		R²	0.9098		
Media	91.9362		R² ajustada	0.8647		

T = temperatura de secado; n = factor de dilución durante nanofiltrado; G.L. = grados de libertad; F = valor de Fisher. IC = intervalo de confianza; FIV = Factor de inflación de varianza.

NOTA: Los valores en negrita indican que el parámetro correspondiente tiene efecto significativo en la propiedad evaluada. Los valores en cursiva son términos que se presentan por orden de jerarquía en el modelo pero no tienen valor significativo.

Debe considerarse que a pesar del alto grado de pureza para la muestra $n = -2$ ($VRF = 4$) y $T_{\text{secado}} = 170 \text{ }^{\circ}\text{C}$, el rendimiento de proceso y global es bastante bajo (43.56% de recuperación de polvo, $40.4 \text{ g}_{\text{fructanos}}/\text{L}_{\text{jugo crudo}}$); mientras que para el rendimiento global más alto obtenido durante este estudio ($87.072 \text{ g}_{\text{fructanos}}/\text{L}_{\text{jugo agave crudo}}$ con $n = 0.8625$ y $T_{\text{secado}} = 168.439 \text{ }^{\circ}\text{C}$) el % de pureza sería de 91.864% de fructanos; bajo este criterio debe considerarse cual puede ser el resultado de mayor interés en el trabajo con fructanos de *Agave salmiana*, donde la máxima pureza del producto presenta bajos rendimientos, mientras que el máximo aprovechamiento de este material permite obtener purezas superiores a los productos comerciales (generalmente entre 75 y 80%).

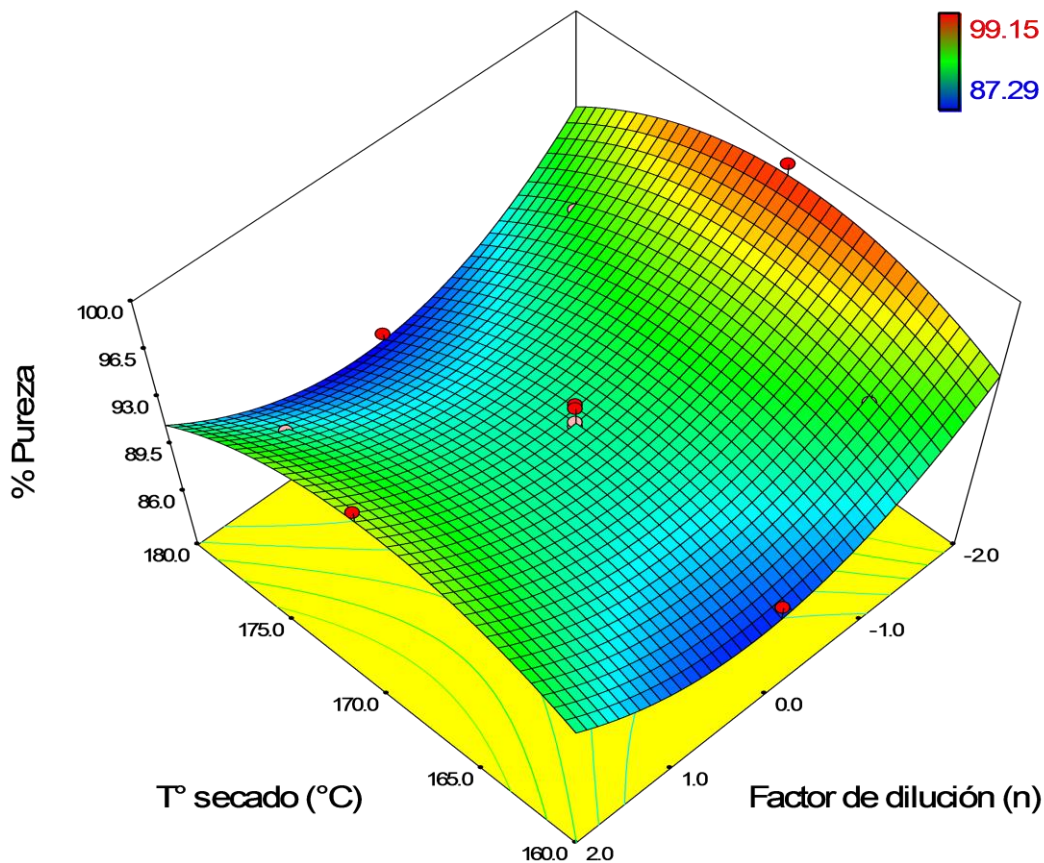


Figura 4.9. Variación del porcentaje de pureza de fructanos en polvo (gramos de fructanos por gramos de polvo) en función de la temperatura de secado (T°) y el factor de dilución en nanofiltración (n) para el secado de jugo de *Agave salmiana*.

