

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO
NARRO**

**DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**



Tesis

**Caracterización y aprovechamiento del residuo del tallado de
Agave lechuguilla Torrey (guishe)**

Por:

Paul Christian De la Cerda Suárez

**Presentada como requisito para obtener el título de:
Ingeniero en Ciencia y Tecnología de Alimentos**

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Diciembre 2012

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Caracterización y aprovechamiento del residuo del tallado de *Agave lechuguilla* Torrey (guishe)

Presentado por:

Paul Christian De la Cerda Suárez

TESIS

Que se Somete a Consideración del H. Jurado Examinador Como Requisito Parcial Para Obtener el Título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

El presente trabajo ha sido dirigido por el siguiente comité:

Director

Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez

Co-Director

MC. María Liliána Flores López

Asesor Externo

Dra. María de Lourdes Virginia Díaz

Jiménez

Asesor Interno

Dra. Diana Jasso Cantú

Dr. Ramiro López Trujillo

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL



Buenavista, Saltillo, Coahuila

Noviembre, 2012

AGRADECIMIENTOS

Con mucho cariño:

A mi madre, **Araceli Suárez Ibarra** por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.

A mi padre **Raúl Alfredo De la Cerda López** por los ejemplos de perseverancia y constancia que lo caracterizan y que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante y por su amor.

A mis hermanos, cuñada y sobrinos, por siempre estar ahí, por su cariño y amor, muchas gracias.

A mi novia **Kristely Martínez Montoya** por apoyarme incondicionalmente todo este tiempo, estar ahí para mí, por ser el pilar más importante de mi vida, darme fuerza en todo momento y sobre todo por comprenderme y quererme.

A mi familia en general porque todos de alguna u otra forma apoyaron en algo mi carrera y/o mi persona.

A mi universidad, mi **ALMA TERRA MATER**, por haberme dado cobijo y por las lecciones que aprendí en ella, asimismo, por haberme dado su voto de confianza y por todo el apoyo otorgado a mi persona.

A mis maestros que ayudaron en mi formación profesional.

A mi asesor de tesis, **M.C. María Liliana Flores López** por la orientación y ayuda que me brindó para la realización de esta tesis. Pero sobre todo Lili, gracias por tu apoyo y amistad que me permitieron aprender mucho más que lo estudiado en este proyecto.

A las Dra. Lourdes Díaz Jiménez, Dra. Ana Verónica Rodríguez Charles y Dra. Diana Jasso Cantú, por su apoyo, el material y equipo prestado y asesoría para la culminación de este proyecto.

A todas las personas que fueron o aún son parte de la empresa Biorganix Mexicana S.A. de C.V., por sus enseñanzas y disposición ofrecida durante mi estancia en la elaboración de este proyecto.

A mis amigos, Daniel Siller y Jorge Siller, por estar ahí siempre, en buenas, malas, feas y excelentes situaciones que nos brindó la etapa universitaria, una amistad que nunca se perderá.

A mis hermanos de toda la vida, Diego Rodríguez, Miguel Macias, Margarito Macias, Luis Mona, Humberto Fuentes, Edgar Castro, Juan Palafox, Gustavo Palafox, Edwin Mancha y Alberto Aguirre por escucharme, apoyarme y sobre todo estar ahí siempre que lo necesito. Gracias por todos estos años de sincera amistad.

DEDICATORIA

A mis padres por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, en toda mi educación, tanto académica, como de la vida, por su incondicional apoyo perfectamente mantenido a través del tiempo.

Todo este trabajo ha sido posible gracias a ellos.

La presente tesis fue financiada por el proyecto “Obtención de fitoquímicos a partir de extractos del residuo del tallado de *Agave lechuguilla* Torrey (Guishe)”, COAH-2010-C15-149496.

ÍNDICE

I. RESUMEN.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	3
1.1 Antecedentes.....	3
1.2 Justificación.....	4
1.3 Hipótesis.....	6
1.4 Objetivo General.....	6
1.5 Objetivos Específicos	6
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	7
2.1 Agave lechuguilla Torrey	7
2.1.1 Morfología.....	7
2.1.2 Reproducción.....	8
2.1.3 Distribución y hábitat.....	9
2.1.4 Composición química.....	11
2.1.5 Aprovechamiento.....	12
2.2 Guishe	14
2.3 Fitoquímicos	16
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
3.1 Recolección de materia prima	19
3.2 Pre-tratamiento de la materia prima	19
3.2.1 Densidad del extracto	21
3.3 Caracterización fisicoquímica del extracto y fibra de guishe	21
3.3.1 Materia seca total (MST).....	21
3.3.2 Cenizas.....	22
3.3.3 Proteínas.....	22

3.3.4 Humedad	23
3.3.5 Extracto etéreo.....	23
3.3.6 Carbohidratos	23
3.3.7 Fibra cruda.....	24
3.4. Aislamiento de fitoquímicos a partir de guishe	24
3.4.1. Extracción metanólica.....	24
3.4.1.1 Extracción de reflujo directo.....	25
3.4.1.2 Extracción asistida por Microondas.....	25
3.4.1.3 Extracción asistida por Ultrasonido	26
3.4.2. Extracción secuencial	27
3.4.3. Extracción hexánica.....	28
3.5. Detección de fitoquímicos por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).....	28
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	30
4.1 Rendimientos de materia prima.....	30
4.2 Caracterización fisicoquímica del extracto y fibra de guishe	32
4.3. Aislamiento de fitoquímicos a partir de guishe	37
4.3.1. Extracción metanólica.....	37
4.3.2 Extracción secuencial	42
4.3.3 Extracción hexánica.....	46
5. CONCLUSIONES.....	47
6. LITERATURA CITADA	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	<i>Agave lechuguilla</i> Torrey.....	7
Figura 2.	Distribución potencial de <i>Agave lechuguilla</i> en México.....	10
Figura 3.	Productos elaborados con ixtle de lechuguilla	12
Figura 4.	Volumen de aprovechamiento de los estados productores de <i>Agave lechuguilla</i> en México.....	13
Figura 5.	Ixtle en greña en el Ejido Tortuga, Ramos Arizpe, Coahuila.....	14
Figura 6.	Montículos de guishe seco en el Ejido Porvenir, Parras de la Fuente, Coahuila.....	15
Figura 7.	Guishe recolectado del Ejido Porvenir del municipio de Parras de la Fuente.....	19
Figura 8.	Prensado de guishe en prensa de acero inoxidable de 200 L	20
Figura 9.	Concentración de extractos de guishe (extracto y fibra) en rotavapor.....	25
Figura 10.	Hojas recolectadas para tallado del Ejido Tortuga en Ramos Arizpe, Coahuila.....	32
Figura 11.	Cromatogramas de tiempos de retención del estándar timol 100 ppm.....	39
Figura 12.	Cromatograma de tiempos de retención del estándar carvacrol 100 ppm	40
Figura 13.	Cromatograma de la muestra de extracto del Ejido Tortuga de Ramos Arizpe con el método Soxhlet	41
Figura 14.	Prueba de antagonismo de extractos de guishe contra hongos fitopatógenos. a) <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> raza 3 (control absoluto), b) Extracto de guishe asistido por microondas al 1.0%, y c) Carvacrol (Sigma) al 0.25% (control positivo).....	42
Figura 15.	Cromatograma de Extracto del Ejido Buñuelos (Saltillo). Extracción metanólica por medio de microondas seguido de extracción secuencial	44

Figura 16.	Cromatograma de Extracto del Ejido Tortuga (Ramos Arizpe). Extracción metanólica por medio de Soxhlet seguido de extracción secuencial con el método Soxhlet.....	45
-------------------	---	----

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Composición fisicoquímica de <i>Agave lechuguilla</i> Torrey	11
Cuadro 2.	Número de localidades y recolectores-talladores por Municipio en Coahuila.....	16
Cuadro 3.	Comparación de rendimientos de extracto y fibra obtenidos del guishe	30
Cuadro 4.	Densidades del extracto de guishe de las diferentes localidades	31
Cuadro 5.	Comparación de análisis fisicoquímico realizado a extractos de guishe de 3 localidades.....	32
Cuadro 6.	Historial meteorológico del mes de marzo de 2011	34
Cuadro 7.	Comparación de análisis fisicoquímico realizado a las fibras de guishe de 3 localidades.....	36
Cuadro 8.	Comparación de los mejores picos obtenidos por análisis en HPLC de muestras de guishe (jugo y fibra) utilizando metanol como agente extractor	43

I. RESUMEN

En el norte de México una de las principales actividades económicas en las zonas áridas y semiáridas es la recolección y venta de productos de origen vegetal. La aplicación que se le ha dado al *Agave lechuguilla* se centra en el uso de las hojas para obtener material fibroso (ixtle), dejando de lado la pulpa resultante denominada “guishe” como el principal contaminante en las regiones de tallado. El uso de residuos agroindustriales se presenta como una alternativa para la obtención de fitoquímicos con valor activo.

Se recolectaron tres muestras residuo de 3 distintas localidades talladoras de la región sur de Coahuila: Saltillo, Ramos Arizpe y Parras de la Fuente. Se dividió el guishe, mediante prensado mecánico, en dos fracciones para su estudio: extracto y fibra. Se realizó caracterización fisicoquímica de todas las muestras con el fin de determinar la variación en la composición química. Se encontraron diferencias marcadas en algunos aspectos, principalmente por cuestiones climáticas, tipos de estrés a los que pudieron o no estar sometidos y variaciones en el procesamiento de las muestras. El extracto de la región de Parras de la Fuente, presentó mayor contenido de azúcares, el cual es un parámetro importante de referencia para su posible aplicación en la industria agroalimentaria. Mientras que en la fibra de guishe, la región de Saltillo presentó un alto contenido de fibra cruda, material que puede ser usado para hidrólisis ácida para la obtención de azúcares.

Las muestras fueron sometidas a extracción metanólica, extracción secuencial con metanol y extracción con hexano con la finalidad de detectar timol y/o carvacrol en el guishe, por medio de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). No se detectó la presencia de picos correspondientes a timol y carvacrol, los cuales debería de aparecer a los 11.84 y 13.96 min, respectivamente. Sin

“Caracterización y aprovechamiento del residuo del tallado de Agave lechuguilla Torrey (guishe)”

embargo, con la extracción secuencial se detectaron picos alrededor de los 2 min. Se comprobó la ausencia de timol y carvacrol en la fibra y extractos de guishe; pero se deja abierto el estudio para la identificación de otros compuestos y su estudio para la determinación de su actividad biológica.

El presente trabajo se realizó en Biorganix Mexicana S.A. de C.V. en conjunto con Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN Unidad Saltillo.

Palabras clave: Agave lechuguilla, guishe, fitoquímicos.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

Una de las principales actividades económicas de las zonas áridas y semiáridas del norte de México es la recolección de materiales naturales ya sea para autoconsumo y/o venta. Entre las especies más recolectadas para su venta se encuentran la lechuguilla (*Agave lechuguilla*), la palma semandoca (*Yucca carnerosana*), la candelilla (*Euphorbia antisiphylitica*) y el nopal (*Opuntia* ssp.) (Reyes *et al.*, 2000).

La familia de los agaves, consta aproximadamente de unas 300 especies y se encuentran distribuidas principalmente en las regiones desérticas de México y en el suroeste de los Estados Unidos. En México crece en abundancia en los estados de Tamaulipas, Chihuahua, Coahuila, Hidalgo y Nuevo León (Michotte, 1914).

La diversidad de aplicaciones que se le ha dado al *Agave lechuguilla* tiene su origen en los compuestos que se extraen principalmente de las hojas, que se constituyen en un 85% de pulpa y un 15% de material fibroso. La fibra contiene alrededor de 80% de celulosa, 5% de hemicelulosa y 15% de lignina. Esta fibra conocida como “ixtle” se utiliza principalmente en la industria para la fabricación de cepillos, morrales, bolsos, sogas, etc. Se estima que de 32 pencas de lechuguilla se obtiene alrededor de 1.18 kg de fibra seca, lográndose una cantidad promedio de 63 toneladas por hectárea (Jonguitud, 2005). La pulpa es rica en sustancias bioactivas como timol, carvacrol, xilitol, vitamina C y saponinas (Gregorio-Jáuregui *et al.*, 2008).

El residuo del tallado del *Agave lechuguilla* se le conoce como “guishe”; el cual puede ser una fuente para la obtención de moléculas con capacidad antimicrobiana, tales como, timol, carvacrol y otros flavonoides. En este proyecto plantea el aprovechamiento integral del residuo generado del tallado de *Agave*

lechuguilla, guishe, para la obtención de productos de alto valor agregado mediante el estudio, aislamiento y caracterización de los fitoquímicos presentes en este residuo y su potencial aplicación para el desarrollo de productos agroindustriales.

En la actualidad no existen referencias de que se haya trabajado con el residuo del *A. lechuguilla* (guishe) en la búsqueda de timol y carvacrol, por lo que este estudio será la pauta en cuanto a esta investigación.

Este trabajo de investigación se realizó en conjunto con el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN Unidad Saltillo y la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, como parte del proyecto “Obtención de fitoquímicos a partir de extractos del residuo del tallado de *Agave lechuguilla* Torrey (Guishe) COAH-2010-C15-149496.

1.2 Justificación

En la actualidad el tallado del *Agave lechuguilla* genera toneladas de guishe al año, el cual no es aprovechado; con estudios y los procesos adecuados se podrá dar un valor a este desecho.

