

UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

ESCUELA DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

**“PRODUCCIÓN DE MIEL DE AGAVE POR HIDRÓLISIS TÉRMICA A
PARTIR DE AGAVE TEQUILANA WEBER var. AZUL”**

TESIS PROFESIONAL

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO
DE:**

QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

Presenta:

p. QFB YOLANDA ARROYO ORDAZ

ASESOR DE TESIS

DR. CARLOS R. SOSA AGUIRRE

MORELIA, MICHOACÁN, MÉXICO, NOVIEMBRE DEL 2006

Índice de Contenido

1	Introducción.....	5
2	Objetivos del proyecto.....	6
3	Planteamiento del problema	7
4	Justificación	9
5	Marco teórico.....	10
5.1	La planta de agave	10
5.2	Estructura del Agave tequilina Weber azul	12
5.3	El azúcar del agave	14
5.4	Las bondades de los FOS	16
5.5	Índice glicémico	18
5.6	La miel de agave	20
6	Desarrollo	24
6.1	Purificación de jugo	26
6.2	Hidrólisis térmica de inulina	33
6.3	Clarificación	34
6.4	Separación de las fracciones fructosa-glucosa.....	35
6.5	Concentración	36
7	Materiales y métodos	39
8	Resultados obtenidos.....	41
8.1	Características de la miele obtenida	42
9	Conclusiones	45
10	Literatura citada	46

Índice de Imágenes

<i>Fig. 1-</i> Zonas de denominación de origen.	7
<i>Fig. 2-</i> Disponibilidad vs. Demanda de agave tequilero (CRT).....	8
<i>Fig. 3-</i> Planta de agave tequilana Weber azul.....	11
<i>Fig. 4-</i> Estructura de una planta de agave.	12
<i>Fig. 5-</i> Plantación de agave con trazo de melgas anchas en Arandas, Jal.	14
<i>Fig. 6-</i> Estructura química de inulina en vegetales.....	15
<i>Fig. 7-</i> Estructura de la inulina de un agave tequilana de 8 años (López et al., 2003)	16
<i>Fig. 8-</i> Diagrama del proceso de producción tradicional de miel de agave.	25
<i>Fig. 9-</i> El jugo de agave durante la etapa de sólidos suspendidos.....	28
<i>Fig. 10-</i> Cromatógrama de baja presión utilizado para obtener las graficas de conductividad del jugo.....	30
<i>Fig. 11-</i> Grafica de conductividad del jugo a la salida de las columnas.	32
<i>Fig. 12-</i> Miel de agave 75°Bx de diferentes tonalidades	34
<i>Fig. 13-</i> Miel de agave de 70°Bx	35
<i>Fig. 14-</i> Columna de cromatografía de separación de fructosa-glucosa.	36
<i>Fig. 15-</i> Dispositivo de evaporación	37
<i>Fig. 16-</i> Cromatógrama de la miel despues de la concentración	38
<i>Fig. 17-</i> Cromatógrama de la miel de agave.	43

Índice de Tablas

Tabla 1. Componentes del jugo de piña del <i>A. tequilana</i> Weber azul (Ciatej, 2004).	13
Tabla 2. Índices glicémicos de diversos edulcorantes (Sosa-Aguirre et al., 2005).	19
Tabla 3. Minerales presentes en la miel Nekutli®.	22
Tabla 4. Propiedades físicas de la miel Nekutli®.	23
Tabla 5. Composición química de la miel Nekutli®.	23
Tabla 6. Características del jugo de agave.	26
Tabla 7. Propiedades típicas de las resinas DOWEX®.	29
Tabla 8. Condiciones de operación sugeridas para el manejo de resinas DOWEX®.	30
Tabla 9. Valores de conductividad del jugo rico en inulina obtenidos durante el proceso de desmineralización.	31
Tabla 10. Minerales en el jugo antes y después de la desmineralización.	33
Tabla 11. Interpretación del cromatograma de la fracción rica en fructosa.	38
Tabla 12. Especificaciones para la interpretación de colores en un espectrofotómetro de color marca HUNTER LAB.	40
Tabla 13. Características de las técnicas de extracción de jugo de agave.	41
Tabla 14. Resultados de la caracterización de la miel de agave procesada en el laboratorio en comparación con una marca comercial.	42

1 INTRODUCCION

El mercado de los edulcorantes está en pleno crecimiento. Los expertos han advertido la persistencia de altos consumos de azúcar refinada en las dietas diarias de la sociedad actual, que ha hecho del consumo de la comida dulce casi una obsesión. Según los expertos, los estadounidenses consumen aproximadamente 80 gramos de azúcar por día, lo que constituye una porción importante de la dieta diaria. Lo anterior representa un gran problema debido a que en los últimos tiempos se ha presentado un incremento en enfermedades tales como obesidad, hipertensión e Hiperglucemia.¹

Se han desarrollado productos alternos para que continúe el crecimiento de los edulcorantes, algunos de estos nuevos productos se han agrupado en los llamados “*natural sweeteners*” (endulzantes naturales). Uno de los endulzantes naturales que ha tenido gran aplicación recientemente es la fructosa. Este carbohidrato es encontrado en frutas, vegetales y mieles, siempre en bajas concentraciones. La fructosa ofrece un excelente nivel de dulzura, color, estabilidad y producción de energía. La Asociación Americana de Dietética (ADA) destaca que la fructosa comparada con la sacarosa puede conducir a un decremento de la glucosa en la sangre, mejorando así el control glicémico.²

Las distintas especies de agave se han procesado de diversas formas, tratando siempre de aprovechar el dulzor del agave.

En los últimos años se han explotado diversos usos para el agave, entre los que destaca la fabricación de mieles a base de fructosa, este proceso ha sido logrado de manera artesanal mediante la hidrólisis de los carbohidratos del agave por medio de calor.

En un inicio se llevó a cabo la producción de mieles utilizando únicamente *A. tequilana Weber azul*, sin embargo, recientemente se ha iniciado la fabricación de mieles obtenidas de otras variedades, sin dejar de producir las de la línea anterior.

2 OBJETIVOS DEL PROYECTO

Objetivo general

Este trabajo tiene como objetivo principal el encontrar una nueva aplicación al agave tequilana Weber azul. Se pretende desarrollar un proceso que aproveche la gran cantidad de fructanos de esta planta para la obtención de miel. Se espera la creación de empresas que, mediante la aplicación a nivel industrial del proceso propuesto, resuelvan el problema de sobreproducción de agave en nuestro país.

Objetivo particular

El objetivo particular de esta investigación consiste en probar y aplicar una nueva técnica para el proceso de producción de mieles de agave, que resulte en un incremento del contenido de fructosa, mejorando así los procesos ya existentes y la calidad en el producto final.

3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Existen ya en el mercado algunas mieles de agave, fabricadas en microempresas con procesos artesanales, sin embargo, el presente trabajo y la nueva técnica para la fabricación de mieles de agave propuesta, forma parte de un proyecto de gran escala que surge como respuesta al problema de sobreproducción de agave.

La fabricación de tequila es la principal aplicación que se ha dado a la planta de *A. tequilana Weber azul*. La Norma Oficial Mexicana NOM-006-SCFI-2005 establece la zona en que puede ser cultivado el *A. tequilana Weber azul* que será la materia prima para la producción del tequila (Fig. 1). Cualquier planta que esté sembrada fuera de las zonas de denominación no puede ser utilizada para este fin.



Fig.1 Zonas de denominación de origen.

Actualmente las zonas de denominación de origen tequila en México de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana citada anteriormente son: 124 municipios en Jalisco, 30 municipios en Michoacán, 11 municipios en Tamaulipas, 8 municipios en Nayarit y 7 municipios en Guanajuato (NOM, 1993).

A finales de la década de los 90's las tequileras tuvieron una crisis de abasto de agave y el costo por kilogramo de piña se elevó en junio del 2000 de menos de \$1.00 a \$14.00. Como resultado, muchos agricultores comenzaron a

sembrar plantas de agave pensando que sería un gran negocio. Tanto se expandió la idea, que los agricultores comenzaron a reemplazar sus plantíos de maíz y trigo por agave. Con el tiempo hubo tanto agave que el precio decayó y actualmente se vende alrededor de \$2.55 el kilogramo de piña según informa el presidente de la Confederación Nacional de la Industria Tequilera, Luxberto Romero Zazueta (Corza, 2006).

En la actualidad, se prevé que dentro de las zonas de denominación se presentará una sobreproducción de plantas. Según informes del Consejo Regulador del Tequila (CRT), se estima que existirá un exceso de agave tequilero por lo menos los próximos 6 años, entendiendo que éstos serían consumidos exclusivamente por la industria tequilera (Fig. 2).