4.4. T_g de fructanos de *Agave salmiana*

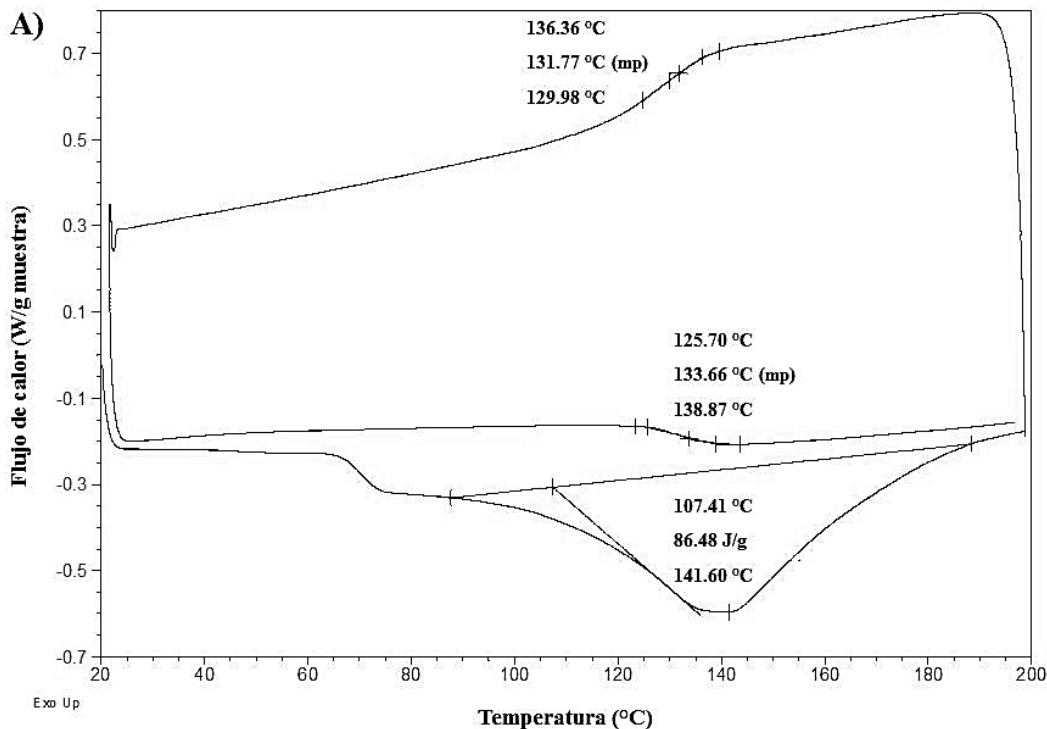
Los termogramas DSC de la Figura 4.10 muestran el proceso completo de calentamiento-enfriamiento-recalentamiento obtenido para los fructanos en polvo obtenidos en este estudio. En el análisis térmico de las muestras fue posible visualizar picos de fusión asociados a la presencia de cristalinidad en los fructanos, esto ya ha sido reportado anteriormente por **Kawai *et al.*, (2010)**. En el cristal, todos los elementos están estrictamente ordenados y el valor del punto de fusión depende de los enlaces e interacciones moleculares que se presentan en el mismo. Si los enlaces son fuertes (enlaces de tipo covalentes), entonces la sustancia se funde a una temperatura alta, pero si los enlaces son débiles (formación de puentes de hidrógeno), la sustancia se funde a una temperatura baja [**Saavedra-Leos *et al.*, 2012**]. La variación y la reducción del punto de fusión observado en estos polímeros (Figuras 4.10-B, C) se pueden atribuir a la formación de sitios de defecto en la estructura ordenada de los cristales promovidas por la presencia de agua (% de humedad) en las muestras.

Se puede observar en la Figura 4.10, que para cada muestra existe sólo una temperatura de transición vítrea bien definida durante el enfriamiento (T_{g c}) y recalentamiento (T_{g H}), confirmando el alto grado de pureza (> 90%) en las muestras analizadas. El rango de temperatura de transición vítrea durante el enfriamiento fue en general, ligeramente más amplio (14.63 °C) al observado durante el recalentamiento (12.57 °C); así mismo, los valores de T_{g H} fueron ligeramente superiores a los valores de T_{g c} (Tabla 4.1). La diferencia entre las velocidades de enfriamiento y calentamiento utilizadas, y la aparición de la transición vítrea en un lapso de temperatura, probablemente contribuyeron a la diferencia entre T_{g c} y T_{g H}.

Hay que destacar que aunque la velocidad de enfriamiento (20 °C/min) fue dos veces más rápida que la velocidad de recalentamiento (10 °C/min), los valores del *midpoint* (punto intermedio donde ocurre la transición vítrea) de T_{g H} obtenidos durante el calentamiento fueron en promedio de 2.65 °C más altos que el *midpoint* T_{g c} medido durante el enfriamiento. En análisis térmicos para la determinación de transiciones de segundo orden, velocidades de enfriamiento y calentamiento idénticas pueden ser utilizadas, sin embargo, se requiere un enfriamiento lo suficientemente rápido del material para evitar la formación

de un estado de equilibrio cristalino. Basándose en estas observaciones, se puede considerar que los fructanos en estado vítreo (después del primer calentamiento) experimentaron transición vítrea bidireccional sin variación significativa, el *midpoint* de $T_{g\ c}$ y el *midpoint* de $T_{g\ H}$ se encuentran en el mismo rango de temperatura y los análisis estadísticos indican que estas temperaturas son prácticamente iguales.

También se ha señalado en la literatura, que las transiciones vítreas a menudo se extienden sobre un gran rango de temperatura debido a una amplia distribución de los tiempos de relajación o a las transiciones no resueltas que corresponden a los diferentes componentes, así como a la heterogeneidad del peso molecular del componente analizado [Le Meste *et al.*, 2002] siempre que no exista agua libre disponible que provoque un efecto plastificante en el material. De acuerdo a los termogramas de DSC, que se muestran en la Figura 4.10, no se observó ninguna evidencia de la formación de hielo durante el enfriamiento y no se observaron picos de fusión asociados a la fusión del hielo durante el proceso de recalentamiento, esto permite asegurar la ausencia de agua libre y una pérdida completa de la estructura cristalina en los polvos de fructanos de agave.