El aprovechamiento de productos de desecho agroindustrial como el guishe podría reducir principalmente la contaminación ambiental; aproximadamente el tallado del *Agave lechuguilla* deja como residuo el 85% de la hoja (Blando y Baca, 2001); partiendo de esto, solamente en Coahuila se producen cerca de 6,732 Ton por año de ixtle, se requirieron aproximadamente 44,879 Ton de hojas de *Agave lechuguilla* para obtener la cantidad de ixtle antes mencionada, por diferencia la cantidad restante son 38,147 Ton de residuo que corresponden a “guishe”, los cuales están en cercanías de ejidos, son incinerados, contaminan ríos, invaden ecosistemas, propician plagas, entre otros efectos.

“Caracterización y aprovechamiento del residuo del tallado de Agave lechuguilla Torrey (guishe)”

Si se encuentra un buen uso de este desecho, aparte de reducir considerablemente la contaminación de los ejidos de talladores, también puede representar una fuente de ingreso extra para los productores, al comprarles el guishe, ya que la mayoría de éstos tienen como ingreso único la venta de la fibra del *Agave lechuguilla*, la cual es pagada a muy bajo costo; un estudio hecho por el periódico Vanguardia (2011), reveló que se paga al productor entre \$12.00 y 13.00 M.N. por un Kg de fibra, la cual es tratada, teñida y exportada para su venta a industrias europeas y estadounidenses llegando a un precio de aproximadamente \$41.00 M.N. por 300-400 g, aumentando aproximadamente un 1000% de costo, de la aún, materia prima, de los cuales el productor no recibe ninguna remuneración, siendo que es él quien realiza prácticamente todo el trabajo.

En otros casos dentro de los estados de Coahuila, Nuevo León y San Luis Potosí, algunos ejidos que no tienen convenio de compra-venta con alguna institución intermediaria en la trata de fibra de lechuguilla, intercambian la fibra por productos de primera necesidad en las tiendas DICONSA (Distribuidora Conasupo, S.A. de C.V.) que se sitúan cerca de sus localidades.

Biorganix Mexicana es una empresa interesada en el estudio y aprovechamiento de residuos naturales; en la cual, se han realizado diversos proyectos sobre el guishe, entre ellos, la obtención de saponinas. Adicionalmente al estudio de saponinas, la empresa tiene el interés de conseguir un aprovechamiento integral del guishe en la obtención de otros fitoquímicos con potencial para aplicación en la agricultura.

En esta investigación se plantea el aprovechamiento integral del residuo generado del tallado de *Agave lechuguilla*, guishe, para la obtención de productos de alto valor agregado mediante el estudio, aislamiento y caracterización de los fitoquímicos presentes en este residuo y su potencial aplicación para el desarrollo de productos de uso agrícola.

1.3 Hipótesis

Por la naturaleza de la planta, es muy probable encontrar moléculas con capacidad antimicrobiana como el timol y/o carvacrol en el residuo del tallado del *Agave lechuguilla*, guishe.

1.4 Objetivo General

Estudiar el potencial antifúngico del residuo del tallado de *Agave lechuguilla* Torrey (GUISHE) mediante el aislamiento y caracterización de metabolitos secundarios con actividad biológica aplicable en la agroindustria.

1.5 Objetivos Específicos

- Caracterizar fisicoquímicamente el guishe de 3 localidades de la región (Ramos Arizpe, Saltillo y Parras de la Fuente, Coahuila).
- Implementar metodologías para la obtención de fitoquímicos a partir de extractos de guishe.
- Evaluar *in vitro* el potencial antifúngico de fitoquímicos obtenidos a partir de guishe.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Agave lechuguilla Torrey

La lechuguilla (*Agave lechuguilla*) es una planta nativa de las zonas áridas y semiáridas de México y algunas partes del sur de Estados Unidos; es considerada uno de los recursos forestales no maderables con mayor valor socioeconómico de las zonas áridas y semiáridas del noroeste de México. Es utilizada por su fibra desde hace aproximadamente 8000 años; en la actualidad el aprovechamiento de esta especie, representa una de las principales actividades para los pobladores de esas regiones debido a que su recolección proporciona el sustento de 31,000 pobladores y sus familias (Reyes *et al.*, 2000; Narcia *et al.*, 2012).

2.1.1 Morfología

El *Agave lechuguilla* es un arbusto rosetófilo, pequeño y con 11 a 30 hojas en promedio por planta (Figura 1); mide entre 30 y 40 cm de ancho y de 20 a 70 cm de alto (Dewey, 1965; Freeman y Reid, 1985; Gentry, 1982; Magallán, 1998; Rzedowski, 1964; Sheldon, 1980). Sus raíces son fibrosas, delgadas y largas, se distribuyen a una profundidad entre 8 y 12 cm del suelo (Nobel y Quero, 1986).



Figura 1. *Agave lechuguilla* Torrey.

Las hojas maduras miden entre 25 y 50 cm de alto y de 2.5 a 6 cm de ancho, su forma es lanceolada, su color va de verde claro hasta un amarillo verdoso; presenta de 8 a 20 espinas, estas miden de 2 a 7 mm, son de color castaño o gris claro, y se separan entre sí de 1.5 a 4 cm (Berlanga *et al.*, 1992a, Dewey, 1965; Gentry, 1982; Sheldon, 1980).

Cuenta con una inflorescencia que recibe nombres como quiote, mequiote, garrocha o bohordo que puede llegar a medir desde 2.5 hasta los 6 m de alto, con la superficie glauca (Berlanga *et al.*, 1992a; Dewey, 1965; Flores, 1986; Gentry, 1982; Magallán, 1998; Rzedowski, 1964; Sheldon, 1980).

Las flores tienen pedicelos de 20 a 50 mm y se agrupan en pares o triadas. El fruto es castaño llegando a negro, capsular, oblongo a piriforme, de 1.5 a 2.5 cm de longitud por 1.0 a 1.8 cm de ancho, es sésil o con pedicelos muy cortos, redondeado, con un rostro pequeño en el ápice, y glauco. Las semillas por fruto son numerosas, planas y brillantes, de 4.5 a 6 mm de longitud por 3.5 a 4.5 mm de ancho, con hilo pequeño y costillado, y alas alrededor del lado curvo (Berlanga *et al.*, 1992a; Flores, 1986; Gentry, 1982).

En un punto de vista biológico, la lechuguilla es excepcional, ya que es una de las dos especies de *Agave* con la distribución natural más amplia (Reyes *et al.*, 2000). Es una planta muy resistente con bajo requerimiento de agua (Greene, 1932).

2.1.2 Reproducción

El *Agave lechuguilla* se puede reproducir asexual y sexualmente; como la mayoría de las especies agaváceas, la lechuguilla muere después de florecer y fructificar. Para llegar a madurar sexualmente la planta necesita desde 4 hasta 15 años (Reyes *et al.*, 2000). Si la planta es sometida a un sistema de

aprovechamiento cuidadoso, la vida de la planta puede prolongarse cinco o seis años más (Sheldon, 1980).

La floración del *Agave lechuguilla* ocurre entre los meses de mayo y junio, en los años con sequía puede suceder en octubre o noviembre. Cuando las plantas florecen, tienen aproximadamente 51 hojas (entre 42 y 69) (Freeman y Reid, 1985). En promedio, el escapo floral se desarrolla totalmente en 25 días, y su mayor crecimiento lo logra en los primeros diez días, aproximadamente 20 cm/día. Las flores están abiertas durante 96 h; las anteras tienen polen disponible 24 h después de la antesis, y aunque el estigma es receptivo hasta después de las 66 h, la autofertilización si es posible (Freeman y Reid, 1985). El volumen del néctar varía de 50 µl en poblaciones del norte de México a 190 µl alcanzados en algunas poblaciones del sur (Eguiarte y Silva, 2000). Al final de la etapa reproductiva, son comunes los individuos con escapos que contienen gran cantidad de semillas viables. Aunque las semillas carecen de letargo, la germinación es óptima con temperaturas de 25 a 35°C; la germinación se reduce drásticamente con menos de 10 y más de 40°C (Freeman, 1973; Freeman *et al.*, 1977).

La lechuguilla se reproduce casi exclusivamente por medio asexual, por renuevos rizomáticos llamados vástagos, hijatos, retoños o hijuelos. La reproducción continua de hijuelos, origina densas y grandes agrupaciones de plantas (Freeman y Reid, 1985).

2.1.3 Distribución y hábitat

El *Agave lechuguilla* es uno de los agaves con mayor distribución geográfica, se presenta en 100,000 km², desde Texas y Nuevo México, hasta Querétaro, Hidalgo y Guanajuato; la densidad es muy variable, se ha documentado de 4,300 a 56,000 individuos/ha (Nobel, 1998). La distribución de *Agave lechuguilla* corresponde al patrón altiplanicie mexicana y zonas adyacentes (Reyes y Aguirre,

“Caracterización y aprovechamiento del residuo del tallado de Agave lechuguilla Torrey (guishe)”

1999), mientras que para Rzedowski (1978) esta especie está presente en altiplanicie y planicie del noreste de México (Figura 2).

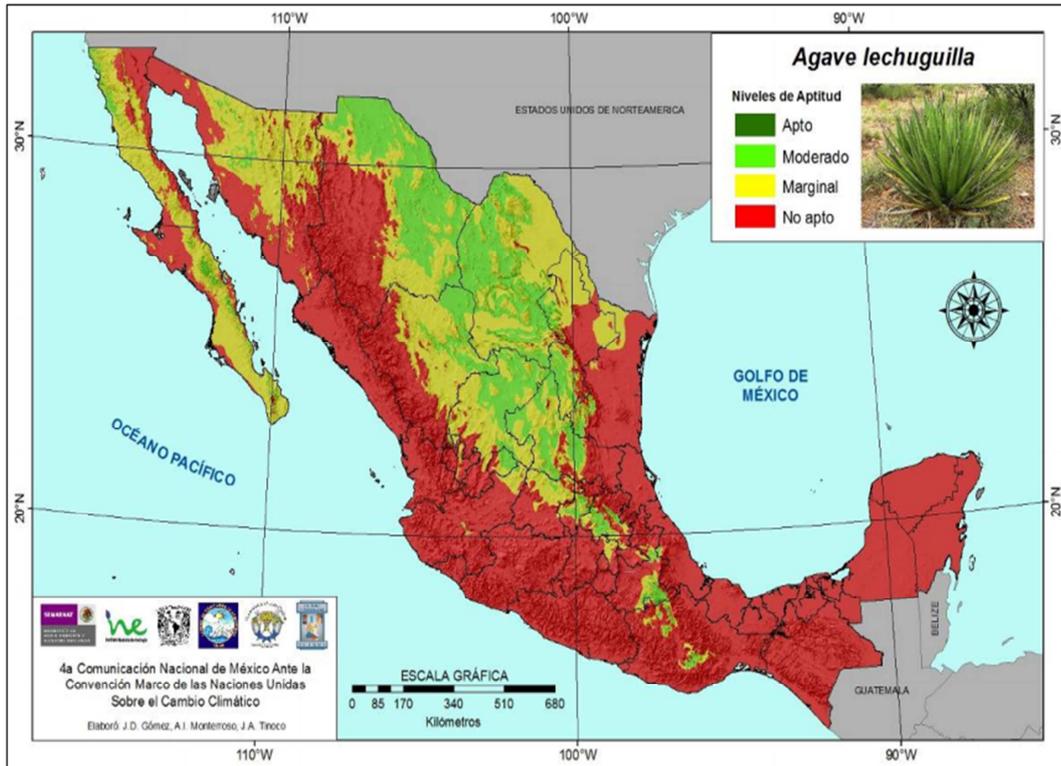


Figura 2. Distribución potencial de *Agave lechuguilla* en México;

Fuente: Unidad de Aprovechamiento y Restauración de Recursos Naturales. Aprovechamiento Forestal No Maderable SEMARNAT, Delegación Federal de los Estados

Los suelos en donde se propaga el *Agave lechuguilla* en general, presentan, 37.3% de arena, 34.5% de arcilla, 28.3% de limo, 4% de materia orgánica, 3% de carbono orgánico, 1.2 ppm de fósforo extraíble y 58.6% de carbonatos, conductividad eléctrica menor de 2 mmhos/cm y pH de 7.7 (Aguirre, 1983).

La densidad de *Agave lechuguilla* es muy variable; se han documentado de 430 a 56,000 plantas/ha; sin embargo las estimaciones más frecuentes oscilan entre 21,000 y 28,333 plantas/ha (Reyes *et al.*, 2000).

2.1.4 Composición química

El peso fresco promedio de un cogollo es de 356.54 g y contiene 14.6% de fibra y 83.4% de guishe (el tejido y agua de las hojas) (Orozco *et al.*, 1977). Nobel (1988) registró en el clorénquima: 1.14% de N, 1220 ppm de P, 1.27% de K, 45 ppm de Na, 6.11% de Ca, 0.40% de Mg, 14 ppm de Mn, 7 ppm de Cu, 36 ppm de Zn y 77 ppm de Fe.

Algunos autores aseguran que la lechuguilla es tóxica debido a la presencia de la saponina hepatonefrotóxica (glucósido derivado de un triterpeno tetracíclico, de 27 átomos de carbono), ésta es termoestable e hidrosoluble, haciendo tóxica la lechuguilla para el ganado (Aguilar y Zolla, 1982; Gentry, 1982).

En el Cuadro 1 se presenta la caracterización fisicoquímica reportada por Hernández-Soto (2005), estos análisis se realizaron haciendo una diferencia entre las hojas internas (las más cercanas al cogollo) y las hojas externas de *A. lechuguilla*.

Cuadro 1. Composición fisicoquímica de *Agave lechuguilla* Torrey (Hernández-Soto, 2005).