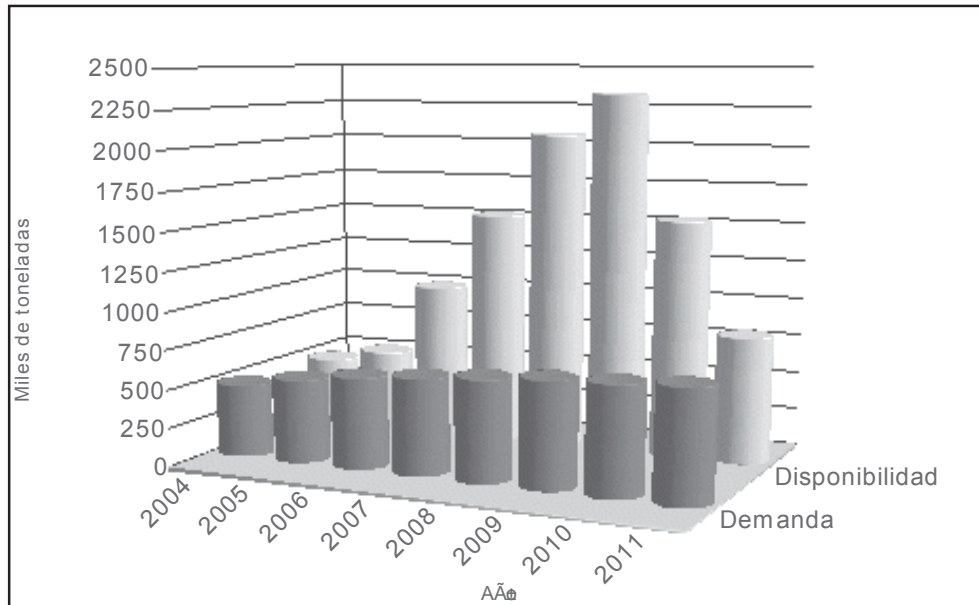


Fig.2 Disponibilidad vs. Demanda de agave tequilero (CRT).

Diversos grupos de investigación y compañías privadas, con el propósito de aprovechar el exceso de plantaciones existente, han desarrollado procesos para darle uso a los diversos compuestos del agave; como la extracción de saponinas, usos de la fibra del mezcal tequilero, extracción de prebióticos, y producción de miel de agave de alta fructosa, que es el tema que aborda este trabajo.

4 JUSTIFICACION

A finales de la década de los 90's las tequileras se enfrentaron a una crisis de abasto de agave por lo que el costo por kilogramo de piña se elevó, esto trajo como resultado que muchos agricultores comenzaran a sembrar plantas de agave pensando que a futuro el precio de este se mantendría, pero la gran cantidad de agave sembrado conllevó a una sobreproducción que trajo como consecuencia una disminución en el precio de este.

Ante la sobreproducción de agave en las zonas de denominación de origen (Jalisco, Michoacán, Tamaulipas, Nayarit y Guanajuato), se buscan alternativas de aprovechamiento para la materia prima del tequila. Los productos que pueden extraerse principalmente son miel e inulina.

Este trabajo pretende resolver los problemas que enfrenta este sector, así como convertir a los productores en industriales, bajar sus costos de fabricación y ofrecer un precio de venta atractivo.

Las mieles de origen cuentan con un mercado propio que puede resultar atractivo en los próximos 6 años, ya que es sabio que tanto el azúcar como la sacarosa son dañinos para los dientes y la salud de los seres humanos.

La miel de agave es un edulcorante con gran valor agregado, ya que por su bajo índice glicémico pudiese ser adecuado para su consumo por personas con problemas de diabetes y obesidad.

5 MARCO TEORICO

5.1 La planta de agave

El género *agave* es sin duda uno de los grupos de plantas más reconocidos por los mexicanos y uno de los que más identifican a México en todo el mundo. Dentro de este grupo se encuentra el agave tequilero (*A. tequilana* Weber var. *azul*), que es sin duda “la más mexicana de las especies vegetales” y es conocida y asociada a uno de los elementos más mexicanos “el tequila”.

La región que tuvo el mayor desarrollo para el uso del Agave fue Mesoamérica. Las tribus que ahí habitaban y tuvieron contacto con esta planta tuvieron muchas razones para proteger los agaves con esmero ya que estos les proporcionaban alimento, fibras, bebida, abrigo y la planta además llegaba a formar una gran barrera espinosa que protegía de extraños o intrusos.

Es oportuno señalar que otras especies del género *agave*, también han jugado un papel importante en el desarrollo de la cultura mexicana. El henequén es un tipo de *agave* que ha sido explotado y comercializado por su gran cantidad en fibras, de él se extrae la fibra natural de henequén de gran calidad e importancia mundial. A principios del siglo XIX el estado de Yucatán era el más rico de la república debido a que la fibra del henequén producido en este estado era el segundo producto de exportación del país después de la plata (García y de Sicilila, 1984).

El género *Agave* comprende aproximadamente 200 especies, de las cuales el 75% se encuentra en México, considerado como el centro de origen (Eguiarte et al., 2000; García-Mendoza, 2002). La palabra *agave* proviene del griego *agavos*, que significa “notable” o “admirable”. Linneo describió el género por primera vez en 1753, siendo la primera especie *agave* americana (Gentry, 1982).

A continuación se presenta la clasificación taxonómica del agave que es objeto de nuestro estudio, el agave tequilana Weber azul.

Reino: Plantae.

Subreino: Fanerógamas.

División: Angiospermas.

Clase: Monocotiledóneas.

Orden: Amarilidades.

Familia: Agavaceae.

Subfamilia: Agavoideae.

Género: Agave.

Subgénero: Agave.

Especie: Tequilana Weber.

Sección: Rigidae.



Fig.3 Planta de agave tequilana Weber azul.

5.2 Estructura del *Agave tequilana* Weber azul.

Es una planta carnosa en forma de roseta, fibrosa, de color azul o verde grisáceo originado por un alto contenido de ceras que impiden que la planta pierda agua. Sus hojas son rígidas, con espinas marginales y apicales (Fig. 3). Esta planta goza de un metabolismo crasuláceo ácido, es decir que puede tomar CO₂ de noche.

Dentro de su estructura, la piña o cabeza ha sido una de las partes más explotadas por la industria debido a que es la parte encargada de almacenar los nutrientes de la planta, principalmente inulina (Fig. 4).

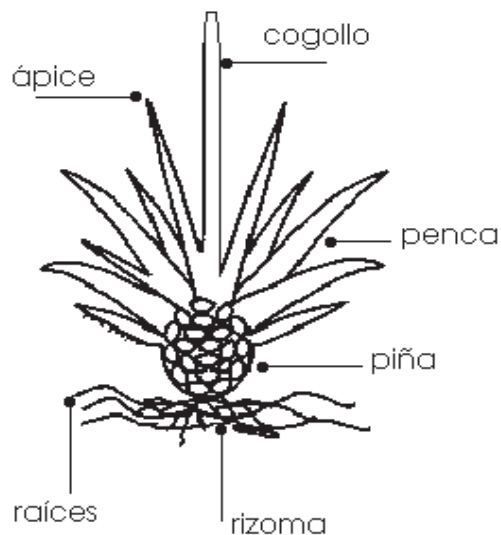


Fig.4 Estructura de una planta de agave.

Este tipo de agave tiene menos fibra que algunas otras variedades, y aunque no es el que almacena mayor cantidad de carbohidratos, es el que se trabaja de manera más fácil (CRT, 2004). Durante mucho tiempo, el principal producto obtenido de esta variedad de agave ha sido el tequila. Esta bebida es el producto obtenido de la fermentación de los azúcares contenidos en el jugo de la piña.

Tabla 1. Componentes del jugo de piña del *A. tequilana Weber azul* (Ciatej, 2004).

COMPONENTE	%
H ₂ O	60
Inulina	24
Fibras	11
Cenizas	2.7
Azúcares reductores	1.5
Proteínas	0.8

El *A. Tequilana Weber azul* es una planta de dimensiones cercanas a 1.5 metros de alto por 1.5 metros de diámetro. Sus necesidades de agua son moderadas y requiere de una exposición plena al sol.

El agave se desarrolla mejor en sitios cuya altura promedio es de 1500 metros sobre el nivel del mar, donde no están expuestos a grandes cambios de temperatura y viven preferentemente en clima templado (23 ° C). Los mejores suelos para su cultivo son los arcillosos, permeables, abundantes en elementos derivados del basalto. También es importante que los suelos tengan poco calcio porque este retarda la producción de azúcares (Gobierno de Michoacán, 2002).

Dependiendo del trazado de surcos o melgas, variará la densidad de población. La melga puede ser ancha, con distancia entre melgas de 3 metros y 1.3 metros entre planta y planta, o angosta con distancia de 1.5 metros entre melgas y 0.8 metros entre plantas (Fig. 5).



Fig.5 Plantación de agave con trazo de melgas anchas en Arandas, Jal.

En las plantaciones donde se ha usado el trazo de melgas anchas se obtiene mayor peso por piña, más jugo y mayor cantidad de azúcares. Gracias al avance en técnicas agrícolas se ha logrado reducir el periodo de cosecha a 8 años de 12 años que tardaba en lograrse una buena piña con un peso de 25 a 45Kg (Luna, 1998).

4. 3 El azúcar del agave

Para el presente trabajo es muy importante el tema “el azúcar del agave” debido a que esta será la materia prima que posteriormente convertiremos en miel.

El hecho de que el agave es rico en azúcares es conocido desde hace ya mucho tiempo, sin embargo, todavía a principios del siglo pasado no se sabía cual era el carbohidrato de reserva que utilizaba la planta de agave. En el año 1905 se descartó la idea de que esta sustancia fuera almidón y comenzaron a hacerse sugerencias de que podría ser inulina (Blanco, 1905). Con el tiempo se dio a conocer que efectivamente el carbohidrato de almacenamiento de la planta de agave era la inulina, y se propuso que la inulina de agave presentaba una estructura química igual a la de inulinas de otros vegetales (Fig. 6).

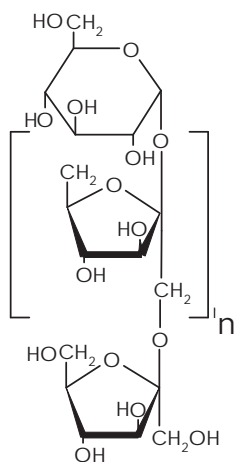


Fig.6 Estructura química de inulina en vegetales.