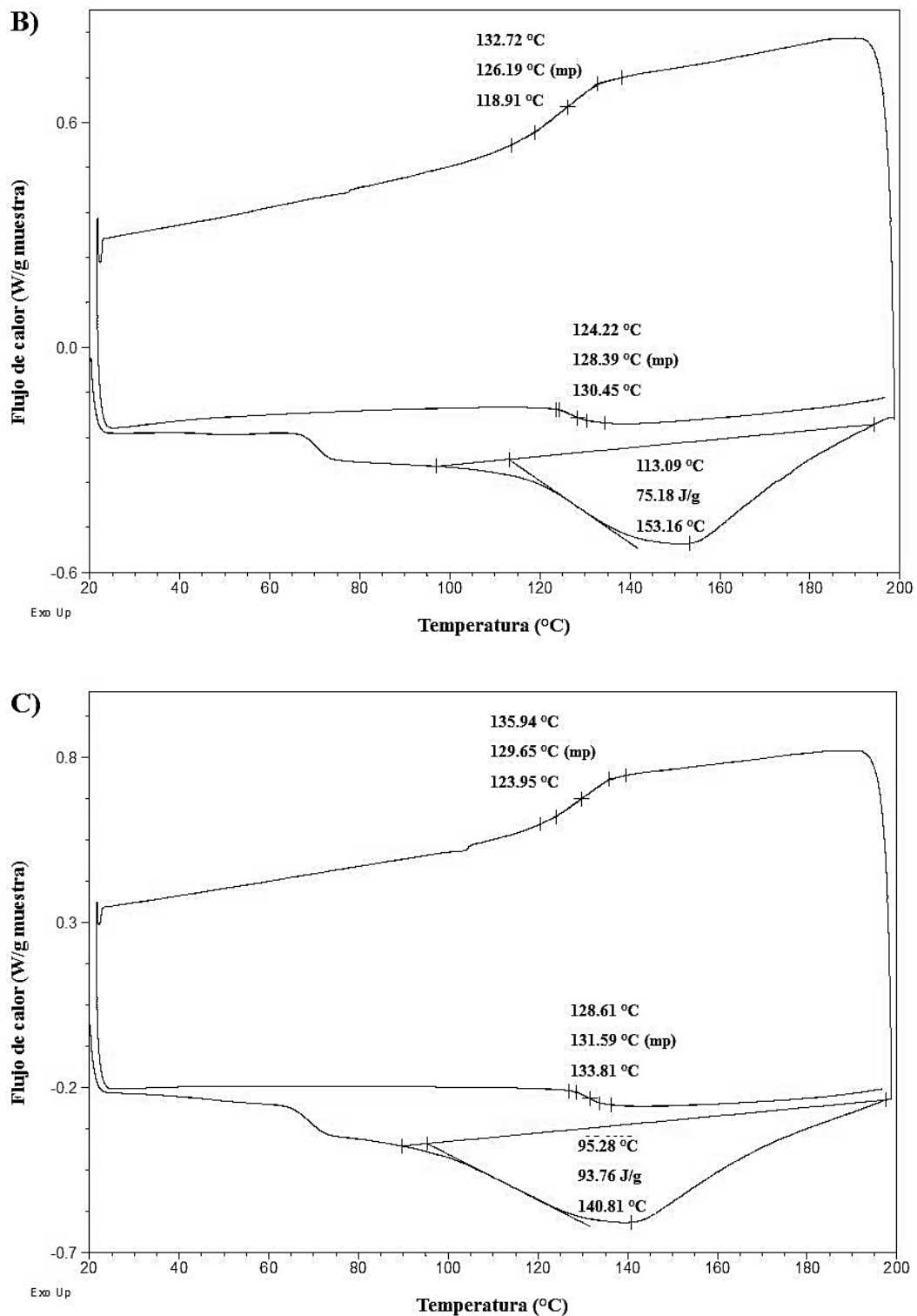


Figura 4.10. Termogramas para la determinación de Tg en fructanos de *Agave salmiana* nanofiltrados A) $n = -2$ (VRF = 4), B) $n = 0$ (VDF = 1), B) $n = 2$ (VDF = 4).

Como se mencionó anteriormente, con en el análisis estadísticos realizado, no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre el valor de T_{gC} y T_{gH} para las distintas muestras tratadas en el diseño experimental (Tablas 4.6 y 4.7).

Tabla 4.6. Análisis de varianza (ANOVA) y coeficientes de regresión del modelo estadístico para temperatura de transición vítrea de enfriamiento (T_{gC}) de fructanos en estado anhidro de *Agave salmiana*.

Fuente	Suma de Cuadrados	G.L.	Media de Cuadrados	Valor F	Valor de probabilidad
Modelo	89.9621	5	17.9924	0.6926	0.6455
T	0.0697	1	0.0697	0.0027	<i>0.9601</i>
n	0.4796	1	0.4796	0.0185	<i>0.8957</i>
Tn	13.0682	1	13.0682	0.5031	<i>0.5011</i>
n²	4.0097	1	4.0097	0.1544	<i>0.7061</i>
Tn²	38.4476	1	38.4476	1.4800	<i>0.2632</i>
Residual	181.8429	7	25.9776		
Desajuste	60.1928	3	20.0643	0.6597	0.6184
Error	121.6501	4	30.4125		
Correlación	271.8050	12			

Factor	Estimación del coeficiente	G.L.	Error estandar	95% IC menor	95% IC mayor	FIV
Intercepción	128.2288	1	1.8408	123.8761	132.5815	
T	0.1320	1	2.5484	-5.8940	6.1580	2
n	0.2448	1	1.8020	-4.0162	4.5059	1
Tn	-1.8075	1	2.5484	-7.8335	4.2185	1
n²	0.7527	1	1.9159	-3.7777	5.2831	1
Tn²	-4.3845	1	3.6040	-12.9066	4.1376	2
Desv. Std.	5.0968		R²	0.3310		
Media	128.6921		R² ajustada	-0.1469		

T = temperatura de secado; n = factor de dilución durante nanofiltrado; G.L. = grados de libertad; F = valor de Fisher. IC = intervalo de confianza; FIV = Factor de inflación de varianza.

NOTA: Los valores en negrita indican que el parámetro correspondiente tiene efecto significativo en la propiedad evaluada. Los valores en cursiva son términos que se presentan por orden de jerarquía en el modelo pero no tienen valor significativo.

Tabla 4.7. Análisis de varianza (ANOVA) y coeficientes de regresión del modelo estadístico para temperatura de transición vítrea de calentamiento (T_g) de fructanos en estado anhidro de *Agave salmiana*.

Fuente	Suma de Cuadrados	G.L.	Media de Cuadrados	Valor F	Valor de probabilidad
Modelo	107.23019	5	21.4460	1.3160	0.3569
T	1.0819	1	1.0819	0.0664	<i>0.8041</i>
n	0.0440	1	0.0440	0.0027	<i>0.9600</i>
Tn	15.1062	1	15.1062	0.9270	<i>0.3677</i>
T²	15.6268	1	15.6268	0.9589	<i>0.3601</i>
T²n	35.8865	1	35.8865	2.2021	<i>0.1814</i>
Residual	114.0759	7	16.2966		
Desajuste	77.7104	3	25.9035	2.8492	0.1689
Error	36.3654	4	9.0914		
Correlación	221.3061	12			

Factor	Estimación del coeficiente	G.L.	Error estandar	95% IC menor	95% IC mayor	FIV
Intercepción	130.5214	1	1.4580	127.0739	133.9690	
T	0.3677	1	1.4273	-3.0072	3.7427	1
n	0.1049	1	2.0184	-4.6680	4.8778	2
Tn	1.9433	1	2.0184	-2.8295	6.7162	1
T²	1.4860	1	1.5175	-2.1023	5.0743	1
T²n	4.2359	1	2.8545	-2.5139	10.9858	2
Desv. Std.	4.0369	R²		0.4845		
Media	131.4359	R² ajustada		0.1163		

T = temperatura de secado; n = factor de dilución durante nanofiltrado; G.L. = grados de libertad; F = valor de Fisher. IC = intervalo de confianza; FIV = Factor de inflación de varianza.