Determinación	Concentración (% vol)	
	Hojas internas	Hojas externas
Humedad	73.99	69.55
Grasas	<0.1	<0.1
Cenizas	2.34	3.25
Fibra cruda	7.78	10.72
Carbohidratos	15.89	16.48
Proteínas	<0.1	<0.1

2.1.5 Aprovechamiento

El aprovechamiento del *Agave lechuguilla* Torrey principalmente consiste en el tallado de las hojas para la obtención de fibra que se utiliza para la elaboración de una gran cantidad de productos como morrales, costales, lazos, estropajos, sombreros, bolsos y otros más (Figura 3); algunos otros usos que se le da a esta planta son como infusiones para lavar heridas, las flores son comestibles, las inflorescencias se utilizan para alimentar chivos y borregos o ya seco para la construcción, lavar trastes y ropa o como simple leña (Gómez *et al.*, 2010).



Figura 3. Productos elaborados con ixtle de lechuguilla (Fuente: Kalan Kaash, 2009).

En México hay referencia que 7 estados aprovechan el *Agave lechuguilla* Torrey para la producción de fibra o “ixtle”, los cuales son Nuevo León, San Luis Potosí, Coahuila, Tamaulipas, Zacatecas, Durango e Hidalgo (Figura 4). Coahuila tiene un permiso otorgado por parte de la SEMARNAT para poder producir 6732 Ton de Ixtle de lechuguilla por año (SEMARNAT, 2008).

*“Caracterización y aprovechamiento del residuo del tallado de *Agave lechuguilla* Torrey (guishe)”*

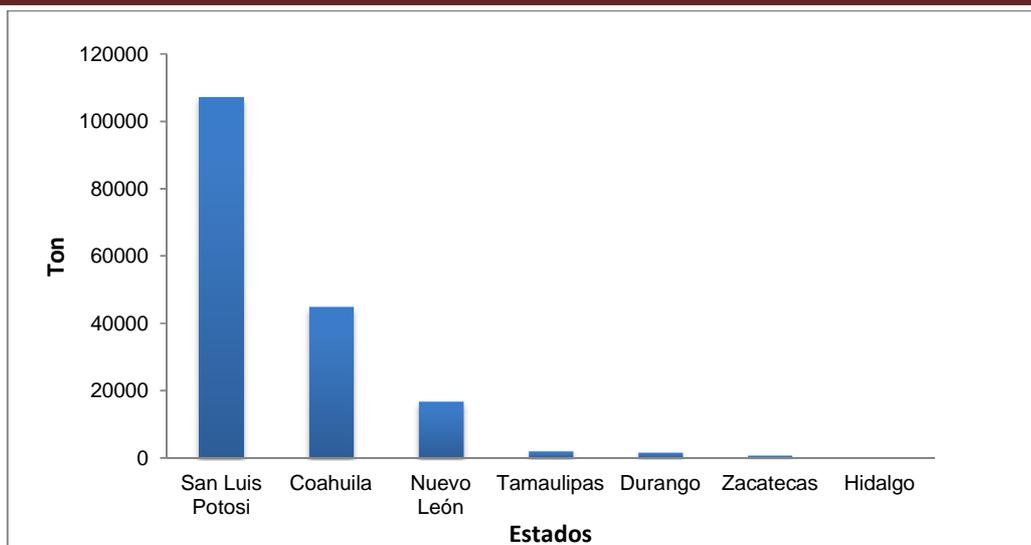


Figura 4. Volumen de aprovechamiento de los estados productores de *Agave lechuguilla* en México (Fuente: SEMARNAT, 2008).

Existen 3 empresas en el semidesierto del norte de México, las cuales recolectan la fibra para su exportación; la oferta legal de fibra que oferta a las 3 empresas es de 25 mil toneladas anuales por parte de los 7 estados (SEMARNAT, 2008).

En el estado de Coahuila el aprovechamiento del *Agave lechuguilla* se encuentra limitado al tallado y comercialización del ixtle en greña debido a la falta de oportunidad para dar valor agregado a la fibra de lechuguilla en los municipios ixtleros (Figura 5); actualmente el mayor beneficio que se le da a la fibra de *Agave lechuguilla* es por parte de empresas como Fibras Saltillo S.A. de C.V., la cual comercializa la fibra de *Agave lechuguilla* en forma de CARE en distintos tamaños, colores y presentaciones, este último producto es el que se distribuye a los mercados internacionales (Kalan Kaash, 2009).



Figura 5. Ixtle en greña en el Ejido Tortuga, Ramos Arizpe, Coahuila.

Por otro lado, el principal esquema de comercialización de fibra de lechuguilla que se ha mantenido por muchos años en Coahuila, es por medio del trueque en donde el tallador cambia su fibra por productos de la canasta básica y mercancía de abarrotes, mediante la participación de las tiendas DICONSA, como principal agente de la comercialización en la región. Una vez que DICONSA tiene suficiente volumen de fibra de lechuguilla en greña, en sus almacenes, la empresa a la que es vendida la fibra recoge el producto en dichos almacenes. Sin embargo, durante el proceso de acopio por parte de DICONSA se consideran pérdidas del 2% principalmente por pérdida de humedad en la fibra, 1% en la tienda y el otro 1% se pierde en el almacén (Kalan Kaash, 2009).

2.2 Guishe

La pulpa residual del tallado del tallado del *Agave lechuguilla* Torrey se denomina guishe, y representa aproximadamente el 83.4% de su volumen (tejido y agua de las hojas) (Orozco *et al.*, 1977). Sobre las propiedades del guishe, o sus aplicaciones industriales ha habido pocos estudios. El guishe tiene características físicas y químicas favorables, como su poder abrasivo, pero hasta ahora ha sido poco aprovechado, pues el guishe podría tener otros usos como la elaboración de

“Caracterización y aprovechamiento del residuo del tallado de Agave lechuguilla Torrey (guishe)”

láminas, maderas aglomeradas, cartón, papel filtro y en la obtención de esteroides (Berlanga *et al.*, 1992a). Del tallo y del guishe se obtienen saponinas para fabricar en forma industrial jabones y champús (Flores y Perales, 1989; Zapién, 1981), también se ha utilizado en algunos casos como mejorador de suelo, esparcido en parcelas agrícolas. Sin embargo, la mayor parte de este subproducto no es utilizado y se acumula en grandes cantidades (Figura 6), por lo que es un factor de contaminación y de riesgo en las localidades en donde se realiza esta actividad, ya que en algunas de ellas lo destruyen mediante incineración, con la consecuente contaminación ambiental, ya que en la época de mayor sequía, el ganado menor lo consume provocándole intoxicación y en algunos casos la muerte.



Figura 6. Montículos de guishe seco en el Ejido Porvenir, Parras de la Fuente, Coahuila.

En el Cuadro 2 se presenta los registros actuales del VIII Censo Agropecuario 2007 de las localidades y número de recolectores-talladores de los cuatro municipios de la región sureste de Coahuila que presentan la actividad de tallado de lechuguilla, siendo Parras de la Fuente la principal localidad talladora con el 46.6% de la producción, seguido de General Cepeda, Ramos Arizpe y Saltillo con 21.3, 20.2 y 11.9, respectivamente.

“Caracterización y aprovechamiento del residuo del tallado de Agave lechuguilla Torrey (guishe)”

Cuadro 2. Número de localidades y recolectores-talladores por Municipio en Coahuila (VIII Censo Agropecuario 2007).

Municipio	Localidades	%	Productores	%	Volumen de Producción (Kg)	%
General Cepeda	12	16.7	207	19.3	363,648	21.3
Parras de la Fuente	20	27.8	458	42.7	797,616	46.6
Ramos Arizpe	22	30.6	252	23.5	346,128	20.2
Saltillo	18	25.0	156	14.5	202,896	11.9
Total Región	72	100.0	1,073	100	1,710,288	100

Gregorio-Jáuregui *et al.* (2008) reportaron la presencia de sustancias bioactivas en la pulpa de *Agave lechuguilla*, tales como timol, carvacrol, xilitol, vitamina C y saponinas. Investigaciones recientes, como la de García-Contreras (2010) confirmaron que el guishe puede ser considerado como fuente alternativa de saponinas. No obstante, no existen estudios relacionados con la obtención de otros fitoquímicos derivados del guishe, de ahí su potencial para la obtención de sustancias bioactivas, mismas que no han sido suficientemente reportadas ni estudiadas en esta fuente alternativa.

2.3 Fitoquímicos

Una gran cantidad de productos derivados de plantas han mostrado efecto antimicrobiano. Ciertamente, las plantas poseen un enorme y desconocido reservorio de sustancias derivado de sus actividades metabólicas enfocado a sus sistemas de defensa en contra de microorganismos, insectos y herbívoros. Se han identificado algunas sustancias simples como fenoles, derivados de los fenoles (quinonas, flavonas, flavonoides, flavonoles, taninos y cumarinas), terpenoides, aceites esenciales, alcaloides, pectinas y polipéptidos en extractos de plantas

completas (Thuille, 2003). Estos metabolitos han sido extraídos con agua u otros solventes, dependiendo de su polaridad y características físicas (Bautista *et al.*, 2003). La enorme diversidad de metabolitos secundarios y propiedades biológicas presentes en plantas, aún continúan siendo sujeto de estudio. El limitado conocimiento que actualmente existe acerca de extractos de plantas, es un punto interesante para iniciar estudios con plantas de casi cualquier tipo.

Los metabolitos secundarios producidos por plantas para defenderse de patógenos externos (bacterias, hongos, insectos, entre otros) pueden ser aislados y utilizados en la industria agroquímica para el control de enfermedades en cultivos. Un ejemplo de agentes antimicrobianos naturales es el carvacrol, el cual ha sido reportado en el aceite esencial de orégano (60-74%, v/v carvacrol) y el tomillo (45%, v/v carvacrol) (Ultee *et al.*, 2000). El tomillo también contiene una cantidad importante de timol (38%) (Ultee *et al.*, 1999), el cual es de igual forma, un antimicrobiano químico. Estos aceites derivados de plantas son generalmente reconocidos como seguros (GRAS).

Por otro lado, Parmar *et al.* (1991) reportan la obtención de una flavona, la agamona, en *Agave americana*. Esta agamona, un tipo de flavonoide, podría presentar propiedades antimicrobianas, pero no ha sido estudiada. En otros trabajos de investigación, se han estudiado algunas propiedades antibacterianas, fungicidas y antivirales de los flavonoides (Sosa López *et al.*, 2000; Machado *et al.*, 2004), observándose que estos compuestos en sinergia con el ácido nicotínico, caféico, ferúlico y ascórbico actúan como barrera química contra los microorganismos.

Dado que el guishe corresponde al 83.4% del *Agave lechuguilla* (Orozco *et al.*, 1977) y por tanto, puede contener una cantidad interesante de fitomoléculas, por lo cual, este residuo puede considerarse como una fuente alternativa para la obtención de moléculas con actividad biológica (ej. actividad antimicrobiana), tales

“Caracterización y aprovechamiento del residuo del tallado de Agave lechuguilla Torrey (guishe)”

como, timol, carvacrol y otros flavonoides. Por lo anterior, en este proyecto se plantea la obtención, caracterización e identificación de fitomoléculas presentes en el guishe, representando un área de oportunidad para el aprovechamiento integral del *Agave lechuguilla* Torrey para la obtención de productos de alto valor agregado y su potencial aplicación para el desarrollo de productos de uso agrícola.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Recolección de materia prima

Se realizó la recolección del deshecho de la producción de ixtle (guishe fresco) en un día normal de tallado en tres localidades del sureste del Estado de Coahuila con mayor producción de ixtle. Los puntos de muestreo fueron los siguientes: Ejido Tortuga, municipio de Ramos Arizpe (Latitud: 25.8333, Longitud: -101.267); Ejido Buñuelos, municipio de Saltillo (Latitud: 25.05, Longitud: -101.183); y Ejido El Porvenir municipio de Parras de la Fuente (Latitud 25.5497, Longitud 101.7204). El material fue trasladado a las instalaciones de la empresa Biorganix Mexicana S.A de C.V en bolsas de plástico selladas (Figura 7). Los muestreos se realizaron en el mes de Marzo de 2011.

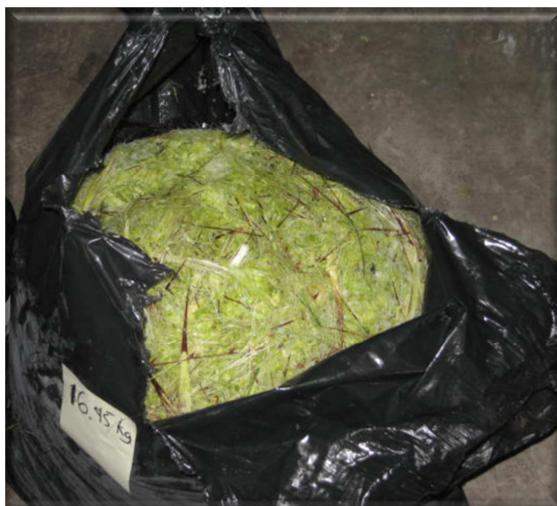


Figura 7. Guishe recolectado del Ejido Porvenir del municipio de Parras de la Fuente.

3.2 Pre-tratamiento de la materia prima

Para la obtención del extracto líquido (jugo de guishe) se realizó un prensado mecánico empleando una prensa de acero inoxidable de 200 L de capacidad (Figura 8). El extracto líquido resultante fue llevado a calentamiento a 94°C por 15

“Caracterización y aprovechamiento del residuo del tallado de Agave lechuguilla Torrey (guishe)”

min para la inactivación enzimática. Posteriormente, se envasó en recipientes de 1 L y se almacenó a congelación a -20°C hasta su utilización y a 4°C en refrigeración mientras se le realizaron las pruebas correspondientes.



Figura 8. Prensado de guishe en prensa de acero inoxidable de 200 L.