La inulina es un carbohidrato no digerible, forma parte de muchos vegetales, frutas y cereales regularmente consumidos tales como, cebollas, ajo, trigo, achicorias, alcachofas y plátanos. Ha sido definida como un carbohidrato polidisperso que consiste principalmente, de una glucosa inicial unida a un grupo de fructosas con enlaces fructofuranosil-fructosa $\alpha(2-1)$ (Watherhouse y Chatterton, 1993). En la inulina de achicoria, n , el número de fructosas unidas a la terminal glucosa puede variar de 2 a 70 (De Leenheer et al., 1994).

El grado de polimerización (DP) y la presencia de ramificaciones son características importantes de las inulinas, sin embargo estas eran consideradas estructuras lineales porque su porcentaje de ramificación se creía era muy bajo (De Leenheer et al., 1994).

Recientemente se ha dado a conocer que la estructura química de la inulina de agave es diferente de las inulinas anteriormente estudiadas, puesto que esta molécula no puede ser considerada lineal (Fig. 7) (López et al., 2003).

Los enlaces que presenta esta nueva estructura son $\alpha(2-1)$ y $\alpha(2-6)$, sin embargo, la nueva molécula puede presentar una glucosa intermedia y una ramificación evidente. Las investigaciones revelan que tiene un peso molecular de entre 527-4739 Da, lo cual corresponde a un rango de DP entre 3 y 29, puede ser establecido que los fructanos de A. tequilana se constituyen de al

menos 16 residuos, por lo que el radio de glucosa/fructosa es al menos 1/15 (López et al.,2003).

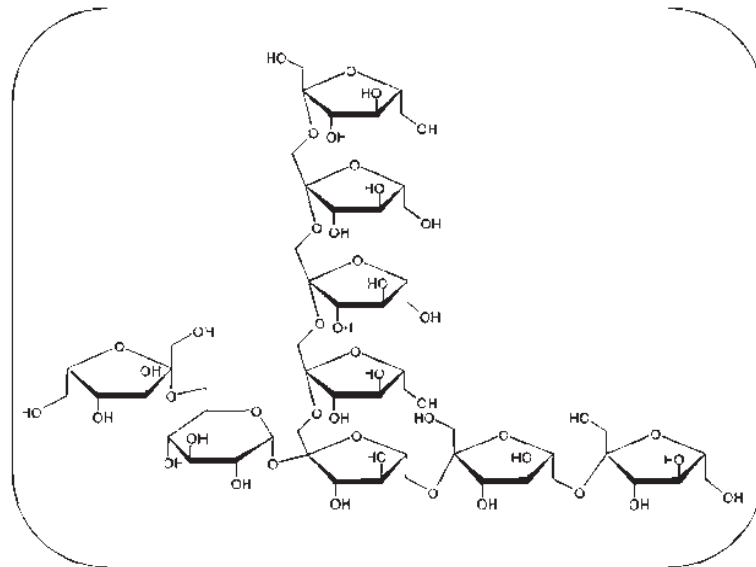


Fig.7 Estructura de la inulina de un agave tequilana de 8 años (López et al.,2003 2003)

Dependiendo del método de hidrólisis de esta molécula es posible obtener grandes cantidades de fructosa y glucosa, además, pequeñas pero no menos importantes fracciones de fructooligosacáridos (FOS).

En los últimos años se han atribuido importantes propiedades nutricionales a la inulina y actualmente representa un ingrediente clave que ofrece nuevas oportunidades a la industria alimenticia en la búsqueda de nuevos productos bien balanceados y de mejor sabor (Franck y De Leenheer, 2002).

5.4 Las bondades de los FOS

Los alimentos funcionales han sido descritos como alimentos que por medio de sus componentes fisiológicamente activos proporcionan beneficios más allá de la simple nutrición, además este tipo de alimentos pueden prevenir algunas enfermedades o promover la salud (Mujoo, 2003). Unos ingredientes funcionales que han recibido mucha importancia en la literatura científica son los fructooligosacáridos (FOS), que pueden ser obtenidos de la hidrólisis de la inulina de agave.

Los FOS son polisacáridos de cadenas cortas (DP 2-8), tienen estructuras químicas únicas y reúnen dos requisitos específicos:

- 1.- No son digeribles por los jugos digestibles humanos.
- 2.- Son consumidos preferentemente por bacterias intestinales benéficas (bifidobacterias).

Entre los FOS más conocidos tenemos (Hidaka et al., 1986):

- * 1-kestosa (1-kestotriosa; GF₂)
- * nystosa (1, 1-kestotetraosa; GF₃)
- * 1^F-β-fructofuranosilnystosa (1, 1, 1-kestopentaosa; GF₄)

Debido a sus propiedades fisicoquímicas, su poder endulzante y bajo valor calórico de 1.5 Kcal/g los FOS han sido utilizados para elaborar todo tipo de alimentos (Mujoo, 2003).

Los beneficios de la ingestión de FOS provienen del incremento de la población nativa de bifidobacterias en el colon, lo cual por su efecto antagónico suprime la actividad de bacterias putrefactivas (*Clostridium perfringens*) y reduce la formación de productos tóxicos provenientes de la fermentación (Hidaka et al., 1986; Wada et al., 1991).

Las bifidobacterias previenen el crecimiento de microbios exógenos patogénicos y el crecimiento excesivo de microflora nativa perjudicial a través de la producción de ácidos grasos de cadenas cortas y la habilidad de producir algunos materiales antibióticos (Tomomatsu, 1994). A través de la producción de ácidos grasos de cadenas cortas, las bifidobacterias también previenen la constipación debido a que estimulan la peristaltiasis intestinal (Hosono, 1990). También se ha demostrado que la ingesta de FOS ayuda al incremento de humedad en la heces fecales (Matsunami et al., 1992).

Los ácidos grasos de cadenas cortas pueden influenciar directamente la absorción mineral formando compuestos con los minerales, contribuyendo a un incremento en su absorción. Se piensa que los metabolitos de las bacterias pueden estimular el epitelio intestinal e incrementar su capacidad de absorción

(Coudray et al., 2003). Lo anterior disminuye indirectamente la probabilidad de padecer osteoporosis y previene algunos casos de anemia.

Ha sido demostrado que las bacterias ácido lácticas, incluyendo las bifidobacterias reducen el colesterol total en sangre (Hepner et al., 1979; Aoeh et al., 1986), e incrementan el ratio del HDL colesterol a colesterol total en mujeres, pero no en hombres (Bazarre et al, 1983). Las bifidobacterias también producen vitaminas B₁, B₁₂, B₂, Y B₆, ácido nicotínico y fólico (Mutai, 1978; Kanbe, 1992), sus productos de fermentación mejoran la tolerancia a la lactosa, la absorción de calcio y la digestibilidad (Huges y Hoover, 1991). La ingestión de FOS también reduce la presión sanguínea y los valores de azúcar en sangre, aunque no de forma significativa (Tomomatsu, 1994).

La inocuidad de los FOS ha sido ampliamente documentada. Los resultados no proporcionan ninguna evidencia de que los FOS poseen algún potencial genotóxico. Se han llevado a cabo estudios en animales y humanos con una ligera evidencia de efectos adversos asociados con el consumo en exceso de FOS (Hidaka et al., 1986).

5.5 El índice glicémico

El índice glicémico (GI) es un índice numérico que clasifica los alimentos en base a su velocidad de respuesta glucémica (velocidad para que se dé su conversión a glucosa dentro del cuerpo humano).

Este índice es determinado experimentalmente alimentando a personas con determinadas cantidades de comida y monitoreando sus niveles glucémicos a intervalos de tiempo específicos. La velocidad a la cual se digieren los carbohidratos difiere de persona a persona, incluso se ha dado a conocer que varía de un día a otro en la misma persona, esta es una limitación del GI, sin embargo pueden ser tomados los valores que han sido tabulados con valores de GI de varios alimentos para comparar el impacto que tienen unos y otros.

El índice glicémico (GI) usa una escala de 0 a 100, con los valores más altos para los alimentos que provocan el incremento más rápido de glucosa en sangre. La glucosa sirve de punto de referencia, y a esta se le otorga un GI de 100. Se consideran valores bajos para un IG igual ó menor a 55 U, valores intermedios a aquellos entre 56 – 69 U, y altos aquellos igual o mayores a 70 U.

La proporción fructosa: glucosa de la miel de agave, hace que ésta tenga uno de los más bajos índices glicémicos con valores reportados de hasta 10 U para miel con concentraciones mayores a 90% de fructosa, y de 40 U para miel tradicionales de agave con concentraciones de 75% de fructosa (Brand-Miller et al., 2002). Estos valores tienen relevancia al compararse con productos similares (Tabla 2).

Tabla 2. Índices glicémicos de diversos edulcorantes (Sosa-Aguirre et al., 2005).

EDULCORANTE	ÍNDICE GLICÉMICO (U)
Miel de agave, 97% fructosa	10
Miel de agave, 90% fructosa	11
Miel de agave, 75% fructosa	40
Jugo de manzana	28 – 58
Miel de abeja	37
Miel de maple	54
Jugo de naranja	46 – 57
Jugo de piña	46 – 66
Sacarosa	68
Jarabe de alta fructosa de maíz	89
Glucosa	100

La miel de agave es un edulcorante natural con gran valor agregado, ya que por su bajo IG, pudiese ser adecuado para su consumo por personas con problemas de diabetes y obesidad.