NOTA: Los valores en negrita indican que el parámetro correspondiente tiene efecto significativo en la propiedad evaluada. Los valores en cursiva son términos que se presentan por orden de jerarquía en el modelo pero no tienen valor significativo.

Se puede apreciar en la Figura 4.11, los valores de T_g presentan una superficie sin variación por efecto del factor de dilución (n) o la temperatura de secado; así mismo, los valores

promedio de $T_{gC} = 128.79 \pm 4.6$ °C y $T_{gH} = 131.44 \pm 4.3$ °C son prácticamente idénticos como se podría esperar para muestras anhidras con alto contenido de pureza, estos valores son consistentes con los reportados para fructanos tipo inulina de achicoria (120 °C) o de *Agave tequilana* (entre 119.8 y 131.3 °C) [Zimeri & Kokini, 2003; Espinosa-Andrews & Urias-Silvas, 2011].

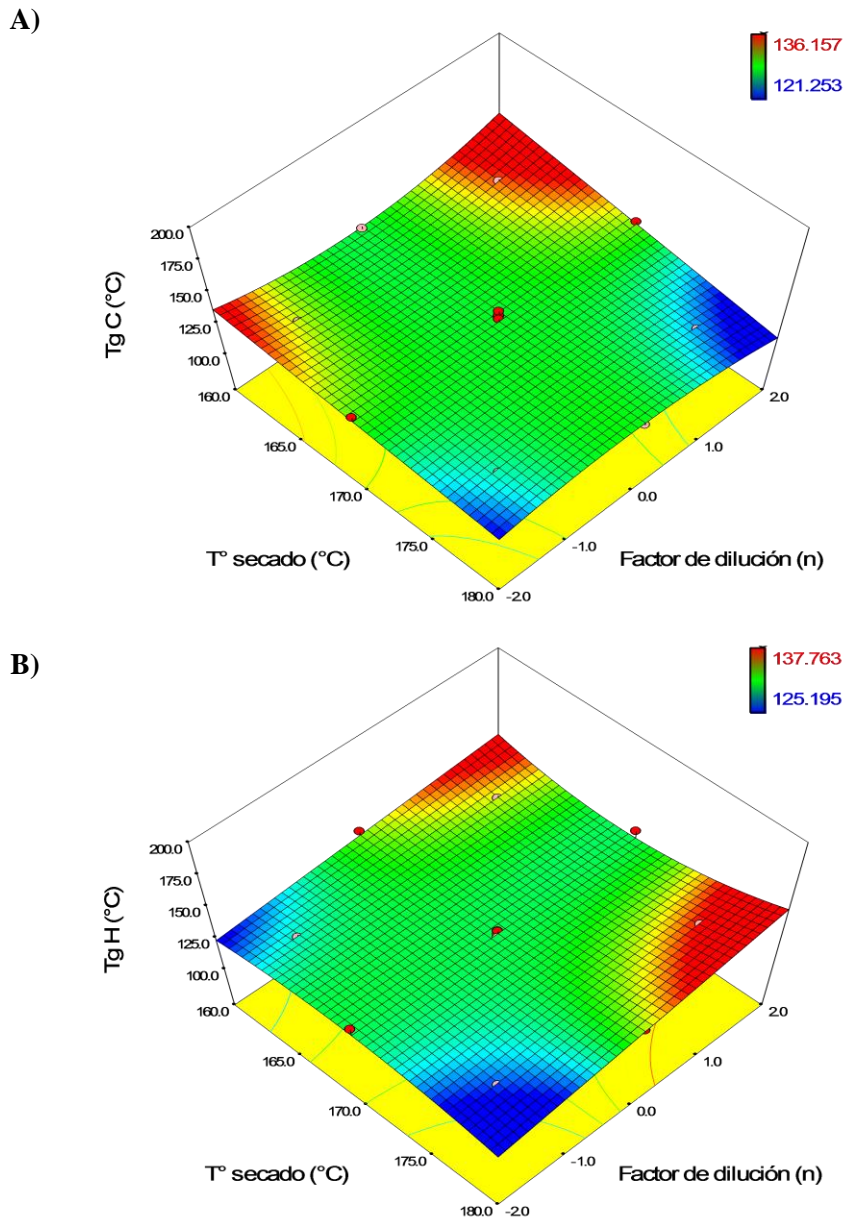


Figura 4.11. Temperatura de transición vítrea de fructanos de *Agave salmiana* en función de la temperatura de secado (T°) y el factor de dilución en nanofiltración (n). A) Transición vítrea de enfriamiento (T_{gC}), B) Transición vítrea de calentamiento (T_{gH})

5. CONCLUSIONES

Este estudio demostró que el uso de tecnologías combinadas tales como la nanofiltración y el secado por aspersion pueden ser utilizadas para obtener fructanos en polvo con alto grado de pureza evitando el uso de agentes acarreadores. El modo NF-concentración ofrece una mayor separación de sólidos en el jugo de *Agave salmiana*, sin embargo, el modo NF-diafiltración permite la obtención de mayores rendimientos de polvo durante el proceso de secado; así mismo, el contenido de humedad más bajo y la mayor pureza de fructanos en el polvo se alcanzaron operando en NF-concentración a $n = -2$ ($VRF = 4$) y $T_{\text{secado}} = 170^{\circ}\text{C}$.

Los resultados de esta investigación muestran que la nanofiltración en sus dos modalidades y la temperatura de secado por aspersion tienen efecto significativo en el rendimiento del proceso y en la obtención de fructanos en polvo a partir de jugo de agave. El uso de un modelo matemático de transformación; que relacionó ambos modos de NF en un parámetro de análisis único, permitió evaluar el efecto de las variables antes mencionadas sobre variables de respuesta tales como el rendimiento de proceso y rendimiento global por litro de jugo crudo, el contenido de humedad, el grado de pureza o la temperatura de transición vítrea de fructanos en polvo de *Agave salmiana*.