Cabe señalar, que del procesamiento del *Agave lechuguilla* para la obtención de ixtle resulta en un 83.4% de guishe (Orozco *et al.*, 1977). Como parte de los objetivos del presente trabajo se estudió las características de la fibra resultante de la extrusión del guishe, separando una parte jugosa y una fibra, denominadas para fines del estudio como fibra y extracto, respectivamente.

Para la obtención de la fibra se tomaron 2 Kg del resultante del prensado y se pusieron a secar al sol durante 24 horas, posteriormente se trituraron en molino (Pulvex). Para obtener un tamaño de partícula uniforme se usó un tamizado (60-20), partícula fuera de este margen fue desechada; la fibra pulverizada fue almacenada en bolsas selladas y en lugar seco y fresco para evitar alguna contaminación que pudiera alterar los resultados de los análisis.

3.2.1 Densidad del extracto

El extracto líquido obtenido de la extracción se pesó en báscula (Torrey) y se midió su volumen con una probeta al ser envasado; la densidad del extracto de cada localidad se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\rho \left(\frac{Kg}{L} \right) = \frac{m}{v}$$

3.3 Caracterización fisicoquímica del extracto y fibra de guishe

La caracterización fisicoquímica se realizó a los extractos y fibras de guishe, para lo cual se realizó un estudio comparativo entre la variabilidad relacionada con el sitio de muestreo. Para este objetivo, se determinó el contenido de proteínas, cenizas y humedad utilizando los métodos recomendados por la AOAC (1996) (2.057, 31.013 y 966.02, respectivamente). El extracto etéreo se determinó siguiendo el método Soxhlet 920.39 de la AOAC (1996). La cuantificación de azúcares totales se realizó por el método de Fenol-Sulfúrico (Dubois *et al.*, 1956). Todos los análisis se realizaron por triplicado. El extracto de guishe se sometió a secado a una temperatura de 70°C hasta su reducción a polvo. Las metodologías utilizadas se describen a continuación:

3.3.1 Materia seca total (MST)

Se secaron los crisoles en la estufa durante 1 h a 120°C y se tomó su peso al quedar seco. Se agregaron 0.5 g de guishe (extracto o fibra) y se colocó en la estufa por 1 h a 120°C. Se pesó y se hizo el cálculo siguiente:

$$\text{Materia Seca (\%)} = \left[\frac{(\text{peso de crisol con muestra} - \text{peso de crisol solo})}{\text{g de muestra}} \right] \times 100$$

3.3.2 Cenizas

La muestra obtenida como materia seca total se preincineró a 120°C en una campana extractora. Los crisoles se colocaron en la mufla (Felisa) entre 2 y 3 horas a una temperatura de 550°C. Se dejaron enfriar en un desecador por 15 a 20 min; posteriormente, se registró el peso del crisol con cenizas. Se realizaron los cálculos necesarios para obtener cenizas:

$$\text{Cenizas (\%)} = \left[\frac{(\text{peso de crisol con cenizas} - \text{peso de crisol solo})}{\text{g de muestra}} \right] \times 100$$

3.3.3 Proteínas

Para la digestión: se pesó 1 g de muestra sobre papel filtro. Se pasó a un matraz Kjeldhal de 800 mL con 4 perlas de vidrio (para mantener en ebullición constante). Se agregó una cucharada de mezcla reactiva de selenio. Se adicionó 30 mL de ácido sulfúrico concentrado y se conectó al aparato Kjeldhal en la sección de digestión.

Para la destilación: Se diluyó con 300 mL de agua destilada el resultado de la digestión, al enfriarse la muestra se agregaron 50 mL de ácido bórico al 4% (v/v) y 6 gotas de indicador mixto (rojo de metilo y verde de bromocresol) en un matraz Erlenmeyer de 500 mL. Se agregaron al matraz Kjeldhal 110 mL de NaOH al 45% (p/v) y seis granallas de zinc, después se conectó a la parte destiladora del Kjeldhal. Se recibieron 250 mL de destilado.

Para la titulación: Se llevó a cabo con ácido sulfúrico 0.098 N hasta que viró de color azul a rojo. Para determinar el contenido de proteína se realizó el siguiente cálculo:

$$\% N = \left[\frac{\{(\text{mL gastados en muestra} - \text{mL de blanco})(N \text{ del ácido})(0.014)\}}{\text{g de muestra}} \right] \times 100$$

$$\% P = \% N \times 6.38$$

3.3.4 Humedad

Se calculó con el 100% de la muestra total menos el porcentaje de materia seca total.

$$\text{Humedad (\%)} = 100 - \% \text{ MST}$$

3.3.5 Extracto etéreo

Se pesaron 5 g de muestra de fibra y extracto sobre papel filtro y se depositaron en un cartucho poroso de celulosa, se cubrió con algodón y se puso en un sifón. Se tomó un matraz redondo fondo plano, boca esmerilada de la estufa (a peso constante), se enfrió por 15-20 minutos y se pesó. Al matraz redondo se le adicionó hexano hasta la mitad del matraz aproximadamente. Se acopló al refrigerante del dispositivo Soxhlet. Se extrajo por un período de 4 horas, se contó el tiempo a partir de que empezó la ebullición. Al finalizar la extracción se evaporó el solvente en rotavapor (Yamato). Se puso a peso constante nuevamente el matraz bola fondo plano en la estufa a 100-103° C por un espacio de 12 horas. Transcurrido el tiempo, se sacó, se enfrió y pesó. Se realizó el siguiente cálculo:

$$\text{Grasa total (\%)} = \frac{(\text{peso matraz con grasa} - \text{peso matraz solo})}{\text{g de muestra}} \times 100$$

3.3.6 Carbohidratos

Se calculó restando todos los porcentajes de las demás pruebas fisicoquímicas (porcentaje de proteína, humedad, extracto etéreo, cenizas y fibra cruda) al 100% y eso correspondió a los carbohidratos.

3.3.7 Fibra cruda

Se pesaron 2 g de muestra, previamente desengrasada. Se colocó la muestra en un vaso de Berzelius. Se agregaron 100 mL de solución de ácido sulfúrico 0.225 N. Se conectó al aparato de reflujo por un período de 30 minutos contados a partir de punto de ebullición, al hervir se mantuvo en ebullición suave. Transcurrido el tiempo se sacó y filtró a través de una tela de lino y se lavaron con 3 porciones de 100 mL de agua destilada a una temperatura de 70-75 °C. Se pasó la fibra (residuo que quedó en la tela de lino) al vaso de Berzelius con 100 mL de solución de hidróxido de sodio 0.313 N y se conectó al aparato de reflujo por 30 minutos. Transcurrido el tiempo se sacó y filtró a través de lino y se lavó con 3 porciones de agua destilada caliente. Se escurrió el exceso de agua presionando la tela de lino. Se sacó la tela de lino del embudo, extendida y se retiró la fibra con una espátula para depositarla en un crisol de porcelana, previamente identificado. Se llevó a peso constante en la estufa a 100 - 103° C, por 12 horas. Transcurrido el tiempo, se sacó de la estufa, se enfrió y pesó. Se preincineró la muestra en parrillas y se colocó en la mufla a 600° C por 3 horas. Al finalizar se pesó; se realizaron los siguientes cálculos:

$$\% \text{ Fibra cruda} = \frac{(\text{Pérdida de peso en la incineración} - \text{pérdida de peso del blanc de fibra cerámica})}{\text{g de muestra}} \times 100$$

3.4. Aislamiento de fitoquímicos a partir de guishe

3.4.1. Extracción metanólica

Para la obtención de fitoquímicos de extractos y fibra de guishe de las 3 localidades, se realizaron extracciones líquido-sólido utilizando tres métodos: 1) extracción por reflujo directo, 2) extracción asistida por microondas y 3) extracción asistida por ultrasonido; los cuales se describen a continuación:

3.4.1.1 *Extracción de reflujo directo*

Para la extracción por Soxhlet fue necesario primero llevar las muestras a sequedad. La fibra ya contenía la humedad adecuada, el extracto de guishe se sometió a una temperatura de 65°C durante 24 horas para la eliminación de humedad. Una vez seca la muestra (humedad menor al 10%), se colocaron aproximadamente 20 g de muestra (extracto o fibra de guishe) en el Soxhlet con 400 mL de metanol (Fermont) (relación 1:20) y se procedió a realizar la extracción con reflujo a 65°C con agitación continua por 7 h. Los extractos obtenidos se concentraron en rotavapor (Yamato) hasta la eliminación del solvente y se almacenaron hasta su análisis por HPLC (Figura 9).



Figura 9. Concentración de extractos de guishe (extracto y fibra) en rotavapor.

3.4.1.2 *Extracción asistida por Microondas*

Se colocó la muestra seca y se distribuyó homogéneamente en un vidrio de reloj de 10 cm de diámetro. Se introdujo la muestra en un horno de microondas convencional y se irradió durante 1 min a potencia media. La cantidad de muestra a irradiar debió ser tal que se obtuvo una capa de aproximadamente 1 cm de espesor. Después de la irradiación, la muestra se suspendió en metanol (Fermont) en un matraz Erlenmeyer con agitación constante (600 rpm) por 4 horas a temperatura ambiente. La relación muestra irradiada/solvente fue de 1:20. Con

finde de comparación, otro lote de muestra se suspendió en agua en un matraz Erlenmeyer con agitación constante (600 rpm) por 4 horas a temperatura ambiente. Una vez concluida la extracción se procedió a la concentración del extracto por evaporación con rotavapor (Yamato). Los extractos así obtenidos se almacenaron en refrigeración hasta su análisis por HPLC.

3.4.1.3 *Extracción asistida por Ultrasonido*

Se colocó la muestra seca (extracto o fibra de guishe) en un matraz Erlenmeyer junto con el metanol (Fermont) en una relación 1:30, el matraz se colocó en un baño con ultrasonido durante un periodo de 30 minutos. Posteriormente, el matraz se sacó del baño y se sometió a agitación por 3.5 h a 400 rpm a temperatura ambiente. Una vez que concluyó la extracción se procedió a la concentración del extracto mediante evaporación rotatoria. Los extractos así obtenidos se almacenaron en refrigeración a 4°C en frascos ámbar hasta su análisis por HPLC.

Los métodos de extracción fueron aplicados tanto a los extractos como a la fibra del guishe de las 3 diferentes localidades. Las metodologías de extracción se dirigieron hacia la extracción de timol / carvacrol, principalmente; utilizando el metanol (Fermont) como solvente para la extracción.

Los extractos obtenidos por cada método, fueron filtrados con vacío y concentrados en Rotavapor (Yamato) a 65°C. Los extractos fueron secados en charolas a 65°C en estufa (Felisa) y se redujo su tamaño de partícula utilizando mortero. Posteriormente, se almacenaron en frascos ámbar a 4°C hasta su utilización.

A las muestras resultantes de la Primera prueba se les determinó actividad biológica a través de una prueba de antagonismo, que se describe a continuación:

Prueba de antagonismo: Se preparó medio de cultivo agar papa dextrosa (Bioxon) en matraz Erlenmeyer de 500 mL siguiendo las instrucciones del fabricante, se esterilizó a 121°C por 15 min. El medio de cultivo fue enfriado hasta alrededor de 40°C y se agregaron cada uno de los extractos metanólicos de guishe obtenidos por cada uno de los métodos (reflujo directo, microondas y ultrasonido) en concentraciones de 0.5, 1.0 y 2.0 % (p/v), se mezcló para disolver cada extracto. Posteriormente, el medio envenenado se vació en cajas petri estériles, se dejó solidificar. En el centro de cada caja petri se colocó un explante de cada uno de los siguientes hongos fitopatógenos: *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* raza 3, *Alternaria* sp. y *Pythium* sp, en concentraciones de 0.5, 1.0 y 2.0 % (p/v). Las cajas fueron selladas y se incubaron a 27°C hasta que los testigos de referencia invadieron la caja (7-15 días aproximadamente). Para la prueba se utilizaron tres testigos de referencia para su comparación (sin tratamiento) y un control positivo (carvacrol al 0.25 %, Sigma). La prueba se realizó por triplicado.

3.4.2. Extracción secuencial

Se corrió una segunda prueba de extracción, denominada extracción secuencial, utilizando el método de reflujo directo. Para lo cual, se tomaron 5 g de cada extracto (obtenidos a partir de extracción con reflujo, microondas y ultrasonido) y se agregó 100 mL de metanol (Fermont) (1:20 p/v); las extracciones se realizaron durante 2 h con agitación constante de 400 rpm a una temperatura de 65°C.

Los extractos obtenidos fueron filtrados con vacío y concentrados en Rotavapor (Yamato) a 65°C hasta la obtención de los aceites; éstos fueron almacenados en frascos ámbar a 4°C hasta su utilización.

Los extractos resultantes de la segunda prueba fueron por HPLC.

3.4.3. Extracción hexánica

Se aplicó una tercera prueba de extracción por reflujo directo utilizando hexano (Fermont) como solvente. Se colocaron en un matraz Erlenmeyer 5 g de muestra (extracto o fibra de guishe) y se agregaron 200 mL de hexano (Fermont) (1:20 p/v), se sometió a extracción a una temperatura de 65°C durante 3.5 h a 400 rpm; el resultante se filtró por vacío con filtro Whatman No. 41, el filtrado se centrifugó en centrífuga (Zeigen) a 4000 rpm durante 5 min y se concentró en Rotavapor (Yamato) a 55°C hasta la obtención del aceite. Los extractos fueron almacenados en refrigeración a 4°C en frascos ámbar hasta su análisis por HPLC.

3.5. Detección de fitoquímicos por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

Los extractos obtenidos mediante extracción metanólica, extracción secuencial y extracción hexánica de las 3 localidades (fibra y extracto), fueron analizados por HPLC en busca de la detección de analitos polifenólicos, específicamente timol y carvacrol.