Así, el mercado de la miel es diverso, donde puede entrar al mercado de los edulcorantes naturales y competir con la miel de abeja, concentrados de jugos de frutas, miel de maple, entre otros.

5.6 La miel de agave

La miel de agave, es el resultado de la hidrólisis de la inulina de agave en fructosa, y su posterior concentración. Esta es utilizada como edulcorante, por su alto contenido de fructosa. En general la miel de agave tiene un poder edulcorante entre 1.4 a 1.8 veces mayor al de la sacarosa. En el caso de la miel de *A. tequilana Weber azul*, su poder edulcorante es de los más elevados en este grupo de mieles, ya que más del 75% de los azúcares reductores esta conformado por fructosa y el restante es principalmente glucosa.

Los métodos para producir la miel son diversos (Partida et al., 1998). Sin embargo, las etapas mínimas necesarias para la elaboración de miel son tres:

- a) Extracción de azúcares
- b) Hidrólisis de azúcares.
- c) Concentración de fructosa.

En la fase de extracción de azúcares existen diversos procesos, sin embargo, la difusión de azúcares en agua caliente ha demostrado ser el proceso más eficiente para la extracción, generando un jugo no solo rico en azúcares, sino bajo en impurezas.

Existen tres procesos mediante los cuales se puede lograr la hidrólisis; hidrólisis térmica, ácida, y enzimática. Los tres son efectivos para la hidrólisis de azúcares del jugo de agave, la principal diferencia es la manera en la que estos influyen en la calidad de la miel. El método más empleado por los productores de miel tradicionales es el térmico debido a que es un proceso que, además de ser sencillo, ha sido utilizado a través de las generaciones.

Dependiendo del nivel de calidad deseado en la miel, pueden darse una serie de operaciones unitarias adicionales que mejoran el sabor y la presentación de la miel de agave, en donde las operaciones de filtración y centrifugación para

clarificar el jugo, y el uso de columnas de intercambio iónico para remover sales y resaltar el sabor de la miel son de gran importancia.

Finalmente, es esencial la etapa de concentración de la miel por diversos métodos de evaporación. Lo más recomendable es usar evaporadores al vacío de múltiples efectos si este proceso va a ser llevado a cabo a gran escala, sin embargo, se pueden utilizar también evaporadores tradicionales de capa ascendente o descendente. La elección de las diversas opciones de proceso que existen, derivan en diferentes eficiencias de proceso, pero también en calidades de miel, en donde varía primordialmente el color.

Existen dos procesos para la producción de mieles previamente patentados en los cuales nos basaremos para establecer nuestro proceso.

a) PROCESO PARA OBTENCIÓN DE FRUCTOSA Y JARABE DE ALTA FRUCTOSA DE PLANTAS XERÓFITAS (Zepeda et al., 1983).

- 1.- Se lavan las plantas para la eliminación de cualquier impureza.
- 2.- Se procede al picado de las plantas en trozos pequeños.
- 3.- Los trozos de plantas son introducidos a un extractor y se procede a un proceso de difusión. El bagazo es introducido varias veces al extractor y posteriormente se le agrega agua a 85 -92° C.
- 4.- Se clarifica el jugo por medio de la adición de floculantes para eliminar proteínas y algunas otras partículas.
- 5.- El jugo previamente clarificado se acidula por medio de un ácido fuerte hasta lograr un pH de 3-4.
- 6.- Se hidroliza mediante calentamiento del jugo de pH bajo a 85° C por espacio de 2.5h
- 7.- Se neutraliza el ácido hasta alcanzar un pH de 6-7
- 8.- Cuando se ha logrado neutralizar el jugo, este es sometido a filtración.
- 9.- El jugo previamente filtrado es alimentado a un evaporador de múltiples efectos en donde alcanza 80° Bx en donde logra la consistencia de una miel.

b) METODO PARA PRODUCIR JARABE DE FRUCTOSA A PARTIR DE AGAVE (Partida et al., 1998).

1.- Una pulpa de agave es preparada a partir de cabezas de agave cortadas y pulverizadas, la pulpa es licuada y centrifugada para remover la solución de polifructosa.

2.- Pequeñas partículas son removidas por medio de centrifugación o filtración para así producir una solución de polifructosa substancialmente concentrada y libre de sólidos suspendidos.

3.- Los coloides son removidos para producir un extracto parcialmente puro, el extracto es tratado con carbón activado para producir un extracto puro.

4.- El extracto de polifructosa es tratado con resinas catiónicas y aniónicas para producir un extracto de polifructosa desmineralizado y parcialmente hidrolizado.

5.- El extracto es hidrolizado con inulinasas.

6.- Se concentra el extracto de fructosa hasta lograr un jarabe de fructosa.

Existen actualmente en el mercado varias marcas de miel de agave, dentro de las que destaca la miel **Nekutli**[®]. A continuación se da a conocer las características de esta miel publicadas en la página de Internet de la compañía (Tabla 3, 4 y 5).

Tabla 3. Minerales presentes en la miel Nekutli[®] (www.dalite.com.mx).

Minerales: (partes por millon)	
Cobre	<1
Hierro	<1
Sodio	<5
Calcio	<15
Potasio	<10
Magnesio	<10
Plomo	No Detectado
Cadmio	No Detectado
Mercurio	No Detectado
Cromo	No Detectado
Arsénico	<1

Tabla 4. Propiedades físicas de la miel Nektli® (www.dalite.com.mx).

Propiedades físicas:	
Ph	3.68-3.72
° Brix a 20°C	76.8-77.4
Dispersabilidad en agua	Excelente
Sabor	Varía
Color	Varía

Tabla 5. Composición química de la miel Nektli® (www.dalite.com.mx).

Composición química :	
Humedad %	21.5-23.6
Materia seca %	76.3-78.5
Ceras %	0.08-0.20
Carbohidratos totales %	99.32-99.96
D-Fructosa	67.2-69.7
Dextrosa (Glucosa)	26.5-28.8
Maltosa	1.28-1.45
Maltodextrosa	1.05-1.22
Tetramaltosa	0.60-0.73
Grasa %	0.00
Colesterol %	0.00

6 DESARROLLO

El presente trabajo propone una nueva técnica para la fabricación de mieles a partir de inulina de agave. La innovación del proceso consiste en hidrolizar la inulina presente en el agave por medio de hidrólisis térmica y así obtener una miel rica en fructosa de excelente calidad.

En la parte práctica de este trabajo, se produjo miel a partir de jugo de agave proveniente del estado de Jalisco. El proceso de fabricación propuesto en este trabajo está basado en las dos patentes anteriormente citadas (Zepeda et al., 1979; Partida et al., 1998), sin embargo se realizaron algunas modificaciones para obtener un proceso propio y un producto de características específicas.

El mercado de las mieles está repartido entre personas que prefieren la miel en diferentes tonos de color, sin embargo, cuando la miel va a ser usada como endulzante en alimentos, es importante que tenga un color que no vaya a cambiar las características del alimento al que será agregada. Por esta razón el pulido de color es importante para nosotros. El producto obtenido al final del proceso será una miel de color predeterminado y alto contenido de fructosa (90%).

La estrategia de trabajo fue la siguiente:

1. Búsqueda información acerca de la producción de mieles.
2. Análisis la información encontrada.
3. Diseño de un proceso que mejora los procesos encontrados.
4. Establecimiento de las condiciones de operación del proceso (temperaturas, presiones, tiempos)
5. Aplicación del nuevo proceso para la obtención de miel.
6. Análisis del producto obtenido.

Para el establecimiento de las condiciones de proceso, cada etapa del proceso fue repetida con diferentes condiciones de operación, se analizaron los resultados y se determinó cuales eran las condiciones que debían utilizarse para el procesamiento de la miel, a continuación se reportan las condiciones

que fueron escogidas como óptimas y no se reportan los resultados de cada uno de las pruebas fallidas por considerarlos no significativos.

Antes que nada daremos a conocer el diseño del proceso, es decir, la secuencia de operaciones a seguir que este trabajo propone para la producción de miel de agave (Fig. 8).

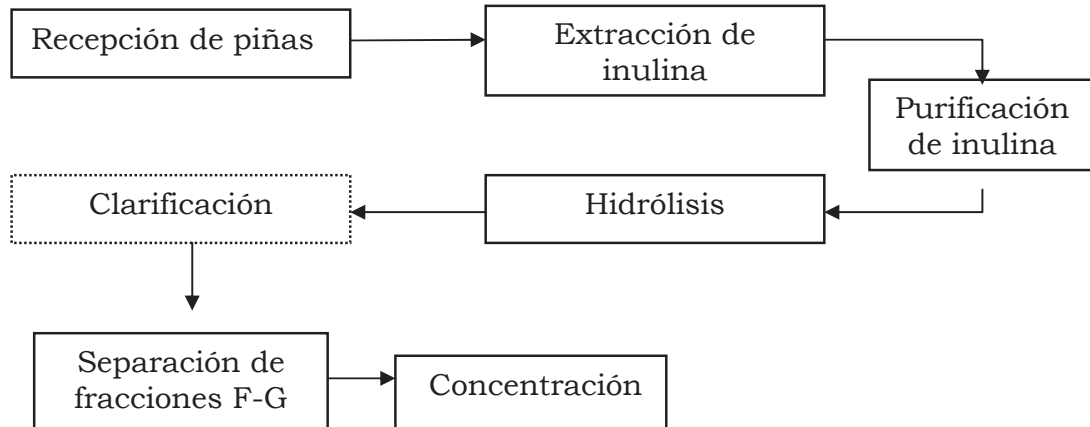


Fig.8 Diagrama del proceso de producción de miel de agave.