Los valores de mayor pureza ($99.15 \pm 0.34\%$) en las muestras obtenidas se presentaron en NF-concentración con un factor de dilución $n = -2$ ($VRF = 4$) y una $T_{\text{secado}} = 170^{\circ}\text{C}$. Sin embargo, estas condiciones no son convenientes para el rendimiento global en obtención de polvo. La recuperación de sólidos en el proceso bajo estas condiciones resultó ser de $40.4 \text{ g}_{\text{fructanos}}/\text{L}_{\text{jugo crudo}}$. Para el mejor rendimiento global de fructanos ($87.072 \text{ g}_{\text{fructanos}}/\text{L}_{\text{jugo agave crudo}}$) fueron establecidas las condiciones de $n = 0.8625$ ($VDF = 1.818$) y $T_{\text{secado}} = 168.4^{\circ}\text{C}$, la pureza para estas condiciones se encuentra en 91.86% . Se debe considerar que, bajo las consideraciones que se tengan para el aprovechamiento de los fructanos presentes en plantas de *Agave salmiana*, se pueden tener mayores purezas en el producto final utilizando NF-concentración, mientras que mejores rendimientos con purezas aceptables pueden obtenerse en NF-diafiltración.

Conclusiones

El método calorimétrico empleado fue considerado adecuado para la determinación de la temperatura de transición vítrea (T_g) en muestras de fructanos de *Agave salmiana* en polvo con bajo contenido de humedad (< 6%,). Los valores de T_g determinados en las diferentes muestras analizadas, no presentaron diferencias estadísticamente significativas, siendo esto independiente de su tratamiento con NF-concentración o NF-diafiltración. Se encontró que los valores de T_g de las muestras (de 128.79 a 131.44 °C) son cercanos a los reportados por otros autores para muestras de inulina u otros fructanos (tipo *agavinas*), lo cual se relaciona directamente a la alta pureza de las muestras analizadas y a la alta efectividad del proceso de nanofiltración como método de purificación para el mejor aprovechamiento de estos compuestos.

6. REFERENCIAS

Abiad M.G., Carvajal M.T. & Campanella, O.H. (2009). A review on methods and theories to describe the glass transition phenomenon: applications in food and pharmaceutical products. *Food Engineering Reviews*, 1(2), 105-132.

Adhikari B., Howes T., Lecomte D. & Bhandari B. R. (2001). A glass transition temperature approach for the prediction of the surface stickiness of a drying droplet during spray drying. *Powder Technology*, 149, 168-179.

Aguilera J.M., Valle J.M. & Karel, M. (1995). Caking phenomena in food powders: a review. *Trends in Food Science and Technology*, 6, 149-154.

Aguirre R. J., Salazar C. H., & Flores F. J., (2001). El Maguey Mezcalero Potosino. Consejo Potosino de Ciencia y Tecnología, Gobierno del Estado de San Luis Potosí. Instituto de Investigaciones de Zonas Desérticas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Aimar P., P. Bacchin & A. Maurel (2009) Filtration membranaire (OI, NF, UF, MFT), Aspects théoriques: perméabilité et sélectivité, *Techniques de l'ingénieur*, J2790v2. 11-14.

Angell C.A. (1988). Perspective on the glass transition. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 49, 863-871.

Arkel J. V., Sévenier R., Hakkert J. C., Bouwmeester H. J., Koops A. J. & Van der Meer I. M. (2010). Tailor-made fructan synthesis in plants: A review. *Carbohydrate polymers*. 0144-8617.

Arrizon J., Morel S., Gschaedler A. & Monsan P. (2010) Comparison of the water-soluble carbohydrate composition and fructan structures of Agave tequilana plants of different ages. *Food Chemistry*, 122: 123-130.

Ávila-Fernández A., Galicia-Lagunas N., Rodríguez-Alegría M.E., Olvera C., López-Munguía A. (2011) Production of functional oligosaccharides through limited acid hydrolysis of agave fructans. *Food Chemistry*, 129: 380-386.

Aydogan N., Gürkan T. & Yilmaz, L. (1998) Effect of operating parameters on the separation of sugars by nanofiltration. *Separation Science and Technology*, 33: 1767-1785.

Barbosa C. G., & Vega M. H. (2000) Dehydration of Foods. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza, España. pp. 297.

Bautista-Justo M. L., García-Oropeza R., Salcedo-Hernández G. & Parra-Negrete, L. A. (2001). Azúcares en Agaves (Agave tequilana Weber) cultivados en el Estado de Guanajuato. ACTA UNIVERSITARIA Guanajuato, Gto., México. 11: 1.

Bhandari B. R. & Howes T. (1999). Implication of glass transition for the drying and stability of dried foods. *Journal of Food Engineering*, 40, 71-79.

Bhandari B. R. & Hartel, R. W. (2005). Phase transitions during food powder production and powder stability. In C. Onwulata, & R. P. Konstance (Eds.), *Encapsulated and food powder*, 261–292.

Carrillo T. L. A. (2007). Los destilados de agave en México y su denominación de origen. Universidad Nacional Autónoma de México. *Ciencias*. 87: 40-49.

Carvalho S., Toledo I., Araújo F. & Pereira, G. (2004). Fructanos en raíces tuberosas de yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poep.; Endl.) expuestas al sol y almacenadas bajo condiciones ambientales. *Agro-Ciencia* 20(1): 17-23.

Cojocarú C. & G. Zakrzewska T. (2007) Response surface modeling and optimization of copper removal from aqua solutions using polymer assisted ultrafiltration. *Journal of Membrane Science*. 298: 56-70.

Conlon, W. J. & McClellan, S. A. (1989). Membrane softening: Treatment process comes of age. *Journal American Water Works Association*. 81(11), 47–51.

Coussement, P. A. A. (1999). Inulin and oligofructose: safe intakes and legal status. *Journal of Nutrition*, 129, 1412–1417.

- Cuartas-Uribe B., Alcaina-Miranda M.I., Soriano-Costa E., Mendoza-Roca J.A., Iborra-Clar M.I. & Lora-García J. (2009) A study of the separation of lactose from whey ultrafiltration permeate using nanofiltration. *Desalination*, 241: 244-255.
- Dahech I., Harrabi B., Hamden K., Feki A., Mejdoub H., Belghith H. & Belghith K.S. (2013) Antioxidant effect of nondigestible levan and its impact on cardiovascular disease and atherosclerosis. *International Journal of Biological Macromolecules*. Jul; 58:281-6.
- Davidson M. H. & Maki K. C. (1999) Effects of dietary inulin on serum lipids. *Journal of Nutrition*. 129, 1474S-1477S.
- Deis, R. (2001). Dietary Fiber: a new beginning? (En línea). Consultado 14 Marzo 2014. Disponible en: <http://www.foodproductdesign.com/articles/2001/12/dietary-----fiber-a-new-beginning.aspx>
- Dutre B. & Trägårdh G. (1994). Macrosolute-microsolute separation by ultrafiltration: a review of diafiltration processes and applications, *Desalination*, 95 227-267.
- Edward M. Cook E. M. & Dumont H. D., (1991). Process drying practice; McGraw-Hill, Inc. USA. ISBN 0-07-012462-0. pp 49-50.
- Eriksson, P. (1988). Nanofiltration extends the range of membrane filtration. *Environmental Progress & Sustainable Energy*. 7(1), 58–62.
- Espinosa-Andrews H. & Urias-Silvas J. E. (2011). Thermal properties of agave fructans (Agave tequilana Weber var. Azul). *Carbohydrate Polymers*. 87 (2012) 2671– 2676
- Feng Y.M., Chang X.L., Wang W.H. & Ma R.Y. (2009) Separation of galacto-oligosaccharides mixtures by nanofiltration. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 40: 326-332.
- Fitzpatrick J.J., Hodnett M., Twomey M., Cerqueira P.S.M., O'Flynn J. & Roos Y.H. (2007). Glass transition and the flowability and caking of powders containing amorphous lactose. *Powder Technology*, 178, 119-128.