Se empleó un cromatógrafo de líquidos de alta resolución Agilent Technologies 1200 series en las instalaciones del CINVESTAV-Unidad Saltillo, equipado con una columna Zorbax SB-C18 4.6x250 mm, volumen de inyección de 10 µL. La fase móvil utilizada fue Metanol / Agua (60/40% v/v), ambos grado HPLC. La detección se realizó a 274 nm.

Los extractos obtenidos fueron diluidos previo a su inyección en HPLC en metanol (Fermont) a una concentración de 100 ppm (p/v). Se prepararon soluciones estándar de timol (Sigma) a concentraciones de 12.5, 25, 50 y 100 ppm (p/v) y de carvacrol (Sigma) a concentraciones de 12.5, 25, 50 y 100 ppm (v/v).

*“Caracterización y aprovechamiento del residuo del tallado de Agave
lechuguilla Torrey (guishe)”*

Antes de analizar los extractos y soluciones estándar por HPLC, fue necesario filtrarlos utilizando filtros de membrana para jeringa (Whatman) con un tamaño de poro de 0.45 μm .

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Rendimientos de materia prima

La primera parte de este trabajo involucró la recolección del guishe fresco resultado del tallado del día en las 3 diferentes localidades; se procedió a la separación del extracto (jugo) y fibra de guishe. El Cuadro 3 muestra la relación de rendimientos de las extracciones y moliendas de los 3 muestreos de guishe.

Cuadro 3. Comparación de rendimientos de extracto y fibra obtenidos del guishe.

Localidad	Rendimiento Extracto (%)	Rendimiento Fibra (%)
Parras de la Fuente, Ejido Porvenir	28.13	27.86
Ramos Arizpe, Ejido Tortuga	33.46	32.61
Saltillo, Ejido Buñuelos	25.16	43.65

El menor rendimiento de extracto fue del Ejido Buñuelos en Saltillo en comparación con los muestreos de las otras 2 localidades; este resultado se relacionó con las características físicas de la muestra. El guishe del Ejido Buñuelos fue más seco, ya que fue la única muestra recolectada horas después de su tallado, por lo que se presentó pérdida de agua por transpiración de la materia orgánica.

Por otro lado, este comportamiento también se relacionó al déficit de lluvia en la temporada de muestreo (Marzo), información que fue proporcionada por los talladores del Ejido Buñuelos (Saltillo) al momento del muestreo. La muestra presentó una densidad alta, dado la relación sólido-líquido.

Respecto al rendimiento de la fibra existen varios factores que pueden afectar la cantidad de producción de la misma. Se obtuvieron diferentes porcentajes de fibra para cada región (Cuadro 3), y esta variabilidad se relacionó principalmente, al procesamiento de la muestra, a los diferentes niveles de humedad con los que se obtuvo el guishe, las diferentes presiones aplicadas en la prensa, el cambio de temperaturas de sequedad (las 3 muestras fueron secadas en diferentes días) y merma durante la molienda.

Las densidades de los extractos de guishe variaron ligeramente según la zona de muestreo (Cuadro 4). El extracto del Ejido Porvenir presentó mayor densidad (1.52 Kg/L), y esto también coincidió con las características físicas de la muestra, siendo más viscosa por la mayor cantidad de sólidos presentes, lo cual se discutirá posteriormente. Además, el extracto del Ejido Porvenir presentó una pigmentación café notablemente más intensa en comparación con las muestras de Saltillo y Ramos Arizpe.

Cuadro 4. Densidades del extracto de guishe de las diferentes localidades.

Localidad	Densidad (kg/L)
Parras de la Fuente, Ejido Porvenir	1.52
Ramos Arizpe, Ejido Tortuga	1.47
Saltillo, Ejido Buñuelos	1.30

Durante los muestreos realizados se pudieron observar diferencias físicas en las hojas, tanto en color, tamaño e hidratación de la hoja. Las muestras tomadas del Ejido Tortuga en Ramos Arizpe, fueron hojas visiblemente más secas y pequeñas respecto a las otras dos localidades (Figura 10), debido que en la

temporada del muestreo (marzo) el municipio estaba pasando por una sequía que ya llevaba varios meses (Martínez, 2011).



Figura 10. Hojas recolectadas para tallado del Ejido Tortuga en Ramos Arizpe, Coahuila.

4.2 Caracterización fisicoquímica del extracto y fibra de guishe

En el Cuadro 5 se presenta la caracterización fisicoquímica de los extractos de guishe, donde el %H se encontró en el rango de 74-78 %; estos resultados se asemejan a los reportados por Hernández-Soto (2005) para hojas internas y externas de *A. lechuguilla* (70-73 % H).

Cuadro 5. Comparación de análisis fisicoquímico realizado a extractos de guishe de 3 localidades

Parámetro	Localidad		
	Parras de la Fuente, Ejido Porvenir	Ramos Arizpe, Ejido Tortuga	Saltillo, Ejido Buñuelos
MST (%)	21.58	24.18	26.23
Humedad (%)	78.42	75.82	73.77
Cenizas (%)	3.93	3.05	6.25
Fibra cruda (%)	1.64 ± 0.20	2.00 ± 0.40	1.95 ± 0.24
Extracto etéreo (%)	0.505	0.518	0.295
Azúcares totales (%)	24.88	15.83	9.52

Existen reportes de que el grosor de las hojas de *Agave*, se relaciona directamente con el contenido de agua (Vendramini *et al.*, 2002); así, cuanto más gruesas sean las hojas tienen mayor capacidad de almacenamiento de agua, esto explica la adaptación del *A. lechuguilla* a ambientes secos de esta región. Esta información concuerda con los resultados obtenidos, ya que las muestras del Ejido Porvenir presentaron mayor contenido de humedad (78.42 %H), puesto que las hojas eran más grandes y gruesas que las de los otros dos ejidos (datos no mostrados).

Por otro lado, el contenido de cenizas en el extracto guishe de Saltillo fue lo doble al detectado en las muestras de Parras de la Fuente y Ramos Arizpe (6.25, 3.93 y 3.05%, respectivamente); lo cual, es un indicativo de que la concentración de sales en la planta de *A. lechuguilla* varía dependiendo de la zona de muestreo (Cuadro 5). Estas sales corresponden principalmente a oxalato de calcio, ya que se ha reportado que su concentración en la lechuguilla es muy alto y puede encontrarse en promedio 0.85 mg/g de fibra seca (Hernández-Soto, 2005). La presencia de ácido oxálico y sus sales, es de suma importancia en el aprovechamiento del *A. lechuguilla*, ya que es muy tóxico para el ganado al producir hipocalcemia aguda (Ishii, 1992; Salinas, 2000).

En general, la variabilidad en el contenido de humedad y sólidos en cada extracto de guishe (Cuadros 5), se relaciona, principalmente, a las diferentes condiciones climáticas de las distintas localidades, dado que el déficit de humedad y temperaturas variables promueven cambios en la distribución de biomasa de la planta, aumentando el sistema radical y disminuyendo la parte aérea (Erice *et al.*, 2010; Atchen *et al.*, 2010). El sistema radical crece para aumentar la obtención de agua, mientras que se disminuye la parte aérea para evitar la pérdida por transpiración, esto es evidencia de la resistencia del *A. lechuguilla* al déficit de humedad (Taiz y Zeiger, 2006; Wu *et al.*, 2008).

“Caracterización y aprovechamiento del residuo del tallado de Agave lechuguilla Torrey (guishe)”

En el Cuadro 6 se presenta el historial meteorológico en el mes de muestreo; en las 3 localidades hubo ausencia de precipitación y las temperaturas fueron extremas. Esto explica la diferencia de densidades de los tres municipios (Cuadro 4), las diferentes cuestiones climáticas y los tipos de estrés a los que estuvieron sometidas las plantas por los climas extremos (Cuadro 6), nos da como resultado cierta variación entre las distintas localidades.

Cuadro 6. Historial meteorológico del mes de marzo de 2011.

T (°C)	Localidad		
	Parras de la Fuente, Ejido Porvenir	Ramos Arizpe, Ejido Tortuga	Saltillo, Ejido Buñuelos
Mínima	0	13	0
Máxima	31	27	31
Precipitación	-	-	-

Fuente: www.accuweather.com/es/mx

Existen diferencias fisicoquímicas entre la hoja completa del *A. lechuguilla* (Hernández-Soto, 2005) y las 2 fracciones de guishe. Sin embargo, la caracterización realizada por Hernández-Soto (2005) solamente es un punto de referencia, ya que en su estudio se realizaron los análisis fisicoquímicos a las hojas (internas y externas) completas del *A. lechuguilla*. Además, estas diferencias se pueden deber a los distintos procesos a los que se sometieron las muestras antes de realizar los análisis fisicoquímicos. Primero, la separación del tallado de la hoja para la obtención del ixtle; segundo, al prensado para la obtención del extracto y fibra de guishe. Por último, a la aplicación de calor para la inactivación enzimática y, es necesario tomar en cuenta las condiciones climáticas y geográficas en las que se realizaron los muestreos para los análisis fisicoquímicos.

Se observó un mayor contenido de azúcares en la muestra proveniente del Ejido Porvenir en Parras de la Fuente, y esto se relacionó con el %H, ya que esta misma muestra presentó el mayor contenido de agua, siendo los azúcares altamente solubles. Esta afirmación concuerda con los resultados generados para las muestras de Ramos Arizpe y Saltillo, las cuales presentaron contenido de azúcares de 15.83 y 9.52 %, y contenido de humedad de 75.82 y 73.77 %, respectivamente. En general, el alto contenido de azúcares presentes en los extractos de guishe es indicativo del potencial de este material para la obtención de polisacáridos u oligosacáridos con posible aplicación en la industria agroalimentaria. Si se obtienen los azúcares de este “residuo”, se pueden utilizar para la producción de aditivos alimentarios como son los jarabes de fructosa o la inulina, así como la utilización de los jarabes de fructosa como mostos fermentables para la producción de aditivos alimentarios como el ácido láctico, entre otros. Sin embargo, para la posible aplicación de componentes del guishe en la industria alimentaria, se requieren llevar a cabo tratamientos adicionales para la eliminación de sustancias tóxicas como el ácido oxálico y saponinas hepatotóxicas (Ishii, 1992; Salinas, 2000; Wina *et al.*, 2005), así como dirigir estudios específicos para evaluar dicho potencial.

En el caso de la fibra de guishe (Cuadro 7), destaca el contenido de fibra cruda; siendo mayor en la muestra del Ejido Buñuelos de Saltillo (45.58 %), seguida del Ejido Tortuga en Ramos Arizpe (43.57 %) y Ejido Porvenir en Parras de la Fuente (36.70 %). Este material pudiera tener aplicaciones dirigidas a la obtención de azúcares previa hidrólisis ácida, tales como lignina, glucanos y fructanos. Sin embargo, el alto contenido de minerales en todas las fibras de guishe representa un tratamiento adicional para eliminar dichas sales para su posible aplicación; estas sales corresponden principalmente a oxalato de calcio (Hernández-Soto, 2005).

“Caracterización y aprovechamiento del residuo del tallado de Agave lechuguilla Torrey (guishe)”

Cuadro 7. Comparación de análisis fisicoquímico realizado a las fibras de guishe de 3 localidades.

Parámetro	Localidad		
	Parras de la Fuente, Ejido Porvenir	Ramos Arizpe, Ejido Tortuga	Saltillo, Ejido Buñuelos
MST (%)	97.17	99.47	97.88
Humedad (%)	2.82	0.52	2.01
Cenizas (%)	10.77	14.29	9.89
Fibra cruda (%)	36.7 ± 0.79	43.57 ± 1.72	45.58 ± 1.92
Extracto etéreo (%)	0.75	0.15	0.85
Azúcares totales (%)	0.153	0.163	0.178

El porcentaje de extracto etéreo presente en las muestras en general fue bajo tanto en los extractos (< 0.5 %) como en fibra de guishe (< 0.85 %).

En literatura se han reportado caracterizaciones de otros materiales fibrosos como el henequén, el cual produce una fibra obtenida a partir la hoja del Agave mexicano, *Agave fourcroyoides* Lemaire, principalmente cultivada en Yucatán (México); se ha reportado que contiene celulosa 77.6%, humedad 4.6%, ceniza 1.1%, lignina y pectina 3.1% y estratos 3.6% (Himmelfarb, 1957). También el sisal, una fibra obtenida a partir de *Agave sisalana*, cuya composición química promedio reportada (en seco) corresponde es de celulosa 78% en peso; carbohidratos, hemicelulosas y pectinas 10%; lignina 8%, ceras y resinas 2%; cenizas y pérdidas 2%, el contenido normal de humedad después del secado es de 10-12% (Paucar-Hernández, 2009). Ambos materiales producen fibras altamente resistentes que se utilizan en la elaboración de diversos productos (mecates, alfombras, decoración, etc.). Tal como se reporta, estas fibras están compuestas principalmente de hemicelulosas, celulosa y lignina, lo que le confiere su característica de fibras duras (Dewey, 1942). Así, si se compara la composición de la fibra de guishe de

las 3 localidades con este tipo de materiales, puede ser un material aprovechable, ya que también cuenta con alto contenido de fibra. Sin embargo, se requieren realizar una caracterización más específica para determinar contenido de lignina, celulosa y otros azúcares constituyentes de la fibra de guishe.