En el diagrama anterior se muestran las etapas de proceso esenciales para producción de miel a partir de agave, sin embargo, se puede observar que la etapa de clarificación está encerrada en un cuadro punteado, esto es debido a que esta etapa es la única opcional, será usada para pulir el tono de color de la miel. El análisis que fue hecho en este trabajo comienza en la tercera etapa del diagrama, es decir, parte del jugo ya obtenido.

- 1. Recepción de piñas.** Antes que nada, es necesario tener la materia prima suficiente para la elaboración de nuestro producto, que son las piñas de la planta de agave de 8 años y más de 35 Kg de peso.
- 2. Extracción de inulina.** Durante esta etapa, la inulina contenida en la piña de agave es extraída en forma de jugo de piña rico en inulina, sin embargo, este jugo contiene también otros carbohidratos, proteínas, minerales y algunas vitaminas.
- 3. Purificación de inulina.** En esta parte del proceso, todas las sustancias presentes en el jugo que no sean inulina son eliminadas

mediante diversas operaciones. De esta etapa del proceso obtenemos una solución rica en inulina.

- 4. Hidrólisis.** Esta etapa es una de las más importantes. Durante esta etapa la inulina será convertida en fructosa y glucosa.
- 5. Clarificación.** Esta es una operación opcional debido a que por medio de ella únicamente cambiaremos el tono de color de la miel y este dependerá del gusto del consumidor.
- 6. Separación de fracciones Fructosa-Glucosa.** En esta etapa la pequeña fracción de glucosa obtenida durante la hidrólisis es eliminada de la solución, obteniéndose así una solución de fructosa.
- 7. Concentración.** La parte final del proceso es la concentración de la solución de fructosa, esta concentración llevará la solución hasta aproximadamente 70° Bx-75°Bx.

6.1 Purificación de jugo

Los jugos de agave con los cuales estuvimos trabajando, provinieron de compañías tequileras y fueron elaborados con piñas de agave cultivadas en el estado de Jalisco. Antes que nada, es importante mencionar que no existe mucha información acerca del jugo de agave, por lo tanto, lo primero que se hizo fue caracterizarlo (Tabla 6).

Se determinó el pH mediante un potenciómetro, se hizo la medición del ° Bx por medio de un refractómetro y la densidad fue determinada por medio de la técnica simple de pesado de un volumen conocido.

Tabla 6. Características del jugo de agave.

Característica	Valor
Ph	4.2 – 4.5
° Bx	11 – 22
Densidad (Kg/m ³)	1043.75

La primera de las etapas de proceso comienza con el jugo de agave tal como fue extraído. Esta etapa se compone de 3 operaciones que tienen como finalidad liberar al jugo de cualquier componente que no sea inulina. A continuación se presentan las 3 operaciones necesarias para lograr la purificación de inulina

a) Eliminación de sólidos suspendidos

Durante la extracción se retienen en el jugo gran cantidad de fibras, además, el jugo del mismo modo que contiene carbohidratos, contiene de manera natural proteínas y algunas sustancias coloidales que nos proporcionan una alta turbidez. Es necesario eliminar los sólidos suspendidos para purificar nuestro carbohidrato de interés, esto se llevó a cabo mediante dos procesos: calentamiento y filtración.

1. Calentamiento. Esta operación consiste en elevar la temperatura del jugo, para de esta manera, desnaturalizar las proteínas presentes en él y precipitar algunos sólidos suspendidos. Durante la etapa de experimentación se probaron varias temperaturas y varios tiempos. Se determinó que las condiciones a las cuales se debe operar son 70 °C durante 120 minutos para la mejor eliminación de proteínas y la mejor conservación de los carbohidratos.

2. Filtración. Después de haber precipitado las proteínas se realiza un decantado donde se eliminan los sólidos de mayor tamaño y un microfiltrado donde se eliminan las partículas más pequeñas. La microfiltración se llevó a cabo por medio de membranas de microfiltración a través de poros de 0.2µm. Terminado este proceso nuestro jugo se encuentra libre de sólidos y presenta una apariencia completamente traslúcida (Fig. 9C).

A continuación se presenta una figura comparativa del proceso de eliminación de sólidos suspendidos (Fig. 9). La fotografía **A** corresponde al jugo recién extraído cuya composición está rica de sólidos suspendidos, en la fotografía **B** se muestra un jugo que sometido a calentamiento se ha liberado de

proteínas y algunas otras partículas en suspensión y finalmente en la fotografía **C** se observa un jugo que ha sido sometido al proceso de microfiltración y su principal composición ahora es solamente compuestos coloreados, inulina y minerales.



Fig.9 El jugo de agave durante la etapa de sólidos suspendidos.

b) Desmineralización

Dentro del proceso de producción de la miel uno de las principales etapas es la de desmineralización, esto debido a que durante esta etapa se eliminan los minerales, además de otros compuestos como ácidos orgánicos, compuestos aromáticos, etc. Durante la operación de intercambio iónico se eliminan algunos sabores propios de la planta de agave que han sido adquiridos por el jugo y que de no ser eliminados en este momento serán adquiridos por la miel.

En esta parte del proceso se lleva a cabo una de las primeras operaciones encargadas de pulir el sabor de la miel. La desmineralización del jugo se llevó a cabo por medio de resinas sintéticas DOWEX® Ion Exchange Resins.

Las resinas convencionales de intercambio iónico consisten en un polímero tipo cross-linked con una distribución uniforme de sitios de iones activos a través de la estructura (Dowex[®], 2002). Una resina de intercambio de cationes con una matriz cargada negativamente es capaz de intercambiar iones positivos (cationes), y por el contrario una resina aniónica que ha sido cargada con matriz positiva es capaz de intercambiar iones negativos (aniones).

Existen varias compañías fabricantes de resinas de intercambio iónico, cada tipo de resina tiene un manual de uso y en él se indican los cuidados y las instrucciones de uso. En nuestro proceso fueron utilizadas las resinas fabricadas por la compañía DOWEX[®]. A continuación se presentan sus propiedades (Tabla 7) y las condiciones de operación sugeridas en el manual de operación (Tabla 8) (Dowex[®], 2002).

Tabla 7. Propiedades típicas de las resinas DOWEX[®].

	DOWEX 88	DOWEX MONOSPHERE 88	DOWEX 66	DOWEX MONOSPHERE 77	DOWEX 88 MB	DOWEX 22
TIPO	catiónica fuerte	catiónica fuerte	aniónica débil	aniónica débil	Catiónica fuerte	Aniónica fuerte tipo II
GRUPO ACTIVO	Sulfato	Sulfato	amina terciaria	amina terciaria	Sulfato	Amina cuaternaria
FORMA IONICA (COMO ES PRODUCIDA)	Sodio	Sodio	Base libre	Base libre	Sodio	Cloro
ESTRUCTURA	Macroporosa estireno-divinilbenceno	Macroporosa estireno-divinilbenceno	Macroporosa estireno-divinilbenceno	Macroporosa estireno-divinilbenceno	Macroporosa estireno-divinilbenceno	Macroporosa estireno-divinilbenceno
FORMA FISICA	Esferas	Esferas uniformes	Esferas	Esferas uniformes	Esferas	Esferas
CAPACIDAD TOTAL	1.8 meq/ml, min	1.8 meq/ml, min	1.6 meq/ml, min	1.7 meq/ml, min	1.8 meq/ml, min	1.2 meq/ml, min
CAPACIDAD DE RETENCION DE AGUA	42-48%	42-48%	40-50%	40-50%	42-48%	48-56%
% DE EXPANSIÓN	~5%	~5%	~20%	~22%	~5%	~12%

Tabla 8. Condiciones de operación sugeridas para el manejo de resinas DOWEX®.

	DOWEX 88	DOWEX MONOSPHERE 88	DOWEX 66	DOWEX MONOSPHERE 77	DOWEX 88 MB	DOWEX 22
TEMP. MAX DE ALIMENTACIÓN	93° C	93° C	60° C	60° C	93° C	46° C
ALTURA MINIMA DE LA CAMA	91 cm.	91 cm	91 cm	91 cm	91 cm	91 cm.
NIVEL DE REGENERANTE	96-112 Kg/m ³	80-96 Kg/m ³	80-96 Kg/m ³	64-80Kg/m ³	96-112 Kg/m ³	64-80 Kg./m ³
CONCENTRACIÓN DE REGENERANTE	7% HCl	7% HCl	4% NaOH	4% NaOH	7% HCl	4% NaOH
TEMP. MAX. DE REGENERANTE	93° C	93° C	60° C	60° C	93° C	46° C
REGENERANTES SUBSTITUTOS			5% Na ₂ CO ₃	5% Na ₂ CO ₃		7% Na ₂ CO ₃

Se procesó un volumen conocido de jugo a través de las membranas, primeramente se paso a través de la columna cargada de resina catiónica y posteriormente se pasó a través de la columna cargada de la resina aniónica. El proceso fue monitoreado mediante la toma de conductividad del jugo a la salida de las columnas en un cromatógrafo (Fig. 10).



Columnas de intercambio iónico

Fig.10 Cromatógrafo de baja presión utilizado para obtener las gráficas de conductividad del jugo.

Para conocer el grado de mineralización del jugo, se hizo un análisis en donde fue monitoreada su conductividad, que nos indica la presencia de iones. Mientras se pasaba el jugo por las columnas de intercambio iónico (Fig. 10), la conductividad fue medida en diferentes tiempos a la salida de las columnas. Los datos obtenidos de conductividad contra tiempo fueron graficados.