- Forsell P.M., Mikkilä J.M., Moates G.K. & Parker R. (1997). Phase and glass transition behavior of concentrated barley starch-glycerol-water mixtures, a model for thermoplastic starch. *Carbohydrate Polymers*, 34, 275-282.
- Foster K. D., Bronlund J. E. & Paterson, A. H. J. (2006). Glass transition related cohesion of amorphous sugars powders. *Journal of Food Engineering*, 77, 997-1006.
- Franck, A. (2002). Technological functionality of inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*, 2, 287-291.
- García-Mendoza A. J. (2007); Los agaves de México. Universidad Nacional Autónoma de México. *Ciencias*, julio-septiembre; No. 087. Pp. 14-23.
- Genin N. & René F. (1995). Analyse du rôle de la transition vitreuse dans les procédés de conservation agro-alimentaires. *Journal of Food Engineering*, 26, 391-408.
- Gibson G. R., & Roberfroid M. (1995) Dietary modulation of the human colonic microflora: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, 125, 1401-1412.
- Gómez G. A., Pinos J. M. R. & Aguirre J. R. (2009). Manual de producción caprina. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. San Luis Potosí, SLP. México. 186p.
- González-Díaz E., Catana, R., Ferreira B. S., Luque S., Fernandes P. & Cabral, J. M. (2006). Towards the development of a membrane reactor for enzymatic inulin hydrolysis. *Journal of Membrane Science*, 273, 152-158.
- Goulas, A.K., P.G. Kapasakalidis, H.R. Sinclair, R.A. Rastall & A.S. Grandison (2002). Purification of oligosaccharides by nanofiltration, *Journal of Membrane Science*, 209: 321-335.
- Hennelly P. J., Dunne P. G., O'Sullivan M. & O'Riordan E. D. (2006). Textural, rheological and microstructural properties of imitation cheese containing inulin. *Journal of Food Engineering*, 75, 388-395.

Herrera N., Correa E., Cardona D., Archbold R., Torres F., Quiñones W., & Velez I. D. (2007). Estructura y actividad de sapogeninas triterpénicas. *Scientia et Technica*. Universidad Tecnológica de Pereira. Pereira, Colombia. 33(8):87-90.

Huazano G. A. (2009). Estudio in vivo del efecto prebiótico de los fructanos de *Agave angustifolia* Haw. Tesis de Maestría. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Irapuato, Gto. México.

Huebner J., Wehling R. L. & Hutkins, R. W. (2007) Functional activity of commercial prebiotics. *International Dairy Journal*, 17, 770-775.

Iñiguez-Covarrubias G., Díaz-Teres R., Sanjuan-Dueñas R., Anzaldo-Hernández J. & Rowell R. M. (2001). Utilization of by-products from the tequila industry. Part 2: Potential value of *Agave tequilana* Weber azul leaves. *Bioresource Technology*. Apr; 77(2):101-8.

Jaya S. & Das H. (2004) Effect of maltodextrin, glycerol monostearate and tricalcium phosphate on vacuum dried mango powder properties. *Journal of Food Engineering*, 63, 125-134.

Jiang B., Liu Y., Bhandari B. & Zhou, W. (2008). Impact of caramelization on the glass transition temperature of several caramelized sugars. Part I: Chemical analyses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 5138-5147.

Kamada T., Nakajima M., Nabetani H. & N.S. Iwamoto (2002). Availability of membrane technology for purifying and concentrating oligosaccharides, *European Food Research and Technology*, 214: 435–440.

Kasapis, S. (2006). Definition and applications of the network glass transition temperature. *Food Hydrocolloids*, 20, 218-228.

Katekawa, E. K. & Silva, M. A. (2007). On the influence of glass transition on shrinkage in convective drying of fruits: a case study of banana drying. *Drying Technology*, 25, 1659-1666.

- Kawai K., Fukami K., Thanatuksorn P., Viriyarattanasak C. & Kazuhito Kajiwara K. (2010). Effects of moisture content, molecular weight, and crystallinity on the glass transition temperature of inulin. *Carbohydrate Polymers*, 83 (2011) 934–939.
- Kim Y., Faqih M. N. & Wang S. S. (2001). Factors affecting gel formation of inulin. *Carbohydrate Polymers*, 46, 135–145.
- Kip P., Meyer D., Jellema R. H. (2006). Inulins improve sensorial and textural properties of low-fat yoghurts. *International Dairy Journal*, 16, 1098–1103.
- Kuts, P. S. & Samsonyuk, V. K. (1989). Enhancement of spray drying of thermosensitive materials. *Drying Technology*, 7(1), 35-45.
- Labuza, T.P. & Hyman, C.R. (1998). Moisture migration and control in multi-domain foods. *Food Science and Technology*, 9, 47-55.
- Lazar M. E., Brown A. H., Smith G. S., Wang F. F. & F. E. Lindquist. (1956). Experimental production of tomato powder by spray drying. *Food Technology*, March, 129-134.
- Le Meste M., Champion D., Roudaut G., Blond G. & Simatos D. (2002). Glass transition and food technology: A critical appraisal. *Journal of Food Science*, 67:2444-2458.
- Lee J. W., Thomas L.C. & Schmidt, S. J. (2011). Investigation of the heating rate dependency associated with the loss of crystalline structure in sucrose, glucose and fructose using thermal analysis approach (part I). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 684-701.
- Liu Y., Bhandari B. & Zhou W. (2006). Glass transition and enthalpy relaxation of amorphous food saccharides: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 5701-5717.
- López M. G., Mancilla-Margalli N. A. & Mendoza-Díaz G. (2003). Molecular structures of fructans from *Agave tequilana* Weber var. azul. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51: 7835-7840.