En general, se observan diferencias fisicoquímicas entre las localidades (Cuadro 5 y 7), esto se debe principalmente a algunos factores variables entre las zonas, algunos de los cuales pueden afectar la composición fisicoquímica de la planta, tales como: la fase de crecimiento, ya que aquí se presentan contenidos más altos en los órganos reproductivos (flores, semillas) o en raíces laterales (Dinan *et al.*, 2001). Por otro lado, la edad vegetal, ya que en diferentes etapas de la vida de la planta su composición química varía dependiendo de las necesidades de la misma (Francis *et al.*, 2002); y la ubicación geográfica de la planta, puesto que dependiendo de la ubicación de ésta puede o no, estar sometida a algún tipo de estrés de tipo ambiental (Dinan *et al.*, 2001).

Cabe señalar que no hay estudios en la literatura que presenten la caracterización del extracto y la fibra de guishe. Existen trabajos realizados a la planta de *A. lechuguilla*, como el de García Contreras (2010), en el cual se demostró la presencia de saponinas en el guishe, pero no realizó caracterización fisicoquímica del mismo. Por lo que la presente investigación es relevante, al enfocarse en el estudio de las dos fracciones obtenidas del guishe (extracto y fibra). Además, fue posible determinar las diferencias entre ambas fracciones de materiales obtenidos de 3 diferentes localidades (Cuadro 5 y 7).

4.3. Aislamiento de fitoquímicos a partir de guishe

4.3.1. Extracción metanólica

Con el objetivo de realizar el aislamiento de fitoquímicos de interés del extracto y fibra de guishe de cada región, se realizaron extracciones líquido-sólido

utilizando extracción por reflujo directo, extracción asistida por microondas y extracción asistida por ultrasonido. Las metodologías de extracción de la primera prueba, se dirigieron hacia la extracción de timol / carvacrol, principalmente, utilizando metanol como solvente para la extracción. Se obtuvieron 18 extractos (3 localidades x 2 muestras x 3 métodos), los cuales fueron analizados por HPLC en busca de la detección de analitos polifenólicos.

En la Figura 11 y 12 se presentan los cromatogramas correspondientes a las soluciones patrón de carvacrol y timol, con tiempos de retención entre el rango de 11.84 y 13.96 min, respectivamente. El análisis por HPLC de los extractos metanólicos, tanto de fibra como de extracto de guishe obtenidos por los 3 métodos, indicaron la ausencia de señales asociadas a carvacrol y timol; en la Figura 13 se presenta el cromatograma correspondiente al extracto del Ejido Tortuga obtenido por el método Soxhlet, donde se puede observar que no existen picos en los tiempos de retención de timol y carvacrol, por lo tanto las muestras no tienen indicios de contener estos compuestos.

“Caracterización y aprovechamiento del residuo del tallado de Agave lechuguilla Torrey (guishe)”

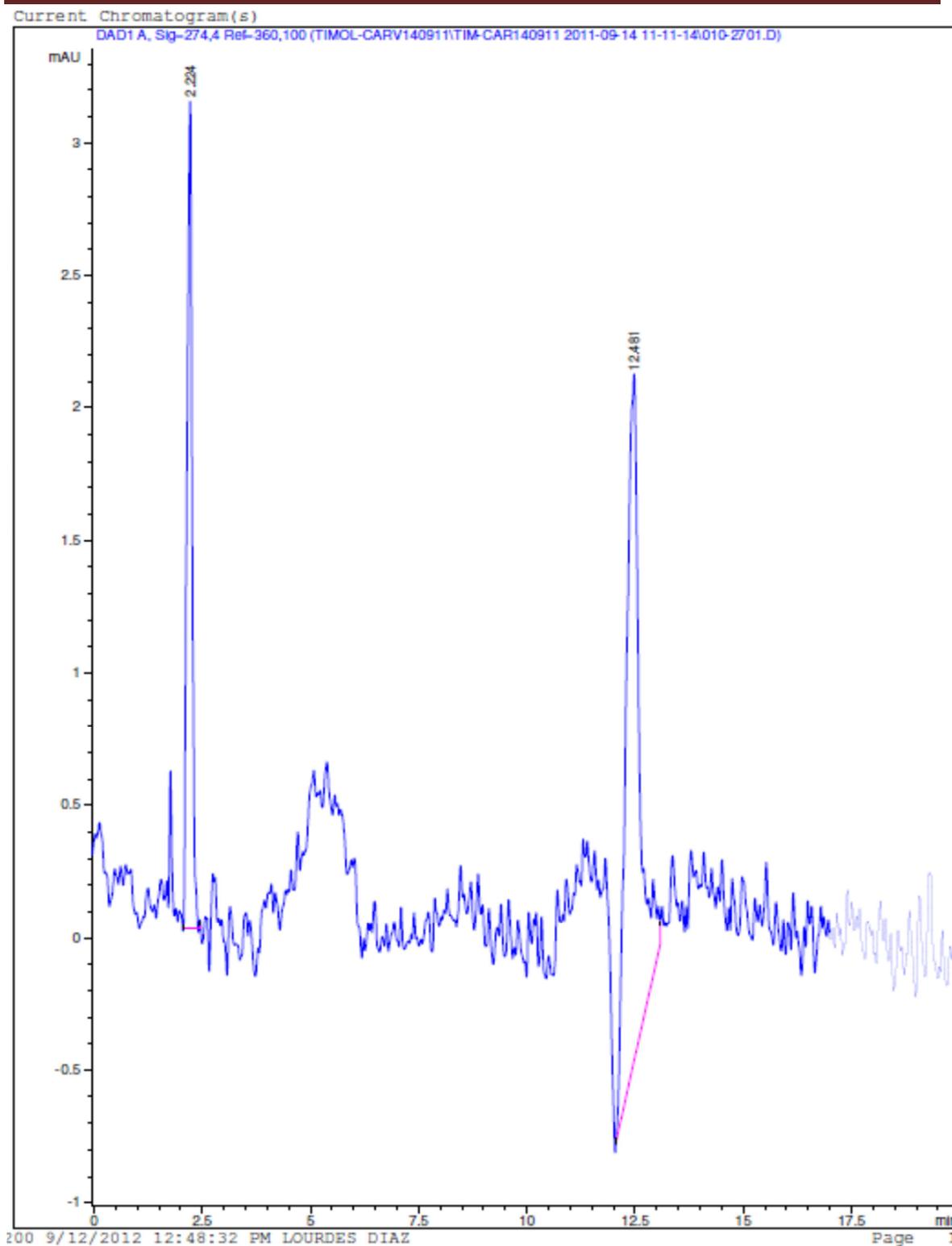


Figura 11. Cromatogramas de tiempos de retención del estándar timol 100 ppm.

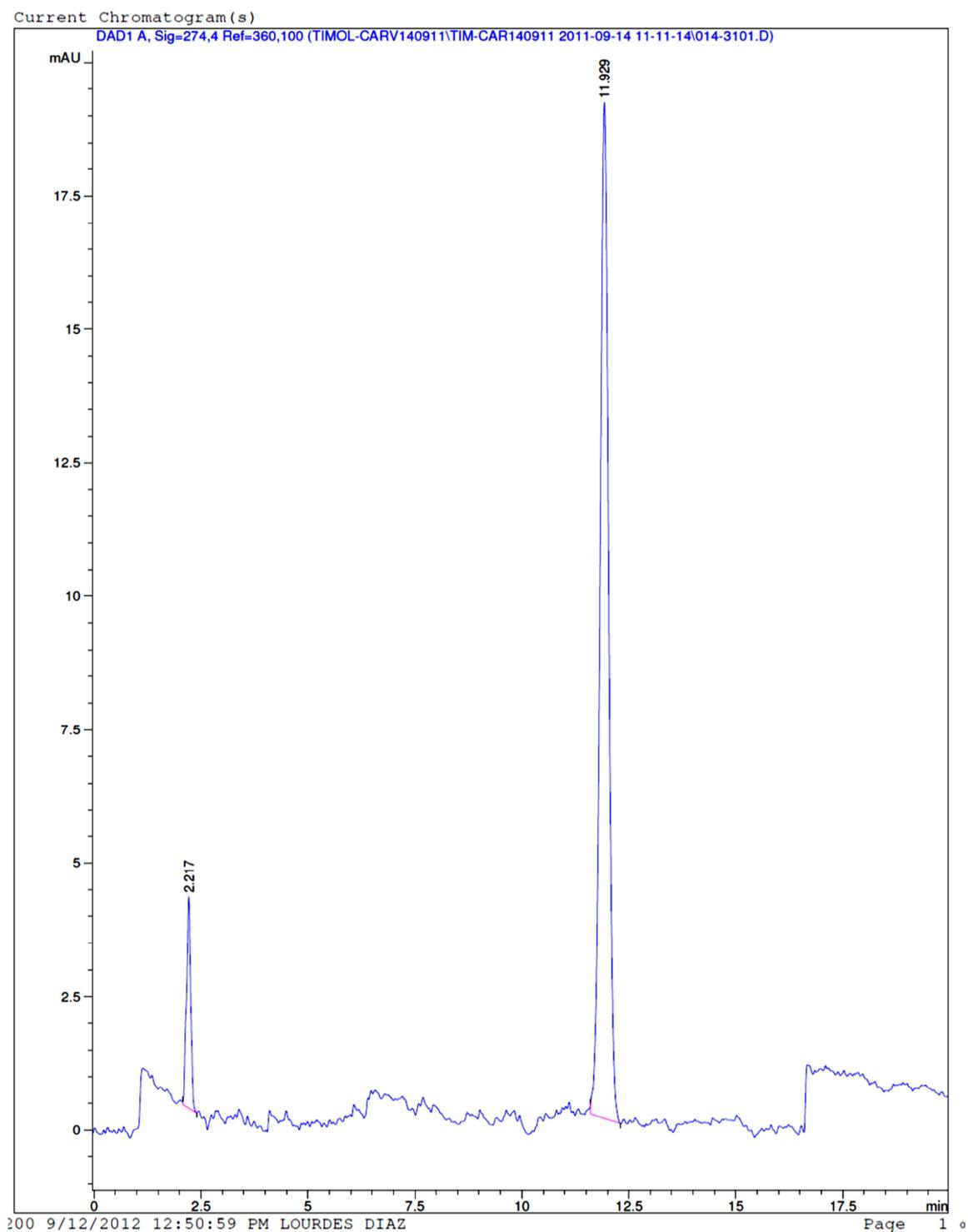


Figura 12. Cromatograma de tiempos de retención del estándar carvacrol 100 ppm.

“Caracterización y aprovechamiento del residuo del tallado de Agave lechuguilla Torrey (guishe)”

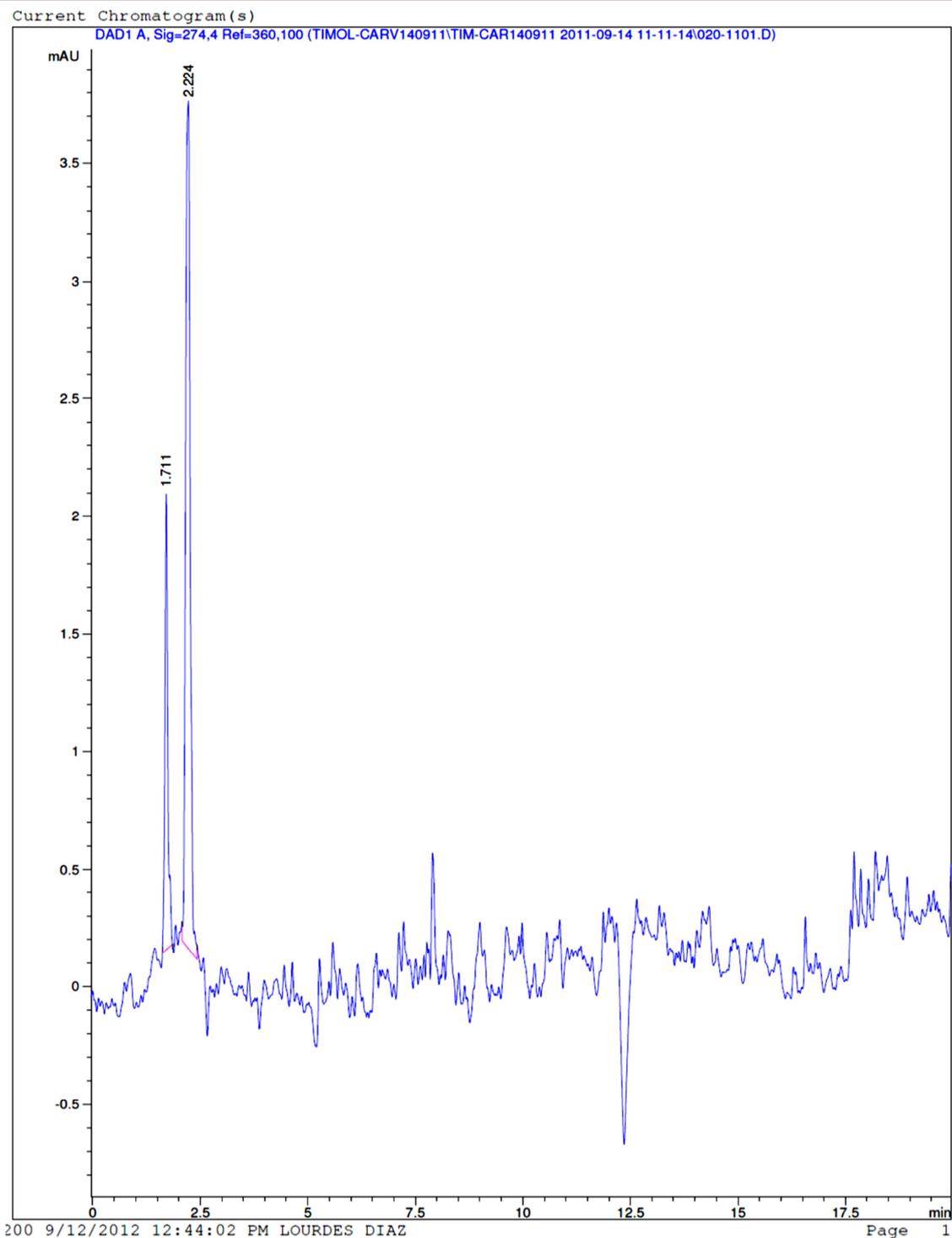


Figura 13. Cromatograma de la muestra de extracto del Ejido Tortuga de Ramos Arizpe con el método Soxhlet.