Tabla 9. Valores de conductividad del jugo rico en inulina obtenidos durante el proceso de desmineralización.

TIEMPO (min)	CONDUCTIVIDAD (mS)
0	0
2	0
4	0
6	0.05
8	0.1
10	0.2
12	0.4
14	0.6
16	0.7
18	0.8
20	0.7
22	0.7
24	0.7
26	0.7
28	0.7
30	0.7
32	0.7
34	0.7
36	0.7
38	0.7
40	0.7
42	0.7
44	0.7
46	0.7
48	0.9
50	1.1
52	1.4
54	1.6
56	2
58	2.3
60	2.45
62	2.6
64	2.8
66	3



Fig. 11 Gráfica de conductividad del jugo a la salida de las columnas.

En la figura anterior (Fig. 11), se muestra la gráfica de los datos obtenidos durante el proceso de desmineralización, el jugo rico en inulina utilizado para realizar la desmineralización de la cual obtuvimos esta gráfica tenía una conductividad de 3.09 mS antes de pasar a través de las columnas.

El comportamiento de la curva nos muestra 3 diferentes fenómenos de intercambio que hemos dividido en zonas. En la zona 1 se observa un incremento en la conductividad debido a que apenas está saliendo el agua contenida en las columnas de conductividad apenas arriba de cero y comienza a salir el jugo, además de que las resinas aún no alcanzan el equilibrio. En la zona 2 el proceso de desmineralización ha alcanzado el equilibrio cercano al valor de 0.7 mS, esto debido a la combinación de la velocidad de flujo y la velocidad de intercambio de iones en la matriz. En la zona 3 se muestra como sube la conductividad porque las resinas están entrando en un estado de saturación.

Antes de someter el jugo a la operación de intercambio iónico tenía un sabor astringente que adquirió en el momento de ser extraído y después de este proceso el jugo perdió la astringencia, dando claridad al dulzor.

En la siguiente tabla (Tabla 10) se reportan los resultados del análisis del contenido de minerales presentes antes y después del proceso de intercambio iónico.

Tabla 10. Minerales en el jugo antes y después de la desmineralización.

ELEMENTO	JUGO SIN DESMINERALIZAR (mg/L)	JUGO DESMINERALIZADO (mg/L)
Na	57.5	18.4
K	745.65	3.51
Ca	31.16	2.038
NO ₃	3.370	2.027
PO ₄	2.307	2.94
Carbonatos	1400	1488
Cu	0.023	0.0019

6.2 Hidrólisis térmica de inulina

Como anteriormente se mencionó, la innovación de la técnica propuesta en este trabajo, consiste en gran parte en llevar a cabo la hidrólisis de los carbohidratos por medio de hidrólisis térmica, el cual tiene como propósito desdoblar los carbohidratos principalmente la inulina presente en la planta del agave, para obtener los azúcares simples como la fructosa y glucosa.

Tras varias pruebas realizadas al jugo de agave se determinó el pH, temperatura y tiempo de reacción con las cuales se logra la hidrólisis.

Las condiciones de operación del proceso de hidrólisis de la inulina son:

T °C = 114

pH = 4

Tiempo de reacción = 30 minutos

6.3 Clarificación

Después de haber transformado el jugo en una solución rica en fructosa y glucosa, es decir, de haber hidrolizado el jugo, el siguiente paso es la eliminación de color, esto si se quiere modificar la tonalidad, sino es así, esta etapa del proceso puede eliminarse.

El mercado de la miel de agave tiene compradores que solicitan miel de agave en diferentes tonos de color que van de transparente al color ámbar (Fig. 12).



Fig. 12 Miel de agave 75° Bx de diferentes tonalidades.

Para lograr las diferentes coloraciones de miel es necesario eliminar compuestos que confieren color, algunos de ellos adquiridos desde la extracción, y algunos otros, tales como el hidroximetilfurfural (HMF) procedentes de la reacción de Maillard provocada por las temperaturas de proceso.

Para la eliminación de los compuestos coloridos del jugo empleamos una resina adsorbente proporcionada por la compañía Dowex® que ha sido diseñada para tener las mismas propiedades del carbón activado, sin embargo, es mucho más fácil de trabajar, principalmente por su capacidad de regeneración.

Las reducciones de color de 70% a 75% pueden darse en colores naturales con un solo proceso de adsorción y aproximadamente 50% del color puede ser reducido en colores adquiridos después de un tratamiento térmico.



Fig.13 Miel de agave 70° Bx.

6.4 Separación de las fracciones fructosa-glucosa

Cuando se ha hidrolizado el jugo, este contiene en solución donde los azúcares reductores se distribuyen en aproximadamente 30% de glucosa y 70% de fructosa. La miel de agave tendrá un contenido de fructosa de aproximadamente 90%, por lo tanto es necesario eliminar la glucosa necesaria para llegar a estos niveles. Para realizar la separación de los dos carbohidratos en solución se utilizó una columna cromatográfica rica en calcio.

Las resinas de separación cromatográfica para azúcares son funcionales, donde las esferas de resina poseen grandes cantidades de agua. Los azúcares que serán separados interactúan con las moléculas de Ca^{2+} que están expuestas en la superficie de las esferas donde la separación se da por las diferentes fuerzas de interacción entre los azúcares presentes en la muestra.

Lo que se observa es que la fructosa tiene una mayor interacción con el Ca^{2+} por lo que la velocidad de elución es mucho más lenta que la velocidad de elución de la glucosa. Sin embargo, una desventaja de este método es el hecho de que existe una importante dilución de la muestra.

Como se observa a continuación (Fig. 14), la fuerte interacción fructosa – calcio provoca que la glucosa sea la primera en salir, mientras la fructosa queda retenida más tiempo en la cama de resina.

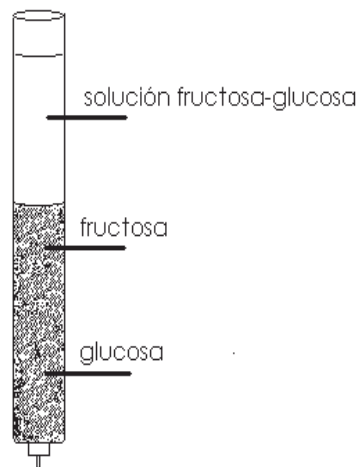


Fig.14 Columna cromatográfica de separación fructosa – glucosa.

6.5 Concentración

La miel de agave se concentra a partir del jugo rico en fructosa y se lleva a cabo por medio de la evaporación del excedente de agua. Las propiedades físico-químicas de la solución que se concentra y del vapor que se separa tienen un efecto considerable sobre el tipo de evaporación que debe usarse y sobre las condiciones a las cuales se debe llevar a cabo el proceso.

Las sustancias orgánicas suelen ser muy sensibles al calor debido a que contienen gran cantidad de sustancias termolábiles (vitaminas, proteínas, sustancias coloridas), por lo tanto, es necesario que durante el proceso de evaporación de este tipo de sustancias se tenga especial cuidado en el control de temperaturas y presiones. Dado que generalmente este tipo de sustancias son utilizadas para consumo humano, los diseños de evaporadores se hacen en materiales especiales como acero inoxidable grado alimenticio.

El grado de degradación de las sustancias orgánicas durante la evaporación está en función de la temperatura y del tiempo de procesamiento. Para mantener a un nivel bajo la temperatura de los materiales termosensibles es necesario operar a presiones inferiores a 1 atm, es decir, presión de vacío.

El jugo de agave rico en fructosa carece de alguna vitamina de importancia para nosotros, sin embargo, nos interesa evitar la caramelización de la fructosa que inicia a partir de los 80° C y para ello es necesario mantener baja la temperatura en el proceso de evaporación. Así, la evaporación del jugo se llevó a cabo en el evaporador al vacío hecho de cristal PIREX (Fig. 15).

La evaporación de jugo rico en fructosa se llevó a cabo 65° C y 0.7 atm, el jugo antes de evaporar tuvo una concentración de aproximadamente 15° Bx, a los que se llegó después de la separación de fructosa-glucosa, hasta los 70-75° Bx en los cuales ya se tiene la concentración de fructosa deseada y la consistencia de una miel.



Fig.15 Dispositivo de evaporación

Se hizo un análisis de azúcares por medio de HPLC (High Performance Liquid Chromatography) de la miel obtenida en esta etapa del proceso, a continuación se presenta la gráfica obtenida (Fig. 16).