- Mancilla-Margalli N. A. & López M. G.. (2006). Water-soluble carbohydrates and fructan structure patterns from agave and dasyliirion species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 7832-7839.
- Mani S., Jaya S. & Das, H. (2002). Sticky issues on spray of fruit juices. Paper No: MBSK 02-201. In ASAE Meeting Presentation. *Journal of Food Engineering*, 1-18. (46)
- Manrique M., León O. & Antolín G. (2005). Influencia de la etapa de deshidratación sobre el contenido de inulina en *Cichorium intybus L.* *Alimentación, Equipos y Tecnología* 24(197): 145-150.
- Martínez-Navarrete. N., Andrés-Grau A. M., Chiralt- Boix. & Fito-Maupoe. P. (1999). Transiciones de fase en alimentos. Termodinámica y cinética de sistemas alimento-entorno. Instituto Politecnico Nacional. ISBN-10: 9701830288 p. 27.
- Masters, K. (1991) Drying of droplets/sprays. In *Spray Drying Handbook*, Fifth Edition; Longman Scientific & Technical, New York, pp. 309-351.
- Mermelstein, N. H. (2001). Spray drying. *Food Technology*, 55 (4), 92-96.
- Michel-Cuello C., Juárez-Flores B. I., Aguirre-Rivera J. R. & Pinos-Rodríguez, J. M. (2008) Quantitative characterization of nonstructural carbohydrates of mezcal agave (*Agave salmiana* Otto ex salm-dick). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 5753–5757.
- Mohammad A.W. & Takriff M. S., (2003) Predicting flux and rejection of multicomponent salts mixture in nanofiltration membranes, *Desalination*, 157 105-111.
- Moreno-Vilet L., Michel-Cuello C., Mota-Santillán A., González-Chávez M. M., Grajales-Lagunes A. & Ruiz-Cabrera M. A. (2010). Obtention of a powder with high fructan content from *Agave salmiana*, in: Regalado, C.; García-Almendárez, B.E. (eds.) *Innovations in Food Science and Food Biotechnology in Developing Countries*, Asociación Mexicana de Ciencia de los Alimentos, A.C.: México, pp. 291-310.

- Moreno-Vilet L., Michel-Cuello C., Mota-Santillán A., Ruiz-Cabrera M. A. & Moscota Santillan M. (2014). Assessment of sugars separation from a model carbohydrates solution by nanofiltration using a design of experiments (DoE) methodology. *Separation and Purification Technology*, (131) 83-93.
- Mujumdar A. S. (1998). Innovation in drying. Trends in Heat Mass and Momentum Transfer, (4) *Research Trends*, pp. 115-126.
- Murphy O. (2001). Non polyol low digestible carbohydrates: food applications and functional benefits. *British Journal of Nutrition* 85(1): S47-S53.
- Niness K. R. (1999). Inulin and oligofructose: *Journal of Nutrition*. 129, 1402S–1406S.
- Noghabi M. S., Razavi S. M. A., Mousavi S. M. & Niazmand M. E. R. (2011) Effect of operating parameters on performance of nanofiltration of sugar beet press water. *Procedia Food Science*. 1: 160-164.
- Olvera C. C., Ávila F. A., Bustillo A. G. & López M. A. (2015). Processing of Fructans and Oligosaccharides from Agave Plants. In *Processing and Impact on Active Components in Food*, 2015, Pages 121-129.
- Olvera, C., Castillo, E., and López-Munguía, A. (2007) Fructosiltransferasas, fructanas y fructosa. *Biotecnología* 14, 327-345.
- Papadakis, S. E. & Babu R. E. (1992). The sticky issues of drying. *Drying Technology*, 10(40), 817 - 837.
- Perry R. H. & Green D. W. (2003). Manual del Ingeniero Químico. 7^{ma} Edición, Mc Graw Hill. Vol. II. Capítulo 12. 72-90.
- Pinelo M., Jonson G. & Meyer A.S. (2009). Membrane technology for purification of enzymatically produced oligosaccharides: molecular and operational features affecting performance. *Separation and Purification Technology*, 70: 1-11.

- Rahman M.S. (2006). State diagram of foods: its potential use in food processing and product stability. *Trends in Food Science & Technology*, 17, 129-141.
- Rahman M.S., Al-Marhubi I.M. & Al-Mahrouqui, A. (2007). Measurement of glass transition temperature by mechanical (DMTA), thermal (DSC and MDSC), water diffusion and density methods: A comparison study. *Chemical Physics Letters*, 440, 372-377.
- Rhaman, M.S. (2010). Food stability determination by macro-micro region concept in the state diagram and by defining a critical temperature. *Journal of Food Engineering*, 99 (4), 402-416.
- Ritsema T. & Smeekensm, S. (2003). Engineering fructan metabolism in plants. *Plant Physiology* 160, 811-820.
- Roberfroid M. B. (2000). Chicory fructooligosaccharides and the gastrointestinal tract. *Nutrition*, 16 (7&8), 677-679.
- Roberfroid, M. B. (2005). Introducing inulin-type fructans. *British Journal of Nutrition*. 93(1): S13-S25.
- Roberfroid, M.B. (2002). Functional foods: concepts and application to inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*. 87(2):S139-S143.
- Rodríguez-Labra L. A. (2002). Diseño y construcción de un secador por aspersion con atomizador de boquilla para la obtención de proteínas a partir de oleaginosas. Tesis de doctorado. Instituto Tecnológico de Celaya. 22-24.
- Ronkart S. N., Deroanne C., Paquot M., Fougnyes C., Lambrechts J. & Blecker C. S. (2007). Characterization of the Physical State of Spray-Dried Inulin. *Food Biophysics* (2007) 2: pp 83–92.
- Roos Y. H. (1993). Melting and glass transition of low molecular weight carbohydrates. *Carbohydrate Research*, 238, 39-48.