Cabe señalar que estos resultados concuerdan con la prueba de efectividad biológica llevada a cabo contra hongos fitopatógenos de la colección Biorganix Mexicana: *Pythium* sp., *Alternaria* sp. y *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* raza 3, ya que durante la evaluación *in vitro* ninguno de los extractos de guishe (en concentraciones de 0.5, 1.0 y 2.0%) mostraron control sobre los hongos fitopatógenos evaluados. En la Figura 14, se presentan sólo una de las pruebas realizadas, este comportamiento se presentó en todas las demás pruebas; puede observarse la efectividad del control positivo, carvacrol (SIGMA) al 0.25%, el cual controló 100% el crecimiento de los hongos evaluados (Figura 14).

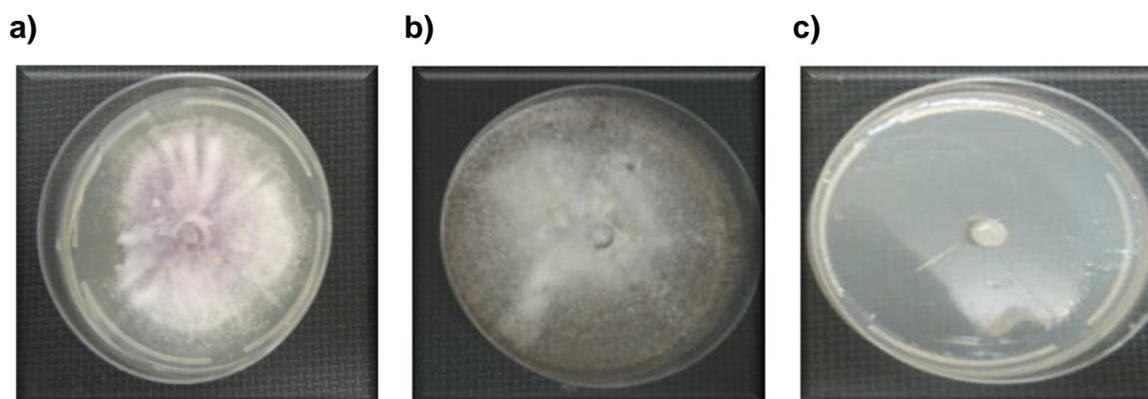


Figura 14. Prueba de antagonismo de extractos de guishe contra hongos fitopatógenos. a) *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* raza 3 (control absoluto), b) Extracto de guishe asistido por microondas al 1.0%, y c) Carvacrol (Sigma) al 0.25% (control positivo).

4.3.2 Extracción secuencial

Por otro lado, debido a la ausencia de picos en el análisis de HPLC en primera instancia, se realizó una segunda extracción a las 18 muestras obtenidas mediante los 3 métodos (reflujo directo, ultrasonido y microondas) utilizando la misma relación de muestra: solvente (1:20), y solamente con reflujo directo para ver el efecto de una extracción más dirigida a la obtención de fitoquímicos de interés (timol / carvacrol).

“Caracterización y aprovechamiento del residuo del tallado de Agave lechuguilla Torrey (guishe)”

Estas muestras fueron inyectadas en el HPLC utilizando el mismo método y fase móvil que en las pruebas anteriores.

En cuanto a las muestras con extracción secuencial con metanol (solvente polar), los resultados confirmaron la ausencia de timol y carvacrol; sin embargo, se presentaron picos de interés con tiempos de retención de aproximadamente 2.0 min con áreas entre 67.79 – 84.23 mAU*s (Cuadro 8), lo que es un indicativo de que estas moléculas se encuentran en una alta concentración en las muestras de jugo y fibra de guishe (Figuras 15 y 16).

Cuadro 8. Comparación de los mejores picos obtenidos por análisis en HPLC de muestras de guishe (jugo y fibra) utilizando metanol como agente extractor.

Muestra	Extracción Metanólica	Extracción Secuencial	Tiempo de retención (min)	Área (mAU*s)
Extracto Tortuga	Ref. directo	Ref. directo	2.205	68.38
Fibra Buñuelos	Ref. directo	Ref. directo	2.207	67.79
Extracto Tortuga	Microondas	Ref. directo	2.195	67.97
Extracto Buñuelos	Microondas	Ref. directo	2.194	81.62
Fibra Porvenir	Ultrasonido	Ref. directo	2.207	84.23

“Caracterización y aprovechamiento del residuo del tallado de Agave lechuguilla Torrey (guishe)”

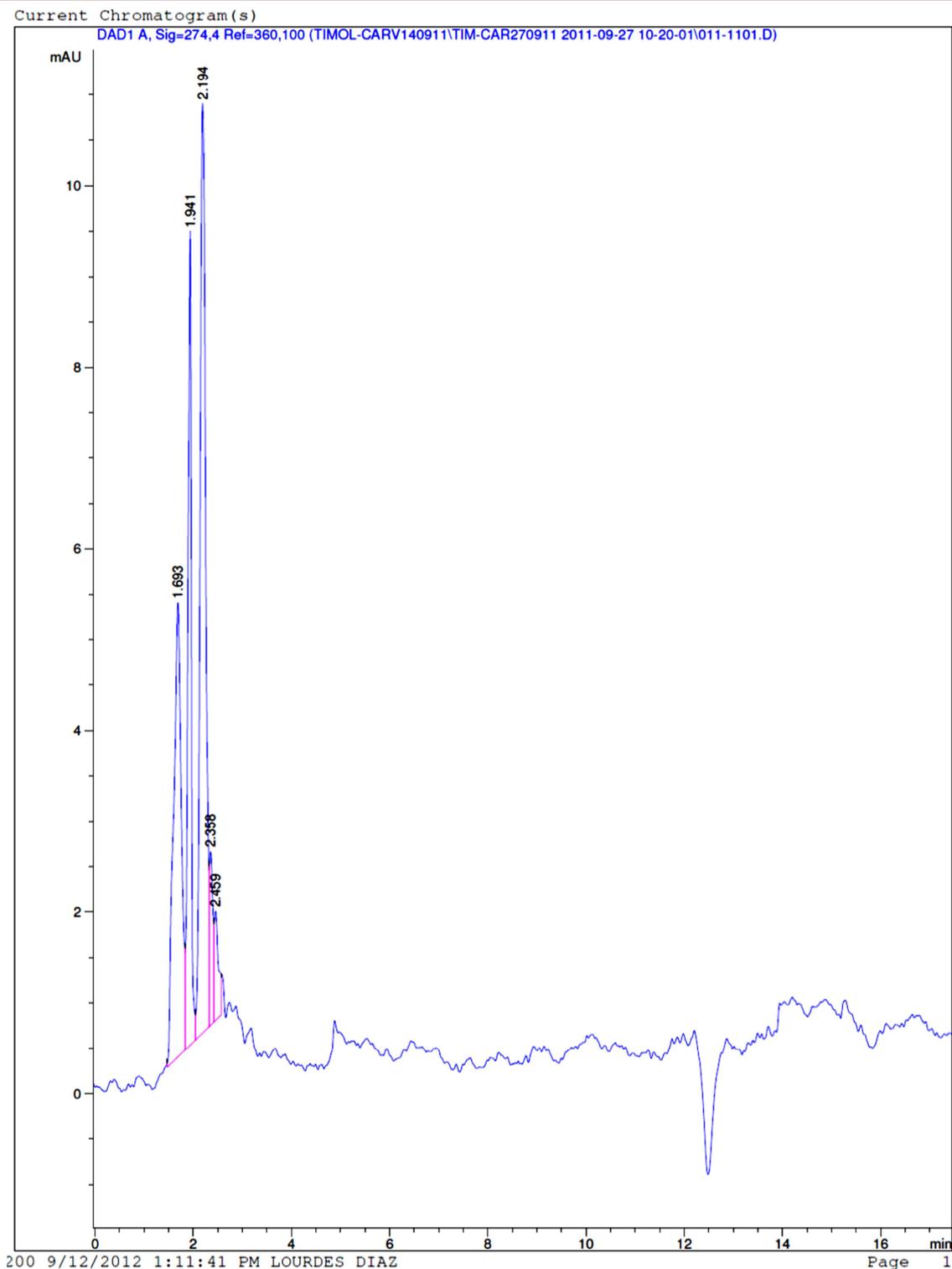


Figura 15. Cromatograma de Extracto del Ejido Buñuelos (Saltillo). Extracción metanólica por medio de microondas seguido de extracción secuencial.

“Caracterización y aprovechamiento del residuo del tallado de Agave lechuguilla Torrey (guishe)”

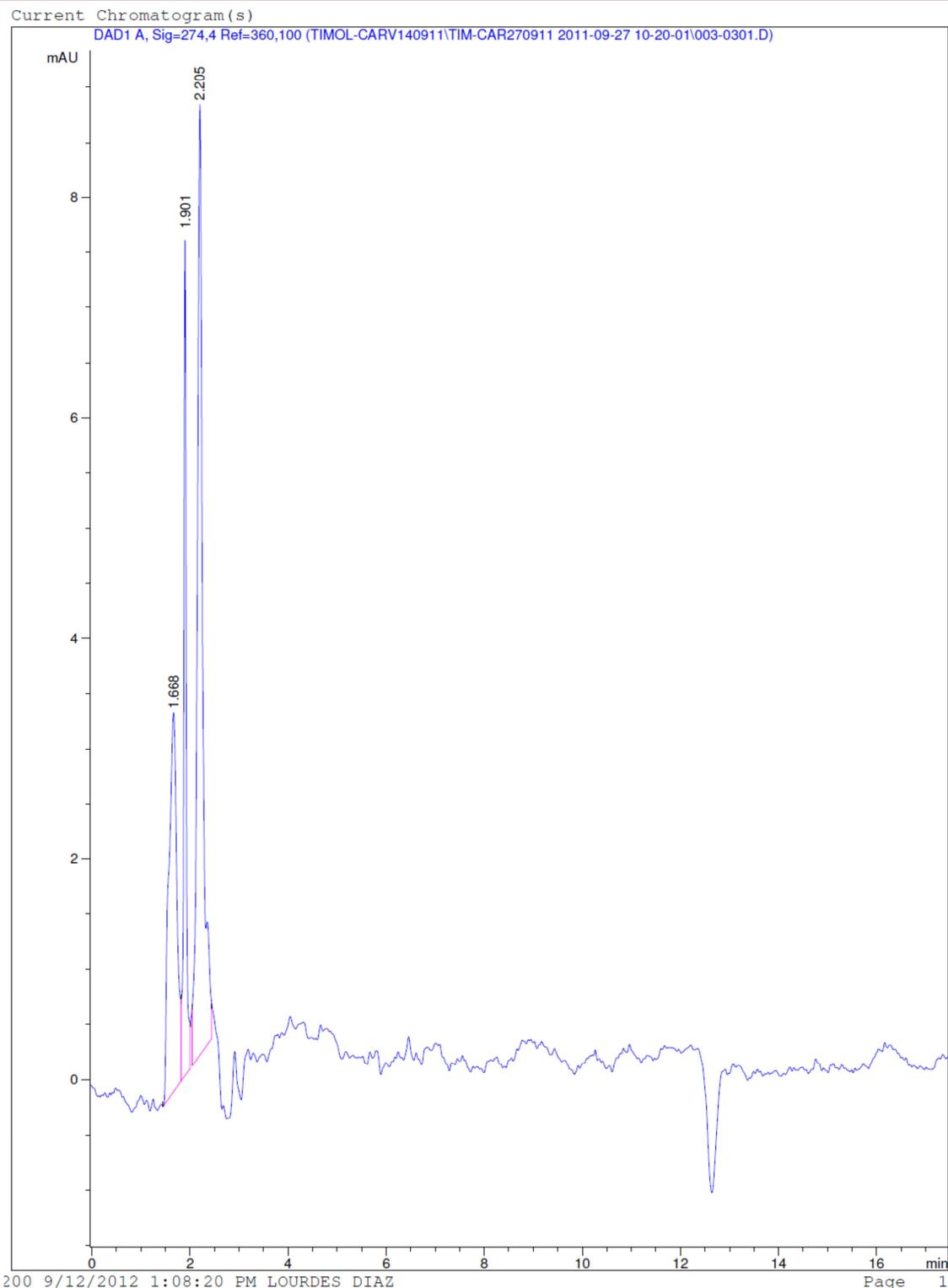


Figura 16. Cromatograma de Extracto del Ejido Tortuga (Ramos Arizpe). Extracción metanólica por medio de Soxhlet seguido de extracción secuencial con el método Soxhlet.

Estos resultados pueden hacer que derive un estudio y/o purificación de estos compuestos para su identificación. Se comprobó la ausencia de timol y carvacrol, pero las moléculas detectadas en la extracción secuencial pueden tener alto valor biológico.

4.3.3 Extracción hexánica

Adicionalmente, se corrió una prueba utilizando hexano (solvente no polar) como agente extractor. El análisis por HPLC de las muestras extraídas con hexano mostró la ausencia de picos; indicativo de que en el guishe (fibra y extracto) no se encuentran presentes moléculas con polaridad baja detectables en la longitud de onda de 274 nm.