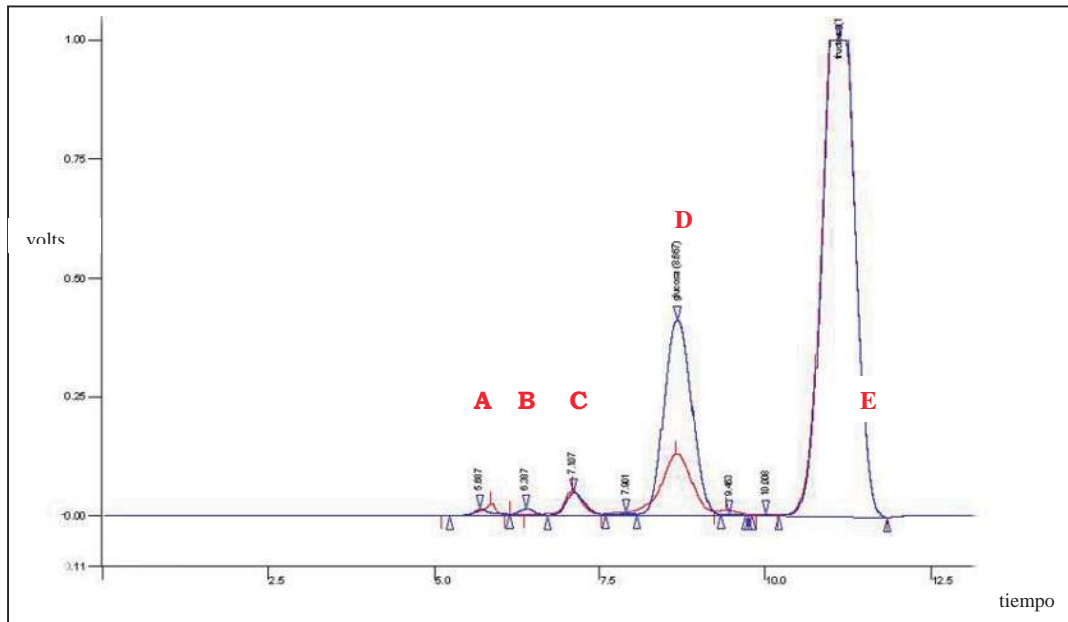


Fig. 16 Cromatograma de la miel después de la concentración.

En el análisis anterior se determinó la fracción de fructosa en la muestra de miel después de llevar a cabo la separación fructosa-glucosa.

En la gráfica, la línea roja es la de nuestro interés. A cada pico se le dio una letra A, B, C, D, y E; cada pico nos indica la presencia de un carbohidrato como se muestra en la tabla 11.

Tabla 11. Interpretación del cromatograma de la fracción rica en fructosa.

Pico	Carbohidrato	Area de la gráfica	Percentage en la muestra
A	Oligofructosa	617041.287	1.433429
B	Kestosa	249175.636	0.578852
C	Sacarosa	1340328.27	3.113674
D	Glucosa	3340565.27	7.760361
E	Fructosa	37503797.5	87.12388

Como se puede observar, el contenido de fructosa en la miel de agave analizada es de casi 90%, es decir, se cumplió el objetivo propuesto en un principio.

7 MATERIALES Y METODOS

Al finalizar este trabajo se hizo la caracterización del producto obtenido. Los métodos y equipos utilizados para las determinaciones se describen a continuación.

- Antes que nada se verificaron los grados Brix del producto mediante la medición del índice de refracción de la miel de agave a 20° C. Esta prueba fue hecha con un refractómetro.

Marca comercial: ATAGO

Modelo: N-1α

- El pH de la miel (75° Bx) fue medido a 20° C con un potenciómetro.

Marca comercial: CORNING

Modelo: PhMETER 320

- La viscosidad de la miel (75° Bx) fue medida a 25° C con un viscosímetro.

Marca comercial: BROOKFIELD

Modelo: DV-II+

Spindle: 1

Velocidad: 2.5 RPM

Tiempo: 1.5 min

Volumen de muestra: 500 ml

- La densidad del jugo y de la miel fue determinada mediante una técnica analítica cuantitativa simple a 20 ° C. Se pesó un volumen de 100ml de miel y mediante la fórmula $\rho = \text{masa (Kg)}/\text{volumen(L)}$ se determinó el valor.

- El color de la miel fue medido con un espectrofotómetro de color.

Marca comercial: HUNTER LAB

Modelo: COLORFLEX

El espectrofotómetro de color marca HUNTER LAB te brinda el color que ha detectado mediante 3 valores. En la tabla 12 se muestra los rangos de valor de las unidades LAB para determinar color.

Tabla 12. Especificaciones para la interpretación de colores en un espectrofotómetro de color marca HUNTER LAB.

ESCALA DE COLOR HUNTER LAB	
ESPECIFICACIONES	ESCALA
L	(0) Negro a Blanco (100)
A	(-) Verde a Rojo (+)
B	(-) Azul a Amarillo (+)

- El porcentaje de humedad fue determinada mediante una termo-balanza.

Marca comercial: OHAUS

Modelo: MB45

Temperatura: 140° C

Tiempo: 31.31min

Cantidad de muestra: 1g

- La determinación de la cantidad de cenizas se hizo mediante la técnica de diferencias de peso. Se pesó una cantidad de muestra en una cápsula de porcelana previamente secada y tarada, se sometió a incineración a una temperatura de 250° C en una mufla durante 5h y se pesó después.

- La cantidad de fructosa y glucosa en la miel se determinó mediante un HPLC (High Performance Liquid Chromatography). La muestra se preparó mediante una dilución 1:10 en agua destilada, y posteriormente hizo pasar la muestra por un filtro de 2 micras.

Marca comercial: VARIANT

Modelo: PRO STAR

Nombre de la columna: Aminex HPX-87C (BioRad)

Cantidad de muestra inyectada: 20µ

Fase móvil: AGUA DESIONIZADA A 80° C

Tiempo de duración del programa: 20min

Flujo: 0.7ml/min

Presión: 70a

8 RESULTADOS OBTENIDOS

El resultado final de la serie de operaciones aplicadas al jugo de agave fue la obtención de una miel con características que a continuación mencionaremos. Del volumen de jugo que fue procesado para la obtención de la miel, una parte fue extraída por medio de un difusor y la otra por medio de un molino. Se observó que cada técnica de extracción presenta ventajas y desventajas. A continuación se presenta una tabla con las características de cada una de las técnicas (Tabla 13).

Tabla 13. Características de las técnicas de extracción de jugo de agave.

	DIFUSOR	MOLINO	DESVENTAJAS
Cantidad de carbohidratos extraídos	Se extrae la mayor cantidad de azúcares posible, es decir, es un proceso muy eficiente (98% eficiencia).	Existe gran cantidad de azúcares que se quedan atrapados en las fibras de la piña, existe un gran desperdicio de azúcar (70-80% eficiencia).	Con el proceso de molienda se necesitan más piñas para conseguir la misma cantidad de fructosa
Concentración del jugo obtenido	A pesar de que es un proceso muy eficiente, el jugo obtenido tiene una concentración baja, está diluido aprox. 11° Bx.	El jugo que se obtiene por medio de esta técnica presenta una concentración de aprox. 20° Bx, tiene menos azúcar, pero también menos agua.	Con el proceso de difusión, los costos de evaporación se incrementan
Contenido de sólidos del jugo	La carga de sólidos suspendidos es baja, < del 1%.	El jugo presenta trozos de fibra de gran tamaño (aprox. 5 cm.), además de que tiene gran cantidad de sólidos en suspensión.	Si se obtiene el jugo por molienda se necesita realizar una etapa más de filtrado y se incrementan los costos de purificación de jugo

8.1 CARACTERISTICAS DE LA MIEL OBTENIDA

El producto que se obtuvo al final de todo el proceso fue una miel de sabor muy dulce, pero suave al paladar, incluso cuando se ingieren grandes cantidades del producto no se tiene la sensación de estar empalagado. Una de las muchas características que la hacen ser mejor que la miel de abeja es que esta no cristaliza. Se pronostica que el producto tendrá una vida de anaquel de aproximadamente dos años como mínimo.

Los resultados de todas estas pruebas se resumen en la Tabla 14.

Tabla 14. Resultados de la caracterización de la miel de agave procesada en el laboratorio en comparación con una marca comercial.

ESPECIFICACIÓN	MIEL DE AGAVE PRODUCIDA EN EL LABORATORIO	MARCA COMERCIAL
° Bx	75	77
Ph	4	3.8
COLOR		
L	8.09	9.52
A	-0.33	-0.55
B	2.45	2.8
CONTENIDO DE FRUCTOSA	87.12% \pm 2%	67.2-69.7%
CONTENIDO DE GLUCOSA	7.76% \pm 1%	26.5-28.8%
CONTENIDO DE OTROS CH'S	5.12% \pm 1%	2.93-3.4%
HUMEDAD	18.13 %	16.5 %
VISCOSIDAD	1100 Cp	1000 cP
DENSIDAD	1384.5 (Kg./m ³)	---

Como se puede observar las características de las mieles son muy similares, sin embargo, es notable que la miel de agave procesada en el laboratorio tiene mayor contenido de fructosa y menor contenido de glucosa, esto hace que la miel que nosotros hemos procesado sea más recomendable que la miel comercial para ser consumida por diabéticos y personas con problemas de peso. En la siguiente figura se observa que la proporción de fructosa en el producto final es de más de 90% (Fig. 17).

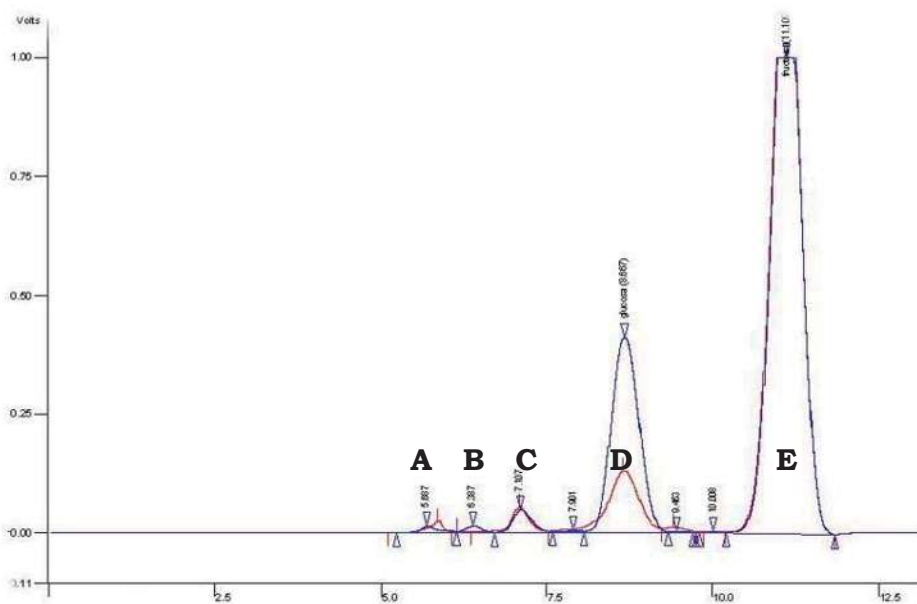


Fig.17 Cromatograma de la miel de agave.