- Roos Y. H. (2010). Glass transition temperature and its relevance in food processing. *The Annual Review of Food Science and Technology*, 1, 469-496.
- Roos, Y. H. (1995). Phase transition in foods. San Diego CA, USA: Academic Press, Food Science and Technology.
- Roudaut G., Simatos D., Champion D., Contreras-López E., & Le Mestre M. (2004). Molecular mobility around the glass transition temperature: a mini review. *Innovative Food Science and Emerging Technology*, 5, 127-134.
- Ruiz Cabrera M. A., Espinosa-Muñoz L. C., Aviles-Aviles C., González-García R., Moscosa-Santillán M., Grajales-Lagunes A. & Abud-Archila M. (2009). Spray-Drying of Passion Fruit Juice Using Lactose Maltodextrin Blends as the Support Material. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 52, 4:1011-1018.
- Saavedra-Leos M. Z. (2011). Estudio de la transición de sistemas modelo elaborados con fructosa, glucosa y sacarosa para la optimización del secado por aspersión y estabilidad de jugos de frutas en polvo. Tesis de doctorado. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, 34-39.
- Saavedra-Leos M.Z., Alvarez-Salas C., Esneider-Alcalá M. A., Toxqui-Terán A., Pérez-García S. A. & Ruiz-Cabrera M. A. (2012). Towards an improved calorimetric methodology for glass transition temperature determination in amorphous sugars. *CyTA-Journal of Food*. DOI:10.1080/19476337.2011.639960.
- Sablani S. S., Syamaladevi R.M. & Swanson, B.G. (2010). A review of methods, data and applications of state diagrams of food systems. *Food Engineering Reviews*, 2, 168-203.
- Sanchez-Marroquin, A. (1979). Los agaves de México en la industria alimentaria. Centros de Estudios Económicos y Sociales del Tercer Mundo (ceestem), Editorial Quetzalcoatl, S.A.: México.
- Santivarangkna C., Aschenbrenner M., Kulozik U. & Foerst, P. (2011). Role of glassy state on stabilities of freeze-dried probiotics. *Journal of Food Science*, 76(8), 152-156.

Schenz T.W. (1995). Glass transition and product stability: an overview. *Food Hydrocolloids*, 9(4), 307-315.

Shiga H., Yoshii H., Nishiyama T., Furuta T., Forssele P., Poutanen K. & Linko, P. (2001). Flavor encapsulation and release characteristics of spray-dried powders by the blended encapsulant of cyclodextrin and gum arabic. *Drying Technology*, 19(7), 1385-1395.

Siewert C., Richter H., Piorra A. & Tomandl, G. (2000). Development of ceramic nanofiltration membranes. *Industrial Ceramics*. 20(1), 31–33.

Sjöman E., Mänttari M., Nyström M., Koivikko H. & H. Heikkilä (2007) Separation of xylose from glucose by nanofiltration from concentrated monosaccharide solutions. *Journal of Membrane Science*, 292: 106-115.

Slade L. & Levine H. (1994). Water and the glass transition-dependence of the glasstransition on composition and chemical structure: special implications for flour functionality in cookie baking. *Journal of Food Engineering*, 22, 143-188.

Sun H., Qi D., Xu J., Juan S. & Zhe Ch. (2011). Fractionation of polysaccharides from rapeseed by ultrafiltration: Effect of molecular pore size and operation conditions on the membrane performance. *Separation and Purification Technology*. 80: 670-676.

Tungland B.C. & Meyer D. (2002). Nondigestible oligo and polysaccharides: their physiology and role in human health and food. *Comprehensive reviews in food science and food safety*. 74: 73-77.

Van Der Bruggen B. & Jeen J. (2001). Nanofiltration. Department of Chemical Engineering, Laboratory for Applied Physical Chemistry and Environmental Technology University of Leuven, Leuven, Belgium. Pp. 271-288.

Van der Bruggen B., Manttari M. & Nystrom M. (2008). Drawbacks of applying nanofiltration and how to avoid them: A review. *Separation and Purification Technology*, 63: 251-263.

- Vanhal I. & Blond G. J. (1999). Impact of melting conditions of sucrose on its glass transition temperature. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 47, 4285–4290.
- Vankelecom I. F. J., De Smet K., Gevers L. E. M. & Jacobs, P. A. (2005). Nanofiltration membrane materials and preparation. In A. I. Schäfer, A. G. Fane, and T. D., Waite (Eds.), *Nanofiltration—Principles and Applications*. Elsevier, Oxford.
- Verberk J. Q. J. C., Post J., Van der Meer W. G. J. & Van Dijk J. C. (2002). Direct capillary nanofiltration for ground water and surface water treatment. *Water Science & Technology*. Water Supply 2(5–6), 277–283.
- Verdonck E., Schaap K. & Thomas L.C. (1999). A discussion of the principles and applications of modulated temperature DSC (MTDSC). *International Journal of Pharmaceutics*. 192, 3-20.
- Voigt I., Stahn M., Wohner S., Junghans A., Rost J. & Voigt W. (2001). Integrated cleaning of coloured waste water by ceramic NF membranes. *Separation and Purification Technology*. 25(1–3), 509–512.
- Wack M. & Blaschek W. (2006). Determination of the structure and degree of polymerization of fructans from *Echinacea purpurea* roots. *Carbohydrate Research*, 341, 1147-1153.
- Wang N. & Nobel P. S. (1998). Phloem transport of fructans in the crassulacean acid metabolism species *Agave deserti*. *Plant Physiology*, 116, 709-714.
- Watzl B., Girrbaach S. & Roller M. (2005). Inulin, fructose and immunomodulation. *British Journal of Nutrition*. 93(1), S49-S55.
- Welti Ch. J. & Vergara B. F. (2002). Actividad de agua. Concepto y aplicaciones en alimentos con alto contenido de humedad, en *Temas en Tecnología de Alimentos*. CYTED, Alfaomega. Vol.1.

Referencias

Wungtanagorn R. & Schmidt. S. J. (2001). Thermodynamic properties and kinetics of the physical aging of amorphous glucose, fructose and their mixture. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 65, 9-35.

Yorguna M. S., Akmehmet-Balcioglu I. & Sayginb O. (2008). Performance comparison of ultrafiltration, nanofiltration and reverse osmosis on whey treatment. *Desalination*, 229: 204-216.

Yu L. (2001). Amorphous pharmaceutical solids: preparation, characterization and stabilization. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 48, 27-42.

Zimeri J. E. & Kokini J. L. (2003) Phase transitions of inulin-waxy maize starch systems in limited moisture environments. *Carbohydrate Polymers*. 51, 183-190.

Zuleta A. & Sambucett, M. A. (2001) Inulin determination for food labeling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49, 4570–4572.