La composición de las muestras pueden diferir debido a las características de cada solvente, por ejemplo un solvente polar como el metanol es capaz de arrastrar consigo sustancias como taninos, flavonoides; en cambio un solvente no polar o apolar como el hexano tiene interacciones con fenoles, aceites esenciales, saponinas y algunos compuestos que incluyan azúcares (Jasso de Rodríguez *et al.*, 2011)

Los compuestos fenólicos como el timol y el carvacrol al ser muy volátiles, termosensibles, fotosensibles y fácilmente oxidables como todos los aceites esenciales, se pudieron haber perdido durante todo el pretratamiento de la materia prima, desde el tallado hasta antes de la extracción ya que hay reportes de literatura que muestran la existencia de estos compuestos en la planta completa (Gregorio-Jáuregui *et al.*, 2008).

5. CONCLUSIONES

Se caracterizó fisicoquímicamente cada una de las fracciones de las 3 localidades muestreadas, encontrando diferencias marcadas en algunos aspectos, principalmente por cuestiones climáticas y variación al momento de procesar.

No se encontró la presencia de las moléculas de timol y/o carvacrol por ninguno de los métodos de extracción realizados (extracción metanólica, extracción secuencial y extracción hexánica) ni en la fibra ni en el extracto de guishe. Sin embargo, se logró la detección de otros compuestos por HPLC, los cuales requieren investigación adicional para definir su potencial en la agroindustria.

Este estudio es relevante e innovador, ya que los datos obtenidos servirán para un posible apoyo económico extra a los ejidatarios y será la base para investigaciones futuras en este campo; dando un pequeño avance actual a los datos obtenidos anteriormente.

6. LITERATURA CITADA

- Aguilar C.A. y Zolla C. 1982. *Plantas tóxicas de México*. Instituto Mexicano del Seguro Social. México, D.F. 271 p.
- Aguirre R.J.R. 1983. Enfoques para el estudio de las actividades agrícolas en el altiplano potosino-zacatecano. En: J.t. Molina G. (Ed.) Recursos agrícolas de zonas áridas y semiáridas de México. Colegio de Postgraduados. Chapingo, Méx. pp. 105-115.
- AOAC Official Methods of Analysis. 1996. Association of Official Analytical Chemist. 16a edition.
- Atchen, W.M.J.; W.H. Maes; B. Reubens; E. Mathijs; V.P. Singh; L. Verchot; B. Muys. 2010. Biomass production and allocation in *Jatropha curcas* L. seedlings under different levels of drought stress. *Biomass and Bioenergy*. 34:667–676.
- Bautista, B.S., García, E., Barrera, L., Reyes, N., y Wilson, C. 2003. Seasonal evaluation of the postharvest fungicidal activity of powders and extracts of huamúchil (*Pithecellobium dulce*): action against *Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum* and *Rhizopus stolonifer* of strawberry fruit. *Postharvest biology and technology* 29(1), 81-92.
- Berlanga R. C. A., Gonzáles L. L. A.; Franco L. H. 1992a. Metodología para la evaluación y manejo de lechuguilla en condiciones naturales. Folleto técnico Núm. 1. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias. SARH. Saltillo, Coah. 21 p.
- Blando-Navarrete J.L. y Baca, S. 2001. Determinación del Potencial Productivo de la Lechuguilla (*Agave Lechuguilla* Torr.) en el Municipio de San Juan Guadalupe, Dgo. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas* 2(2):101.
- VIII Censo Agropecuario 2007. INEGI, 2007.
- Dewey, H. 1942. Fiber production in America. Washington, D.C. USDA, pp. 20.

“Caracterización y aprovechamiento del residuo del tallado de Agave lechuguilla Torrey (guishe)”

- Dewey L.H. 1965. Fibras vegetales y su producción en América. 3ª Ed. Agencia para el Desarrollo Internacional. México, D. F. 97 p.
- Dinan L., Harmatha J. and Lafont R. 2001. Chromatographic procedures for the isolation of plant steroids. *Journal of chromatography A*. 935, 105-123.
- Dubois, M., Gilles, K., Hamilton, P., Rebers, P. and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Analytical chemistry* 28 (3), 350-356.
- Eguiarte L. V. y Silva Montellano A. 2000. Evolución de la familia Agavaceae: Filogenía, ecología evolutiva de la reproducción y genética de poblaciones. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 66:131-151.
- Erice, G; S. Louahlia; J.J. Irigoyen; M. Sanches-Diaz; J.C. Avice. 2010. Biomass partitioning, morphology and wáter status of four alfalfa genotypes submitted to progressive drought and subsequent recovery. *Journal of Plant Physiology*. 167:114-120.
- Flores F. J. D. y Perales G. J. M. 1989. Primer reporte nacional de plagas asociadas a la lechuguilla *Agave lechuguilla* Torrey. *Atraria* 5: 57-73.
- Flores M. S. 1986. Estudio citogenético de *Agave crassispina* Trel. Y *Agave lechuguilla* Torr. En el municipio de Pinos, Zacatecas y en el municipio de Real de Catorce, San Luis Potosí, México. Tesis profesional. Escuela Nacional de Estudios Profesionales, UNAM. Los Reyes Iztacala. Méx. 124 p.
- Francis, G., Kerem, Z., Harinder, P., Makkar, Klaus, B. 2002. The biological action of saponins in animal systems: A review. *British Journal of Nutrition* 88, pp. 88, 587–605.
- Freeman, C. E. 1973. Some germination responses of lechuguilla (*Agave lechuguilla*: Agavaceae). *Southwestern Naturalist*. 18:125-134
- Freeman C. E., Tiffany R.S., Reid W. H. 1977. Germination responses of *Agave lechuguilla*, *a. parryi* and *Fouquieria splendens*. *Southwestern Naturalist*. 22: 195:204

- Freeman, C.E. y Reid W.H. 1985. Aspects of the reproductive biology of *Agave lechuguilla* Torr. *Desert Plants* 7, 75-80.
- García-Contreras, A. R. 2010. Extracción, cuantificación y aislamiento de saponinas a partir de *Agave lechuguilla* y *Yucca filifera*. Tesis de licenciatura, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila. Saltillo, Coahuila.
- Gentry H.S. 1982. *Agaves of continental North America*. The University of Arizona Press. Tucson, Arizona. USA., 670 p.
- Gómez, J.D., Monterroso, A.I., Tinoco, J.A., Toledo, M.L. 2010. Cuarta comunicación Nacional de México ante la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el cambio climático. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. p.p. 62.
- Greene R. A. 1932. Composition of the Fiber and Waste of *Agave lechuguilla*. *Botanical Gazette*, Vol. 93, No. 4 pp. 484-491.
- Gregorio-Jáuregui, K.M., Cano-Cabrera, J.C., Iliná, A. y Martínez-Hernández, J.L. 2008. Perspectivas biotecnológicas de la lechuguilla (*Agave lechuguilla*). *Fitoquímicos sobresalientes del semidesierto mexicano* 13, 179-192.
- Hernández-Soto, R., 2005. Extracción y cuantificación de compuestos bioactivos de *Agave lechuguilla* Torrey. para su aplicación en la industria cosmetológica. Tesis de Maestría, Ciatej, A.C. pp. 67-99.
- Himmelfarb, D. 1957. The technology of cordage fibres and rope. London: Leonard Hill, pp. 8, 14-16-46-47.
- Ishii, Y.N., 1992. Crystal of calcium-oxalate monohydrate found in plant. *J. Electron. Microsc.* 41, 53-56.
- Jasso de Rodríguez, D., Rodríguez García, R., Hernández Castillo, F.D., Aguilar González, C.N., Sáenz Galindo, A., Villarreal Quintanilla, J.A., Moreno Zuccolotto, L.E. In vitro antifungal activity of extracts of Mexican Chihuahuan Desert plants against postharvest fruit fungi. *Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro – Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila*. Volume 34, Issue 1, July 2011, Pages 960–966.

- Jonguitud, E. 2005. Vivir de la lechuguilla, una opción para los habitantes del semidesierto. México Forestal, Revista Electrónica de la Comisión Nacional. <http://www.mexicoforestal.gob.mx>
- Kalan Kaash, S.C. 2009. Consultoría: Estudio orientado a identificar los mercados y canales de comercialización internacionales para la oferta de productos de ixtle con valor agregado. Integradores de ixtleros de Zacatecas S.A. de C.V. SAGARPA.
- Machado, I., Osorio, M., Salamanca, G. y Cabrera, J. 2004. In: Memorias 1er. Encuentro Latinoamericano de Apicultores. Cuba.
- Magallán H.E.F. 1998. Las agaváceas de Querétaro. Tesis profesional. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Querétaro. 155 p.
- Martínez, Z. 2011. Tallador del Ejido Tortuga, Ramos Arizpe, Coahuila, México.
- Michotte F. 1914. L'Agave et exploitation, pp. 26, 28.
- Narcia-Velasco, M., Castillo Quiroz, D., Vázquez Ramos, J.A.; Berlanga Reyes, C.A. 2012. Nota de investigación: Turno técnico de la lechuguilla (Agave lechuguilla Torr.) en el Noroeste de México. Revista mexicana de ciencia forestal 3 (9), 81-88.
- Nobel P.S. y Quero, E. 1986. Environmental productivity indices for a Chihuahuan Desert CAM plant, *Agave lechuguilla*. *Ecology* 67:1-11.
- Nobel P. S. 1998. *Los incomparables agaves y cactus*. Trillas. México, D. F. 211 p.
- Orozco L.M., Nava C.R., Medina T.J.G. y De la Cruz J.A. 1977. Investigación silvoagropecuaria de las zonas áridas de México, campo experimental Noria de Guadalupe. *Monografía Técnico-Científica, UAAAN* 3:182-265
- Parmar, V.S., Jha, H.N., Gupta, A.K. and Prasad, A.K. 1991. *Agamanone, a flavanone from Agave americana*. *Phytochemistry* 31 (7), 2567-2568.
- Paucar-Hernández, L.A. 2009. El Sisal. Tesis. Universidad Nacional de Ingeniería, Lima, Perú.
- Peña, J. 2011. Ixtleros de Coahuila en fase terminal. Vanguardia. Saltillo, Coahuila. <http://www.vanguardia.com.mx/ixtlerosdecoahuilaenfaseterminal-740396.html>

“Caracterización y aprovechamiento del residuo del tallado de Agave lechuguilla Torrey (guishe)”

- Reyes, A., Aguirre, R., Peña, V. 2000. Biología y aprovechamiento de *Agave lechuguilla* Torrey. Boletín de la Sociedad Botánica de México. 67, 75-78.
- Reyes, A.J. y Aguirre, R.R. 1999. Fitogeografía de la sierra Monte Grande, Charcas, San Luis Potosí, México. *Caldasia*. 21, 50-69.
- Rzedowski, J. 1964. Botánica económica. En: Beltrán E. (Ed.) Las zonas áridas del centro y noreste de México y el aprovechamiento de sus recursos. Instituto Mexicano de Recursos Naturales Renovables. México, D. F. pp. 135-152.
- Rzedowski, J. 1978. La vegetación de México, Limusa, México.
- Salinas, B.M. 2000. Los cristales de oxalato de calcio de *Agave tequilana* var. Weber, como agente causal de la dermatitis por contacto en personal expuesto "octubre-noviembre 1999". Tesis Maestría, Universidad de Guadalajara, México.
- SEMARNAT. 2008. Unidad de aprovechamiento y restauración de recursos naturales. Aprovechamiento forestal no maderable SEMARNAT, Delegación federal de los estados.
- Sosa-López, A., Cabrera, G., Álvarez, R. y Verdum, C. 2000. Búsqueda de usos alternativos de propóleos en el control biológico de hongos fitopatógenos. Facultad de Ciencias Agrarias UNNE. Corrientes-Argentina. En: <http://web.unne.edu.ar/cyt/agrarias/a-036.pdf> (8-02-2005).
- Sheldon, S. 1980. Ethnobotany of *Agave lechuguilla* and *Yucca carnerosana* in Mexico's Zona Ixtlera. *Economic Botany* 34, 376-390.
- Taiz, L.E. y Zeiger. 2006. Plant Physiology. 4a edición. Sinauer Associates Sunderland, EU. 764 p.
- Thuille, N. 2003. "Bactericidal activity of herbal extracts." *Int. J. Hyg. Environ. Health* 206: 1-5.
- Ultee, A., Kets, E., Albert, M., Hoekstra, F.A. y Smid, E. 2000. *Adaptation of the food-borne pathogen Bacillus cereus to carvacrol*. *Arch. Microbiol* 174, 233-238.

“Caracterización y aprovechamiento del residuo del tallado de Agave lechuguilla Torrey (guishe)”

- Ultee, A., Kets, E. y Smid, E. 1999. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ Microbiol* 65, 4606-4610.
- Vendramini, F.; S. Díaz; D.E. Gurvich; P.J. Wilson; K. Thompson; J.G. Hodgson. 2002. Leaf traits as indicators of resource-use strategy in floras with succulent species. *New Phytologist*. 154: 147-157.
- Wina, E., Muetzel, S., Becker, K. 2005. *The impact of saponins or saponin-containing plant materials on ruminant productions - A Review*. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 8093-8105.
- Wu, F., Baoa, W., Li, F., Wi, N. 2008. Effects of drought stress and N supply on the growth, biomass partitioning and water-use efficiency of *Sophoa davidii* seedlings. *Environmental and experimental botany* 63, 248.255.
- www.accuweather.com/es/mx
- Zapién B. M. 1981. Evaluación de la producción de ixtle de lechuguilla en cuatro sitios diferentes. En: Anónimo. *Primera Reunión Nacional sobre Ecología. Manejo y Domesticación de las Plantas Útiles del Desierto*. Publicación Especial Núm. 31. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales. SARH. México, D. F. pp. 385-389.