En el cromatograma se muestra la gráfica resultada del análisis en el HPLC. La línea roja representa la miel elaborada en el laboratorio y la miel comercial está representada por la línea azul. La línea roja indica menos contenido de glucosa y mayor contenido de fructosa en comparación con la línea azul. En cuanto a los demás carbohidratos, se puede observar que ambas muestras contienen los mismos, pero en diferente proporción.

Ambas mieles presentan baja viscosidad, lo que hace que la miel sea un buen ingrediente endulzante para alimentos. Es interesante señalar que en esta ocasión se reportan los resultados del análisis colorimétrico de dos muestras de color semejante, sin embargo, se debe recordar que es posible reducir el color de la miel tanto como se desee mediante la realización del proceso de clarificación. Todas las características anteriormente mencionadas hacen de este, un producto altamente interesante para la industria alimenticia.

9 CONCLUSIONES

Una vez finalizado el trabajo podemos concluir que nuestros objetivos se cumplieron, es decir:

- La miel de agave obtenida en el laboratorio presenta una concentración mayor de fructosa en comparación con la miel comercial, con esto podemos decir que puede ser consumida por personas con problemas de obesidad e incluso personas diabéticas.
- La nueva técnica empleada en este trabajo nos permitió obtener miel en diferentes tonalidades, conservando el sabor característico del agave.
- La producción de miel de agave puede servir para resolver el problema de la sobreproducción de agave y con ello abrir nuevas fuentes de trabajo para muchas personas.

10 LITERATURA CITADA

- Aoeh S., Susuki Y., Hirota T., Ahiko K., y Togawa Y. (1986) The effects of lactic acid bacteria and intestinal microflora on cholesterol metabolism in rats. *Abstrs. Gth Japan Bifidus Center Conf.*, Tokyo.
- Adams B.A. y Holmes E.L. (1935) *J. Soc. Chem. Ind* 54,1-6T.
- Bazarre T.L., Wu S.L., y Yuhes J.A. (1983) Total and HDL-cholesterol concentrations following yogurt and calcium supplementation. *Nutr. Repts. Int.* 128:1225-1232.
- Blanco G. Estudio sobre el mezcal. *Mem. Soc. Alzate*. México, 1905.
- Brand-Miller J.C., Holt S.H., Pawlak D.B., y McMillan J. (2002) Glycemic index and obesity. *Am. J. Clin. Nutr.* 76(supp):281S-285S.
- Ciatej. Ciencia y Tecnología del Tequila, avances y perspectivas. Guadalajara, 2004.
- Corza A. (Febrero, 2006) *La Voz de Michoacán*. Pág 6G y 7G .
- CRT AC. Avances de la Investigación en el Agave Tequilero. Guadalajara, 2004.
- Heldmand D.R. y Luna D.B. Handbook of Food Engineering. Marcel Denker Inc. USA, 1992.
- De Leenheer, L., Hoebregs, H. (1994) Progress in the elucidation of Chicory inulin. *Starch*, 46(5):193-196.
- DeNinno M.P., McCarthy P.A., Duplantier K.C., Eller C., Etienne J.B., Zawistoski M.P., Bangerter F.W., Chandler C.E., Morehouse L.A., Sugarman E.D., Wilkins R.W., Woody H.A. y Zaccaro (1997) L.M. Steroidal glycoside cholesterol absorption inhibitors. *J. Med. Chem.* 40(16):2547-2554.
- Earle R.L. Ingeniería de los alimentos. ACRIBIA. España, 1988.
- Eguiarte L.E., Souza V. Y Silva A.-Montellano. 2000. Evolución de la familia Agavaceae: filogenia, biología reproductiva y genética de poblaciones. *Bol. Soc. Bot. Mex.* 66: 131-150.
- Felder R. M. y Rosseau M.W. Principios elementales de los procesos químicos. Addison Wesley. N. Y., 1986.

- Franck A. y De Leenheer L. Biopolymers, vol. 6 Editor; A. Steinbuchel, Wiley – VCH, Weinheim, Germany, 2002.
- García de F.A. y de Sicilia A. El mercado mundial de la fibras duras. Centro de Investigación de Yucatán, A. C. Mérida Yucatán, 1984.
- Gentry H.S. Agaves of Continental North America. University of Arizona Press. Tucson, Arizona, 1982.
- George T. A. Manual de procesos químicos en la industria. Mc Graw– Hill. México, 1992.
- Gibson G.R., Beatty e.r., Wan X. y Cummings J. H. (1999) Selective stimulation of Bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *J. Nutr.* 108 (4):975-982.
- Gobierno de Michoacán. Manual Técnico para la siembra de Agave. Morelia, 2002.
- Hepner G., Fried R.S. Jeor S., Fusetti L., y Morin R. (1979) Hypocholesterolemic effect of yogurt and milk. *Am. J. Clin. Nutr.* 32: 19-24.
- Hidaka et al. (1986) effects of fructooligosaccharides on intestinal flora and human health 5(1): 37-50.
- Hoehn et al. (1983) Patente americana US 4,421, 852.
- Hosono A. (1990) Functionality improvement of milk by fermentation. *New food Ind.* 32(10):51.
- Huges J.B., y Hoover, D.G. (1991) Bifidobacteria: Their potential for use in American dairy product. *Food Technol.* 45(4):74, 76, 78-80, 83.
- Idarraga G. et al. (1999) Pulp and paper from blue agave waste from tequila. *J. Agric. Food Chem.* 47(10):4450-4455.
- Iniguez-Covarrubias G., Diaz-Teres R., Sanjuan-Duenas R., Anzaldo-Hernandez J. Y Rowell R.M. (2001) Utilization of by-products from the tequila industry. *Bioresour Technol.* 77(2):101-8.
- Kambe M. (1992) Uses of intestinal lactic acid bacteria and health. Chpt. 13 in Nakasawa and Hosono(1992)p. 300.
- Kato K., Araki T., Kitamura T., Morita N., y Suzuki Y. (1999). Purification and properties of a thermostable inulinasa from *Bacillus stearothermophilus*

KP1289. *Starch*. 51(7): 253-258.

Lee T.K., Shin H.C., Choi Y.J. y Yang, H.C. (1988). *Kor.J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 16, 484–488.

Lopez M.G., Mancilla-Margalli N.A., Mendoza-Diaz G. (2003) Molecular structures of fructans from Agave tequilana Weber var. azul. *J Agric Food Chem.* 51(27):7835-40.

Ludwig D.S. (2002) The glicémico index: physiological mechanisms relating to obesity, diabetes and cardiovascular disease. *Amer. Med. Assoc.* 287(18).

Luna H. G. Agave Tequila, hacia un manejo integrado de plagas. Agata y Cheminova. Guadalajara, 1998.

Mitsunami T., Mochisuki N., y Masai T. (1992). The effects of soybean OS on defecation and gastrointestinal conditions, Soya oligo Japan Co.

Mutai M. (1978) Characteristics of “Mil-Mil”, a *bifidobacterium* fermented milk. *New Food Ind.* 20(8): 17.

NOM (1993) (Norma Oficial Mexicana). NOM-006-SCFI-1993-Bebidas Alcohólicas-Tequila-Especificaciones. Secretaría de Comercio y fomento Industrial.

Partida et al. (1998) US Patent. US 5,846,333.

Mujoo R., Gopaldas T., Gujral S. y Abbi R. (2003) Child diarrhea: oral rehydration therapy and rural mother. *Journal of food science* 68 (8): 2448-2452.

Park S.G. and Choi Y.J. (1991). *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 19, 52–56.

Perry R.H., Green D.W. y Maloney J.O. Manual del Ingeniero Químico. Mc Graw Hill. México, 1992.

Reference Manual (2002) DOWEX® Ion Exchange Resins.

Starch et al. (1999) *Appl. Microb. Biotech.* 51(7): 253-25.

Sakurai N., Wu J.H., Sashida Y., Mimaki Y., Nikaido T., Koike K., Itokawa H. y Lee K.H. (2004) Anti-AIDS agents. Part 57: Actein, an anti-HIV principle from the rhizome of *Cimicifuga racemosa* (black cohosh), and the anti-HIV activity of related saponins. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 14(5):1329-1332.

Tomomatsu H. (1994) Health effects of fructooligosacharides. *Food Technology.* 61-65.

Technical manual (2002) DOWEX® MONOSPHERE.

Wada K., Watabe J., Mizutani K. Y Yamaguchi C. (1991) Effects of soybean OS intake on fecal microflora. *Bifidus* 4:135-140.

Watherhouse A.L. Y Chatterton N.J. Glossary of fructan terms, in: *Science and Thechnology of fructanos*. Florida, 1993.

Zepeda et al. (1979) US Patent. US 4, 138, 272.